



ORGANIZADORES

Leonardo Oliveira Trivilin
Leonardo Demier Cardoso
Maria Aparecida da Silva

Tópicos Especiais em Ciência Animal VIII



PPGCV

Programa de Pós-graduação
em Ciências Veterinárias
CCA-E-UFES



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

TÓPICOS ESPECIAIS EM CIÊNCIA ANIMAL VIII

1ª EDIÇÃO

ALEGRE-ES

CAUFES

2019

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: 978-85-54343-22-4

Editor: CAUFES

Novembro 2019

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

T674 Tópicos especiais em ciência animal VIII [recurso eletrônico] /
organizadores, Leonardo Oliveira Trivilin... [et al]. - Dados
eletrônicos. Alegre, ES: CAUFES, 2019.
431 p. : il.

Inclui bibliografia.

ISBN: 978-85-54343-22-4

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. Ciências. 2. Medicina veterinária. 3. Zootecnia. 4. Nutrição
Animal. 5. Reprodução Animal. 6. Diagnóstico. I. Trivilin,
Leonardo Oliveira, 1981 - .

CDU: 619

Elaborado por Raniere Barros Barreto – CRB-6 ES - 000861/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

ILUSTRADOR DA CAPA E CONTRACAPA

MARIETA CRISTINA COUTO KUSTER

PREFÁCIO

Esta publicação é a oitava edição do livro Tópicos Especiais em Ciência Animal, que desde 2012 vem apresentando coletâneas, visando atualizar os leitores quanto ao conhecimento técnico na área das ciências veterinárias. Os temas apresentados desde a primeira edição, são originários de estudos de docentes e discentes do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Espírito Santo (PPGCV-UFES).

O programa, que tem sua sede no *campus* de Alegre, no sul do estado e foi criado em 2007, dando início as suas atividades em março de 2008 com duas linhas de pesquisa: reprodução e nutrição animal, e diagnóstico e terapêutica das enfermidades clínico-cirúrgicas. Ao longo desses 11 anos de atividades, o PPGCV já desenvolveu inúmeros projetos de pesquisa e já foram titulados mais de 150 mestres, orientados por docentes doutores formados em diversas instituições renomadas do Brasil. Muitas foram as pessoas responsáveis pelo desenvolvimento e crescimento do PPGCV como docentes permanentes, colaboradores, pesquisadores visitantes, servidores, além de gestores e órgãos de fomento que atuaram como fortalecedores nessa jornada.

A motivação para dar início a escrita dos tópicos especiais em Ciência Animal (o TECA) surgiu da busca de promover e divulgar a qualidade da pesquisa gerada pelo PPGCV, que fazem a formação continuada de inúmeros profissionais das áreas das Ciências agrárias e biológicas. Desde 2012, em sua primeira edição aliada a I Jornada de Científica da Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Espírito Santo, a coletânea vem contribuindo para o conhecimento técnico sobre a ciência animal.

Esta edição do livro apresenta 25 capítulos abordando temas que vão desde estudos de colágenos, abordagens terapêuticas de doenças, tecnologia de ovos, achados eletrocardiográficos em cães e gatos e produção de embriões *in vitro*, entre outros diversos assuntos interessantes da área da ciência animal.

Isabella Vilhena Freire Martins
Médica Veterinária,
doutora em Sanidade Animal
e docente do PPGCV desde sua criação

LISTA DE AUTORES

Adilson Vidal Costa. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: avcosta@hotmail.com.

Adriano Lima Stelzer Bindaco. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: adriano stelzer48@gmail.com

Alison Zanete de Castro. Instituto Federal do Espírito Santo – Campus de Alegre, e-mail: alisonzcastro@hotmail.com

Amanda Maria Miranda Rodrigues dos Santos. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: amanda_mmrs@hotmail.com

Ana Caroline Figueiredo. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: ana-caroline-figueiredo@hotmail.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

Caio Vaz Baqui Lima. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: caiobaqui@hotmail.com

César Oliveira Liesner. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: cesarliesner01@hotmail.com

Délia Chaves Moreira dos Santos. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: deliachavesmoreira@gmail.com

Denise Braga Schimidt. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, e-mail: deniseschimidt@id.uff.br

Driéle Lutzke. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: drielelutzke@gmail.com

Eduardo Moreira Barradas de Souza. Zootecnista autônomo, e-mail: eduardomoreirabarradas@hotmail.com

Eduardo Vargas de Oliveira. Universidade Federal do Espírito Santo, email: duvargass@hotmail.com

Elisabeth Maria López de Prado. Universidade Federal do Espírito Santo, 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

Fernanda de Paula Roldi Vieira. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: fernandaroldi@hotmail.com

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

Gabriel do Nascimento Moulin. Universidade Federal do Espírito Santo, email: gabriel.n.moulin@hotmail.com

Gabriela de Oliveira Resende. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: gabrielaoresende@hotmail.com

Gabriela Rocha de Assunção. Universidade Federal do Espírito Santo: e-mail: gabrielarochaassuncao@gmail.com

Gilberto Rodrigues dos Santos. Instituto Federal do Espírito Santo – Campus de Alegre, e-mail: gilbertosprojetos@gmail.com

Gisele Rodrigues Moreira. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: gisele.moreira@ufes.br

Helvécio Cardoso Corrêa Póvoa. Universidade Federal Fluminense, e-mail: helveciopovoa@gmail.com

Hévila Dutra Barbosa de Cerqueira. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: hevila.veterinaria@hotmail.com

Hortência César Gonçalves. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: hortenciabji@hotmail.com

Hugo da Silva Nascimento. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: hugosnas@gmail.com

Isabella Vilhena Freire Martins. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: ivfmartins@gmail.com

Izabelle Pereira de Lacerda. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: izabellelacerda@hotmail.com

Janaina Cecília Oliveira Villanova. Universidade Federal do Espírito Santo, email: farmacotecnica@yahoo.com.br

Jankerle Neves Boeloni. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: jankerle@gmail.com

José de Oliveira Carvalho Neto. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: joseocneto@hotmail.com

José Geraldo de Vargas Júnior. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: jose.vargas@ufes.br

Juliana Alves Resende. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: ju.alves.resende@gmail.com

Juliana Aparecida Severi. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail:
juseveri@yahoo.com.br

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

Karina Preising Aptekmann. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail:
kapreising@gmail.com

Katiussi de Negreiros Silva. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail:
katiussi_zoo@hotmail.com

Layon Carvalho de Assis. Instituto Federal do Espírito Santo – Campus de Alegre, e-mail:
layoncdeassis@gmail.com

Leandro André Milholli. Universidade Federal do Espírito Santo, andremilholli@gmail.com

Leandro Santos Costa. Universidade Federal de Viçosa, e-mail:
leandrocapioliomg@yahoo.com

Leilliany Araújo Silva Brambati. Faculdade Pitágoras - Guarapari, e-mail:
leillyaraujo@gmail.com

Leonardo Oliveira Trivilin. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail:
leotrivilin@gmail.com

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

Lígia Isabelle Silva Souza. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail:
ligiaisabelle@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: luizfilippe.soares@gmail.com

Marcos Santos Zanini. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: marcos.zanini@ufes.br

Marcos Vinicius Gonçalves Viana. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: marcos16viana@gmail.com

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

Maria Aparecida Zaché. Mestre em educação pela Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: maria.zache@ifes.edu.br

Maria Izabel Vieira de Almeida. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mara.i.almeida@ufes.br

Maria Larissa Bitencourt Vidal. Universidade Federal do Espírito Santo: e-mail: larissabvidal@gmail.com

Marieta Cristina Couto Kuster. Universidade Federal do Espírito Santo, 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

Mitsue Ito. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mitsue.ito@gmail.com

Natalia Iorio Lopes Pontes Póvoa. Universidade Federal Fluminense, e-mail: iorionlp@yahoo.com.br

Natania do Carmo Sperandio. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: nataniasperandio@gmail.com

Nubya Nascimento Costa. Universidade Federal do Espírito Santo, email: nubyacosta@hotmail.com

Oto Heinze de Moraes Filho. Zootecnista autônomo, e-mail: otofilho@gmail.com

Paulo Sérgio Cruz de Andrade. Instituto Federal do Espírito Santo - Campus de Alegre, e-mail: mvpaulojr@gmail.com

Paulo Víctor Marques da Costa Faustini. Zootecnista autônomo, e-mail: paulovictorfaustini@hotmail.com

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

Poliana Aparecida Rodrigues Gazolla. Universidade Federal de Viçosa, e-mail: poliana.gazolla@ufv.br

Priscila de Oliveira Lorenzoni. Universidade Federal do Espírito Santo e-mail: priscilalorenzoni@gmail.com

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

Renato Almeida Brambati. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: renato_brambatti@yahoo.com.br

Róbson Ricardo Teixeira. Universidade Federal de Viçosa, e-mail: robsonr.teixeira@ufv.br

Roselena Abreu Guedes. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: rosinhafarma25@gmail.com

Silvia Pope de Araújo. Universidade Federal do Rio de Janeiro, e-mail: silviapopedearaujo@gmail.com

Suzana Gonçalves Carvalho. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, email: suzana2994@gmail.com

Taysa Oliveira Martins. Universidade Federal do Espírito Santo e-mail: taysa.oliveiramartins@hotmail.com

Thaís Martins da Silva. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: thais_andreanni@hotmail.com

Vagner Tebaldi de Queiroz. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: vagnertq@gmail.com

Vanderson de Ataíde Paulucio. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: vandersonpaulucio.zoo@gmail.com

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

Winner Duque Rodrigues. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: winner.duque@gmail.com

Ygor Henrique da Silva. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: ygorhenrique97@hotmail.com

Yuri Vieira Almeida. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: yurialmeida03@gmail.com

SUMÁRIO

Capítulo 1 - Colágeno tipo I e sua influência sobre a resistência do tecido ósseo.....	13
Capítulo 2 - Miastenia gravis – revisão de literatura.....	30
Capítulo 3 - Atualização sobre os sarcomas em sítio de injeção em gatos.....	52
Capítulo 4 - Tripanossomatídeos de potencial zoonótico que acometem cães domésticos na América Latina.....	69
Capítulo 5 - Infecções fúngicas multirresistentes: uma ameaça à saúde animal.....	86
Capítulo 6 - Patógenos de importância zoonótica em populações de mamíferos silvestres.....	105
Capítulo 7 - Parâmetros eletrocardiográficos nas sobrecargas atrioventriculares e marcadores precoces de arritmia – revisão de literatura.....	121
Capítulo 8 - Achados eletrocardiográficos nas principais cardiopatias adquiridas em cães e gatos – revisão de literatura.....	138
Capítulo 9 - Caracterização de metodologias aplicadas no estudo bioquímico e sistemático de <i>Pseudosuccinea columela</i> (Mollusca: Gastropoda) (Say, 1817).....	153
Capítulo 10 - Palatabilidade e aceitabilidade de medicamentos de uso oral por cães e gatos.....	167
Capítulo 11 - Sistemas de liberação de fármacos baseados em micro e nanopartículas.....	180
Capítulo 12 - Abordagem terapêutica no controle da dor em aves.....	196
Capítulo 13 - Aspectos gerais e terapêutica das principais dermatopatias fúngicas na rotina de cães e gatos.....	212
Capítulo 14 - Contribuição das plantas medicinais para o tratamento de dermatopatias infecciosas de origem fúngica.....	232
Capítulo 15 - Tratamento da endometrite fúngica em éguas.....	251
Capítulo 16 - Anti-helmínticos de importância veterinária no Brasil.....	273
Capítulo 17 - Ação de compostos naturais e sintéticos sobre tecidos de carrapatos do gênero <i>Rhipicephalus</i>	298
Capítulo 18 - Descarte domiciliar de medicamentos de uso veterinário: legislação e impactos.....	317
Capítulo 19 - Uma abordagem sobre os cães-guia.....	332
Capítulo 20 - Anatomia e histologia do trato digestório de tartaruga-verde (<i>Chelonia mydas</i>): revisão de literatura.....	341
Capítulo 21 - Aplicações biotecnológicas das microalgas na produção animal.....	351
Capítulo 22 - Farinha de insetos na alimentação de peixes.....	370
Capítulo 23 - Qualidade e tecnologia de ovos de poedeiras comerciais.....	383
Capítulo 24 - Leite A2: correlações com a saúde humana e perspectivas de produção no Brasil.....	396
Capítulo 25 - Produção <i>in vitro</i> de embriões bovinos na pecuária de leite.....	412



Capítulo 1

Colágeno tipo I e sua influência sobre a resistência do tecido ósseo

Felipe Martins Pastor ¹
Gabriela de Oliveira Resende ²
Mayara Mezabarba Riva ³
Maria Aparecida da Silva ⁴

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

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

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

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

1 INTRODUÇÃO

O osso está entre os mais complexos e bem organizados tecidos dos organismos vertebrados. Histologicamente, é composto por uma fase celular e uma matriz óssea mineralizada, que confere a forma e propriedades mecânicas inerentes ao órgão. A parte inorgânica da matriz óssea é composta, sobretudo, por cálcio e fósforo, que estão dispostos sob a forma de cristais de hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ arranjados ao longo das fibras de colágeno (GARTNER; HIATT, 2014; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

O principal componente orgânico da matriz óssea é o colágeno tipo I, que se encontra disposto em longos feixes e apresenta grande quantidade de ligações cruzadas. A associação entre os componentes orgânicos e inorgânicos da matriz óssea confere ao tecido resistência e rigidez características. Sem a matriz inorgânica, o osso mantém seu formato, porém 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, o que o torna quebradiço e facilmente fraturável (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; VIGUET-CARRIN; GARNERO; DELMAS, 2006).

Diversos fatores podem alterar as propriedades mecânicas do tecido ósseo e torná-lo susceptível às fraturas, incluindo a microarquitetura tecidual, mineralização, microtrincas preexistentes, patologias associadas, e a qualidade e disposição do colágeno (FRIEDMAN, 2006). Dentre os fatores citados, o colágeno representa um papel de destaque, tendo em vista a complexidade de sua organização e a variedade de alterações patológicas as quais esta molécula está predisposta. Com isso, objetivou-se neste capítulo, tratar das particularidades biomoleculares do colágeno tipo I, bem como elucidar seu papel na resistência óssea.

2 COLÁGENO TIPO I: BIOSÍNTESE E MODIFICAÇÕES PÓS-TRADUCIONAIS

O colágeno é o principal componente proteico dos mamíferos, representa até 25% da proteína total corporal desses indivíduos. Sua característica primordial é fornecer a estrutura da matriz extracelular, se fazendo presente em quase todos os tecidos. Acredita-se que existam ao menos 28 tipos de colágenos diferentes, compostos por mais de 30 cadeias peptídicas distintas (BOTHAM; MURRAY, 2017).

O colágeno tipo I constitui 95% de todas as proteínas colagênicas do tecido ósseo (GARNERO, 2015) e possui estrutura em hélice tríplice formada por cerca de mil resíduos de aminoácidos, com 300 nm de comprimento e 1,4 nm de diâmetro (NIMMI, 1993). O colágeno tipo I é um heterotrímero, composto por duas cadeias $\alpha 1$ e uma cadeia $\alpha 2$ (GARNERO, 2015). E cada uma dessas é contorcida em hélice de poliprolina à esquerda, contendo três resíduos a cada volta. O conjunto das três cadeias é orientado à direita, conferindo à molécula a forma de bastão (BOTHAM; MURRAY, 2017) (Figura 1).

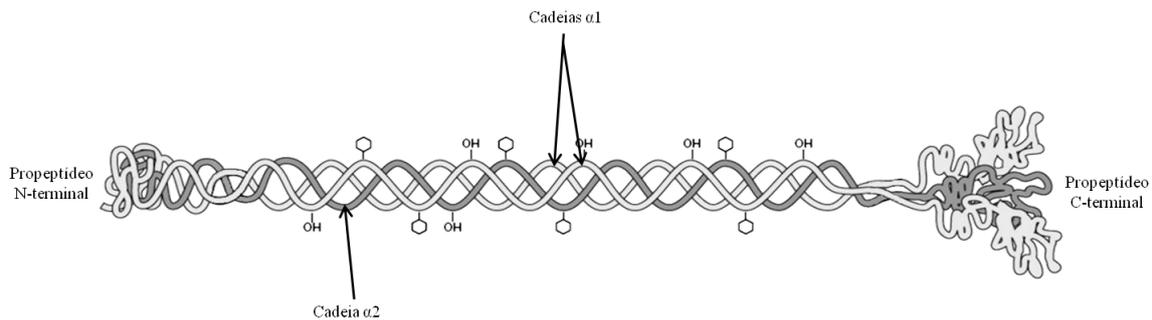


Figura 1- Molécula de pró-colágeno tipo I.
Fonte: adaptado de Forlino e Marini (2016).

A cada terceira posição helicoidal tripla da cadeia α , existe um resíduo de glicina. Isso se justifica pela glicina ser aminoácido de cadeia curta, sendo possível que se encaixe no centro da hélice tríplice. A ligação da glicina na hélice tríplice é fundamental na sua estabilização, sendo representada pela equação $(\text{Gli-X-Y})_n$. X e Y podem ser representados por qualquer aminoácido, porém, em cerca de 100 das posições X, a prolina está presente, enquanto a hidroxiprolina ocupa 100 das posições Y. Tais resíduos de aminoácidos são responsáveis por contribuir para a característica biomecânica de rigidez do colágeno (BOTHAM; MURRAY, 2017), além de auxiliarem na estabilidade térmica da molécula (BERG; PROCKOP, 1973).

A hidroxiprolina é formada a partir de modificações pós-traducionais dos resíduos de prolina, reação essa catalisada pela enzima prolil-hidroxilase. Os resíduos de lisina presentes na posição Y também sofrem conversão em hidroxiprolina pela ação da lisil-hidroxilase, que, assim como a prolil-hidroxilase, é dependente de ácido ascórbico e α -cetoglutarato como cofatores. A hidroxilisina recém-formada pode ainda sofrer glicosilação por adição de galactose ou de galactosil-glicose por uma ligação *O*-glicosídica. No tecido ósseo predomina a formação de β -1-galactosil-hidroxilisina, enquanto a pele contém principalmente α -1,2-glicosil-galactosil-hidroxilisina (PINNELL; FOX; KRANE, 1971; SEGREST; CUNNINGHAM, 1970; VIGUET-CARRIN; GARNERO; DELMAS, 2006).

As cadeias de hélice tríplice de colágeno tipo I formam fibras longas graças à associação lateral das hélices tríplices sob o formato de fibrilas, com diâmetro variando de 10 até 300 nm, alinhadas em escalonamento de um quarto (FRATZL, 2008) (Figura 2). Nesse arranjo, formam-se áreas de sobreposição entre as cadeias, alternadas com áreas de intervalo sem sobreposição, o que permite que cada fibra fique separada da sua vizinha longitudinalmente a uma distância de até um quarto de seu comprimento total (BOTHAM; MURRAY, 2017).

Os espaçamentos entre uma cadeia e outra de colágeno, quando alinhadas no modelo de escalonamento de um quarto, são os locais de ancoragem dos cristais de hidroxiapatita, que, em consequência desse arranjo, se depositam de forma paralela às fibras. A estrutura e organização do colágeno limitam o tamanho dos cristais depositados, bem como induzem a direção na qual esses cristais se orientam (FRATZL et al., 1996; TRAUB et al., 1994; VETTER et al., 1991).

As extremidades das fibrilas são contornadas por domínios globulares não helicoidais, denominados propeptídeos N-terminal e C-terminal. A clivagem proteolítica dos propeptídeos resulta em uma molécula em hélice tríplice contendo os telopeptídeos N- e C- terminais (GARNERO, 2015).

Os grupamentos mais espessos de fibrilas são denominados fibras, variando de 1 a 20 mm de diâmetro. Tais grupamentos são unidos entre si por ligações cruzadas covalentes entre as fibrilas e entre as hélices tríplices formadas por ação da enzima lisil-oxidase (LOX). Esta enzima é dependente de cobre, e realiza a desaminação de resíduos de lisina e hidroxilisina. Após reações químicas específicas, a reação resulta em ligações cruzadas covalentes estáveis, que desempenham papel fundamental na força de tensão das fibras colágenas (BOTHAM; MURRAY, 2017).

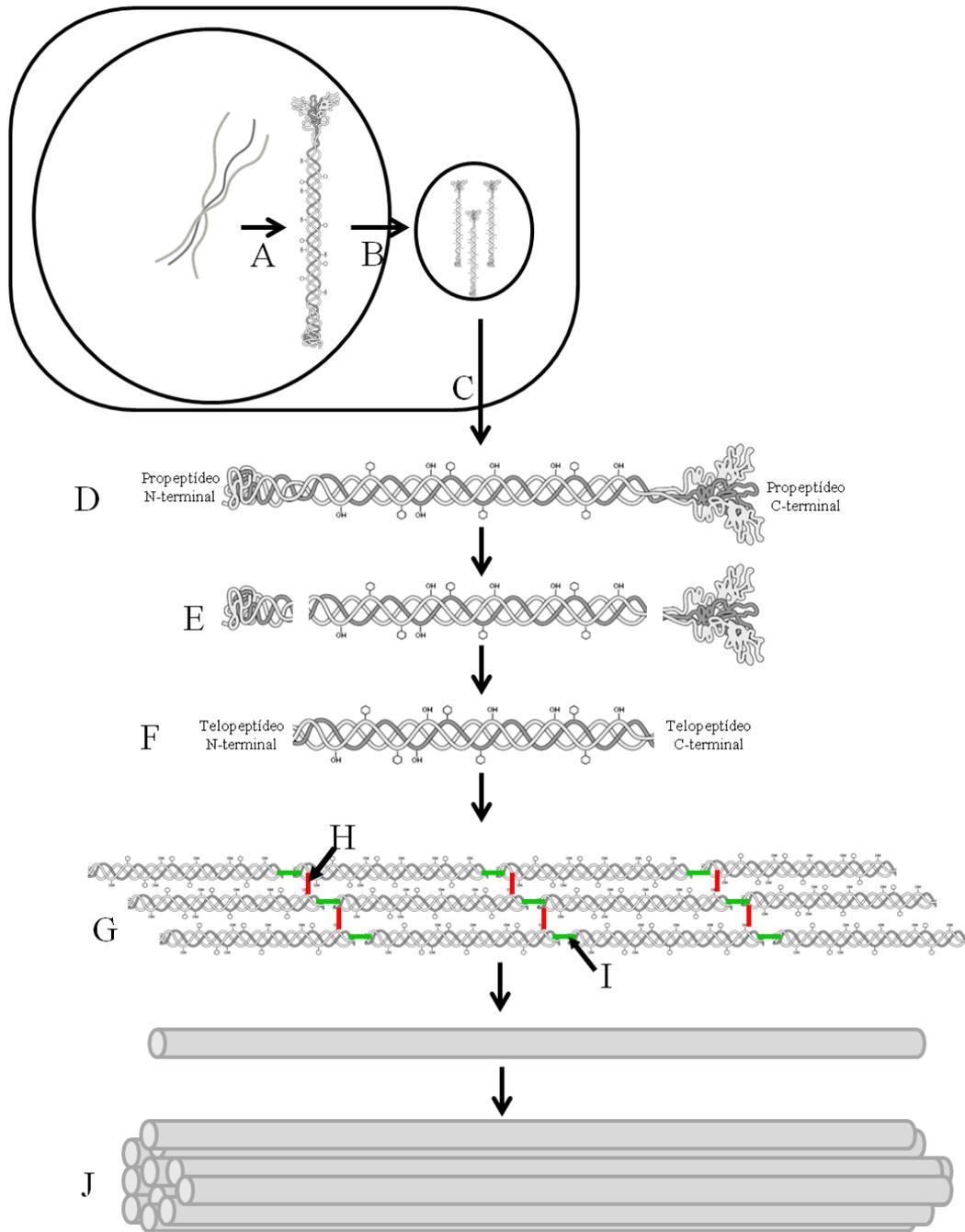


Figura 2 - Sequência de modificações pós-traducionais do colágeno tipo I. A) formação da hélice tríplice no retículo endoplasmático. B) formação das vesículas secretórias. C) secreção das vesículas. D) molécula de pró-colágeno. E) clivagem dos propeptídeos N e C-terminal. F) tropocolágeno. G) formação das fibrilas. H) ligação cruzada não enzimática. I) ligação cruzada enzimática. J) fibra colágena.

Fonte: Adaptado de Forlino e Marini (2016); Viguet-Carrin, Garnero e Delmas (2006).

A molécula recém-sintetizada de colágeno sofre diversas modificações após a tradução antes de se tornar completamente madura. Assim como grande parte das proteínas em síntese, o colágeno é traduzido sob a forma de pré-pró-colágeno, o qual possui uma sequência sinalizadora que endereça a proteína ao lúmen do retículo endoplasmático. Ao entrar no lúmen, ocorre a lise da sequência sinalizadora e acontecem a hidroxilação da prolina e lisina e a

glicosilação da hidroxilisina. O pró-colágeno contém extensões polipeptídicas que formam pontes bissulfeto, cuja função é auxiliar na formação da hélice tríplice, de forma a iniciar a torção da cadeia polipeptídica (BOTHAM; MURRAY, 2017).

Após serem secretadas para o meio extracelular, as moléculas de colágeno sofrem estabilização adicional pela ação da LOX (SMITH-MUNGO; KAGAN, 1998), cuja função é converter os telopeptídeos de lisina e hidroxilisina das extremidades C-terminal e N-terminal em lisil-aldeído. Sendo que esta reação propicia as ligações covalentes intracadeia entre as hélices tríplices, sob a forma de base de Schiff (BAILEY; KNOTT, 1999). Tal enzima é capaz ainda de realizar desaminação oxidativa, convertendo os resíduos de aminoácidos citados nos aldeídos alisina e hidroxialisina (ROBINS; SHIMOKOMAKI; BAILEY, 1973). A reação que segue é espontânea e não enzimática, caracterizada pela condensação dos aldeídos formados com a cadeia em hélice tríplice vizinha, formando uma ligação cetoamina divalente (EYRE; PAZ; GALLOP, 1984).

A ligação é estabilizada por nova reação com outro aldeído, formando uma ligação trivalente do tipo piridínio, sendo os produtos formados uma piridinolina (PYD) ou desoxipiridinolina (DPD) (VIGUET-CARRIN; GARNERO; DELMAS, 2006). A formação de piridinolina pode ser compensada pela ligação do tipo pirrol, cuja reação é menos complexa, por tratar-se de ligação que necessita de menor quantidade de hidroxilisina para sua formação. Existem diferenças estruturais entre os dois tipos de ligação, sendo que a piridinolina forma ligações intrafibrilares, enquanto o tipo pirrol se configura como interfibrilar (BAILEY; KNOTT, 1999; BAILEY; PAUL; KNOTT, 1998).

As etapas subsequentes de modificações pós-traducionais que ocorrem no colágeno são exclusivamente não enzimáticas. A glicação (Figura 3) é um desses processos, e ocorre de modo a haver reação entre a lisina e arginina da molécula de colágeno com carboidratos ou seus intermediários (3-desoxiglicosona, glioxal e metilglioxal) (BAILEY, 2001). Nesse processo, os carboidratos reagem com aminoácidos pela reação de Maillard (LAPOLLA; TRALDI; FEDELE, 2005), formando moléculas como a hexosil-lisina, que é prontamente convertida a cetoamina pela reação espontânea de Amadori. As cetoaminas sofrem alterações oxidativas formando produtos finais de glicação avançada, moléculas chamadas de AGEs (Advanced Glycation End Products), que podem ser submetidos a diversas reações para formar ligações intermoleculares, como a pentosidina, ou podem ainda participar do processo de formação de bases de Schiff, originando a carboximetil-lisina (BAILEY, 2001). Ao contrário das ligações

cruzadas enzimáticas, que ficam restritas aos domínios terminais da molécula, a formação de AGEs propicia ligações por toda a extensão da molécula de colágeno (GAUTIERI et al., 2014).

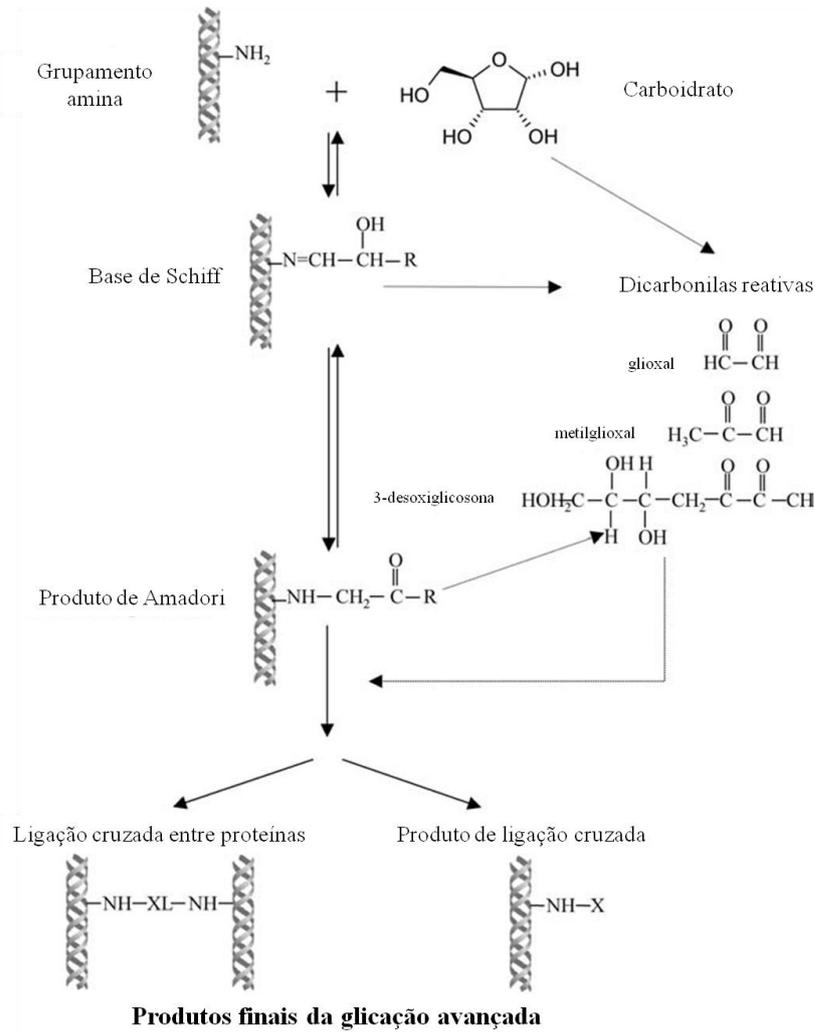


Figura 3 - Etapas do processo de glicação do colágeno tipo I.
 Fonte: Adaptado de Vigué-Carrin, Garnero e Delmas (2006).

Os AGEs contribuem para o surgimento de diversas doenças relacionadas ao envelhecimento e são envolvidos em casos de complicações de diabetes (BROWNLEE; CERAMI; VLASSARA, 1988) e doença de Alzheimer (MARKESBERRY, 1997), por serem formados em tecidos com proteínas de baixa taxa de *turnover*, como cristalino, cartilagens, tendões e ossos (VIGUET-CARRIN; GARNERO; DELMAS, 2006). As proteínas que contém AGEs são capazes de alterar vias de sinalização, como aquelas envolvidas na proliferação, diferenciação e interação celular (BROWNLEE, 1994; MIYATA et al., 1996). Essas moléculas agem não apenas alterando as vias metabólicas teciduais, mas também são capazes de afetar a conformação da matriz extracelular. Com isso, o acúmulo de AGEs tem correlação positiva

com o aumento da rigidez em tecidos como cristalino, artérias, tendões, cartilagens e ossos, predispondo tais tecidos a alterações conformacionais relacionadas às suas propriedades mecânicas (CHEN et al., 2002; LI et al., 2013; TANG; VASHISHTH, 2011; VERZIIL et al., 2002; ZIMMERMANN et al., 2011).

Os processos finais de alterações pós-traducionais não enzimáticas do colágeno envolvem a racemização e isomerização, que se caracterizam por serem alterações na conformação da molécula relacionadas ao envelhecimento. A racemização consiste na conversão da forma L-enantiomérica para a forma D-enantiomérica, enquanto a isomerização é definida pela transferência do esqueleto peptídico de um resíduo de aspartil do grupamento α -carboxílico para o grupamento β - ou γ -carboxílico (CLARKE, 1987). A isomerização é o processo gradual que induz alterações na conformação das proteínas, o que acarreta em alterações funcionais das mesmas. Como o colágeno está entre as proteínas propensas a esse tipo de modificação bioquímica, as propriedades biomecânicas ósseas podem ser afetadas por esse fator (VIGUET-CARRIN; GARNERO; DELMAS, 2006).

3 PAPEL DO COLÁGENO TIPO I NA RESISTÊNCIA ÓSSEA

A resistência característica do tecido ósseo é determinada pela massa tecidual e por sua rigidez, atribuída principalmente à fase inorgânica da matriz extracelular (CURREY, 1979, 1988; CURREY; BREAR; ZIOUPOS, 1996). O colágeno, por sua vez, contribui em grande parte para a propriedade de tenacidade presente no tecido (BOSKEY; WRIGHT; BLANK, 1999; THOMPSON et al., 2001; WANG et al., 2001; ZIOUPOS; CURREY; HAMER, 1999; ZIOUPOS, 2001).

A presença da matriz orgânica no tecido ósseo aumenta a resistência à tração em cerca de dez vezes. Currey (2003) e Currey et al. (1997) demonstraram o papel do colágeno nas propriedades mecânicas do tecido ósseo, uma vez que, ao utilizarem radiação ionizante para danificar o colágeno ósseo, verificaram redução da resistência tecidual. No entanto, os autores não verificaram alteração no módulo de elasticidade dos ossos testados. Fantner et al. (2004) também confirmam o papel do colágeno na biomecânica óssea ao degradar a matriz orgânica por meio de altas temperaturas. Os autores reportam menor elasticidade, força e resistência, havendo também alterações no comportamento do tecido ósseo trabecular e da aparência das microfraturas.

O colágeno interfere na resistência óssea não apenas na sua relação com a matriz inorgânica, mas também pela orientação de suas fibras em relação ao eixo na qual a carga é direcionada. No tecido ósseo trabecular, composto por fibras colágenas desorganizadas, as propriedades mecânicas mostram-se inferiores quando comparadas ao osso cortical, mesmo que o conteúdo mineral seja maior, o que demonstra que a organização e orientação das fibras de colágeno exercem papel fundamental nas propriedades mecânicas (MAROTTI; MUGLIA; PALUMBO, 1994).

Ossos longos, como o fêmur, suportam cargas compressivas muito altas no sentido vertical, com poucos danos à sua estrutura. No entanto, a mesma carga aplicada em sentido longitudinal resulta em fraturas com mais facilidade. Esse fato é explicado pela orientação dos ósteons no sentido longitudinal do osso cortical, resistindo a força maior quando a carga é aplicada no sentido fisiológico (HEŘT; FIALA; PETRTÝL, 1994). Fibras orientadas em sentido longitudinal são mais comuns nas áreas que suportam cargas tensivas, e as fibras transversais são mais desenvolvidas nos locais onde a compressão é a força principal (MARTIN; BOARDMAN, 1993). Puustjärvi et al. (1999) relataram que exercícios em longo prazo reduzem a densidade mineral óssea sem alterar as propriedades mecânicas, demonstrando ainda reorganização das fibrilas colágenas sem modificação na maturação da molécula ou composição da mesma, sugerindo que a reorganização contribui na manutenção da resistência, mesmo havendo queda na densidade mineral.

As propriedades do colágeno interagem com diversos outros determinantes na resistência óssea, todos contribuindo para as propriedades mecânicas do tecido. As interações entre as diferentes propriedades limitam a análise da contribuição exclusiva do colágeno e de suas modificações bioquímicas. Essa relação complexa cria o desafio na investigação do papel do colágeno na determinação da resistência óssea (VIGUET-CARRIN; GARNERO; DELMAS, 2006).

Apesar de diversos estudos demonstrarem a importância das fibras colágenas nas propriedades mecânicas do osso, as vias bioquímicas envolvidas nesse processo ainda parecem pouco esclarecidas (FERREIRA et al., 2012). Knott et al. (1995) sugerem que possa haver envolvimento das modificações pós-traducionais na molécula de colágeno, como as ligações cruzadas entre grupamentos pirrol, sem associação evidente com os compostos piridinolina.

Inúmeras pesquisas que utilizam modelos experimentais animais objetivam esclarecer o papel de cada etapa na biossíntese do colágeno tipo I, por meio da inibição ou potencialização de determinadas reações químicas. A formação dos compostos de piridinolina, por exemplo, pode ser inibida pela β -aminopropionitrila ou deficiências nutricionais, como dietas pobres em

vitamina B₆ ou cobre. A via de inibição, em todos esses casos, funciona pela diminuição da atividade da LOX, caracterizando-se como redução generalizada da resistência óssea (VIGUET-CARRIN; GARNERO; DELMAS, 2006).

Oxlund et al. (1995) por meio de experimento com ratos tratados com β -aminopropionitrila, evidenciaram redução de 45% das ligações cruzadas de piridinolina, o que resultou em alterações de mineralização e 20 a 30% de perda na capacidade de deflexão, resistência à flexão e rigidez óssea. Mcnerny et al. (2015) testaram ossos de membros pélvicos de ratos tratados com β -aminopropionitrila e relataram que a inibição das ligações cruzadas causadas pelo tratamento afetou o tecido ósseo de forma generalizada, reduzindo a tenacidade à fratura e a resistência óssea.

Alterações nas propriedades mecânicas ósseas causadas por modificações na estrutura do colágeno tipo I, como redução da resistência e força à torção também foram reportadas em fêmures de ratos com mineralização óssea deficiente (LEES et al., 1994), ossos longos de ratos com deficiências de vitamina B₆ (MASSÉ et al., 1996) e frangos com dietas pobres em cobre (OPSAHL et al., 1982).

Logo, percebe-se que as ligações cruzadas de piridinolina mediadas pela LOX são fatores importantes no que diz respeito às propriedades mecânicas do tecido ósseo. Como os experimentos são caracterizados não apenas por alterações nas moléculas de colágeno, mas também por alterações na matriz inorgânica, nota-se certa dificuldade em determinar o papel do colágeno isoladamente na biomecânica óssea (VIGUET-CARRIN; GARNERO; DELMAS, 2006).

Em relação ao tecido ósseo trabecular, Banse et al. (2002) explanam que as altas concentrações de pirrol e baixas quantidades de ligações de piridinolina causam espessamento e descontinuidade das trabéculas ósseas em corpos vertebrais, enquanto baixas quantidades de pirrol e altas de piridinolina levam a um adelgaçamento e aparente maior conexão entre as trabéculas. Os autores ainda comentam que as concentrações equilibradas dos dois compostos podem refletir na organização normal do tecido ósseo trabecular. Banse, Sims e Bailey (2002), em pesquisa subsequente no mesmo modelo de corpos vertebrais, demonstraram que a força de compressão é correlacionada à proporção de piridinolina: desoxipiridinolina, e não aos compostos em separado, indicando que a variação individual das proporções destas moléculas é baseada no grau de hidroxilação da lisina.

A formação de ligações cruzadas depende do grau de hidroxilação da lisina, sendo que a formação da piridinolina necessita de grande quantidade de hidroxilisina, e alterações na

formação desse composto mudarão a ligação cruzada final que será formada (VIGUET-CARRIN; GARNERO; DELMAS, 2006). A superexpressão dos genes relacionados a essa reação pode levar ao aumento na taxa de hidroxilação, por consequência, aumentando a quantidade de ligações cruzadas (PORNPRASERTSUK et al., 2004a; UZAWA et al., 1999), enquanto a expressão ectópica levaria a fibrilas colágenas mais curtas e mineralização defeituosa (PORNPRASERTSUK et al., 2004b). Tais achados corroboram o relato de que as propriedades mecânicas do tecido ósseo estão diretamente correlacionadas às alterações pós-traducionais sofridas pelo colágeno.

Alterações na glicação do colágeno também são fatores importantes na determinação da resistência óssea. Wang et al. (2002) mostraram que a pentosidina, um importante AGE, quando aumentada, é correlacionada a deformações senis nas fibras colágenas em osso cortical humano. Vashishth et al. (2001) também mostraram essa correlação em osso cortical bovino, evidenciando que o acúmulo de AGEs foi associado ao enrijecimento das fibras colágenas sem alterações biomecânicas. Em pesquisas posteriores, Boxberger e Vashishth (2004) relatam aumento de 29% na rigidez, redução de 71% na deformação e de 47% na força máxima de fratura, relacionados aos níveis de AGE em ossos corticais humanos frescos e descalcificados.

As propriedades mecânicas do colágeno ósseo podem ser afetadas ainda, por doenças como diabetes, pois os quadros de hiperglicemia são associados ao aumento da formação dos AGEs (KOSTOLANSKÁ; JAKUŠ; BARÁK, 2009). Yang et al. (2016) correlacionaram o aumento dos níveis dos produtos finais de glicação avançada com redução da osteogênese, no entanto, sem alterar a mineralização óssea de ratos. As ligações cruzadas do colágeno estabelecidas pelos AGEs são mecanicamente mais frágeis, reduzindo a qualidade óssea por fazer com que as fibras fiquem fracamente unidas. No diabetes tipo II a resistência óssea se mostra inversamente proporcional à proporção de AGEs no tecido (FURST et al., 2016). De forma similar, altas concentrações dos produtos de glicação avançada também são responsáveis pelo decréscimo na resistência mecânica do tecido ósseo no diabetes tipo I (RUBIN et al., 2016).

A carbamazepina, uma das drogas mais utilizadas no controle de crises epiléticas, também possui correlação com a fragilidade óssea. Garip e Severcan (2019) conduziram um experimento no qual a carbamazepina foi administrada sob a dosagem de 50 mg/kg/dia em ratos Wistar. Após cinco semanas, os autores relataram redução das ligações cruzadas de colágeno, além de redução da mineralização e alteração na proporção carbonato: fosfato.

De fato, modificações pós-traducionais na molécula de colágeno são fortemente associadas às propriedades biomecânicas do osso. Acréscimos na quantidade de ligações

cruzadas são associados ao aumento na rigidez, enquanto variações na quantidade de AGEs durante o envelhecimento possuem correlação com a capacidade absorviva de energia. Tais achados, em conjunto, corroboram a ideia de que o colágeno é grande determinante na qualidade do tecido ósseo, bem como exerce intensa influência nas suas propriedades biomecânicas (VIGUET-CARRIN; GARNERO; DELMAS, 2006).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto, pode-se concluir que o colágeno tipo I exerce influência direta na resistência do tecido ósseo, visto que a orientação das fibras em relação ao eixo natural ao qual a força é aplicada ao osso determina a resistência do tecido. Além disso, a disposição das ligações cruzadas entre as moléculas e as fibrilas de colágeno também possuem grande importância, uma vez que alterações patológicas que desestabilizam essas ligações podem alterar significativamente as propriedades mecânicas inerentes ao tecido ósseo.

5 REFERÊNCIAS

- BAILEY, A. J. Molecular mechanisms of ageing in connective tissues. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 122, n. 7, p. 735–755, 2001.
- BAILEY, A. J.; KNOTT, L. Molecular changes in bone collagen in osteoporosis and osteoarthritis in the elderly. **Experimental Gerontology**, v. 34, n. 3, p. 337–51, 1999.
- BAILEY, A. J.; PAUL, R. G.; KNOTT, L. Mechanisms of maturation and ageing of collagen. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 106, n. 1–2, p. 1–56, 1998.
- BANSE, X. et al. Cross-link profile of bone collagen correlates with structural organization of trabeculae. **Bone**, v. 31, n. 1, p. 70–76, 2002.
- BANSE, X.; SIMS, T. J.; BAILEY, A. J. Mechanical properties of adult vertebral cancellous bone: correlation with collagen intermolecular cross-links. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 17, n. 9, p. 1621–1628, 2002.
- BERG, R. A.; PROCKOP, D. J. The thermal transition of a non-hydroxylated form of collagen. Evidence for a role for hydroxyproline in stabilizing the triple-helix of collagen. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 52, n. 1, p. 115–120, 1973.
- BOSKEY, A. L.; WRIGHT, T. M.; BLANK, R. D. Collagen and bone strength. **Journal of**

Bone and Mineral Research, v. 14, n. 3, p. 330–335, 1999.

BOTHAM, K. M.; MURRAY, R. K. Matriz extracelular. In: RODWELL, V. W. et al. **Bioquímica ilustrada de Harper**. 30. ed. Porto Alegre: AMGH, 2017. p. 818.

BOXBERGER, J.; VASHISHTH, D. Nonenzymatic glycation affects bone fracture by modifying creep and inelastic properties of collagen. **Transactions of the Orthopedic Society**, v. 29, n. 3, p. 491, 2004.

BROWNLEE, M. Glycation and diabetic complications. **Diabetes**, v. 43, n. 6, p. 836–41, 1994.

BROWNLEE, M.; CERAMI, A.; VLASSARA, H. Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. **New England Journal of Medicine**, v. 318, n. 20, p. 1315–1321, 1988.

CHEN, A. C. et al. Induction of advanced glycation end products and alterations of the tensile properties of articular cartilage. **Arthritis & Rheumatism**, v. 46, n. 12, p. 3212–3217, 2002.

CLARKE, S. Propensity for spontaneous succinimide formation from aspartyl and asparaginyl residues in cellular proteins. **International journal of peptide and protein research**, v. 30, n. 6, p. 808–21, 1987.

CURREY, J. D.; BREAR, K.; ZIOUPOS, P. The effects of ageing and changes in mineral content in degrading the toughness of human femora. **Journal of Biomechanics**, v. 29, n. 2, p. 257–260, 1996.

CURREY, J. D. Changes in the impact energy absorption of bone with age. **Journal of Biomechanics**, v. 12, n. 6, p. 459–469, 1979.

CURREY, J. D. et al. Effects of ionizing radiation on the mechanical properties of human bone. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 15, n. 1, p. 111–117, 1997.

CURREY, J. D. Role of collagen and other organics in the mechanical properties of bone. **Osteoporosis International**, v. 14, n. 0, p. 29–36, 2003.

CURREY, J. D. The effect of porosity and mineral content on the young's modulus of elasticity of compact bone. **Journal of Biomechanics**, v. 21, n. 2, p. 131–139, 1988.

EYRE, D. R.; PAZ, M. A.; GALLOP, P. M. Cross-linking in collagen and elastin. **Annual Review of Biochemistry**, v. 53, n. 1, p. 717–748, 1984.

FANTNER, G. E. et al. Influence of the degradation of the organic matrix on the microscopic fracture behavior of trabecular bone. **Bone**, v. 35, n. 5, p. 1013–1022, 2004.

FERREIRA, A. M. et al. Collagen for bone tissue regeneration. **Acta Biomaterialia**, v. 8, n. 9, p. 3191–3200, 2012.

FORLINO, A.; MARINI, J. C. Osteogenesis imperfecta. **The Lancet**, v. 387, n. 10028, p. 1657–1671, 2016.

- FRATZL, P. et al. Bone mineralization in an osteogenesis imperfecta mouse model studied by small-angle x-ray scattering. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 97, n. 2, p. 396–402, 1996.
- FRATZL, P. Collagen: structure and mechanics, an introduction. In: _____. **Collagen: structure and mechanics**. New York, NY: Springer, 2008. p. 1-13.
- FRIEDMAN, A. W. Important determinants of bone strength. **JCR: Journal of Clinical Rheumatology**, v. 12, n. 2, p. 70–77, 2006.
- FURST, J. R. et al. Advanced glycation end products and bone material strength in type 2 diabetes. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 101, n. 6, p. 2502–2510, 2016.
- GARIP, S.; SEVERCAN, F. The effects of carbamazepine, an anti-epileptic drug, on structure and surface roughness of healthy rat bone tissues: An FTIR microspectroscopy and AFM microscopy study. **Biophysical Journal**, v. 116, n. 3, p. 564a, 2019.
- GARNERO, P. The role of collagen organization on the properties of bone. **Calcified Tissue International**, v. 97, n. 3, p. 229–240, 2015.
- GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. Cartilagem e osso. In: _____. **Tratado de Histologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Gunabara Koogan, 2014. p. 80–107.
- GAUTIERI, A. et al. Age- and diabetes-related nonenzymatic crosslinks in collagen fibrils: Candidate amino acids involved in advanced glycation End-products. **Matrix Biology**, v. 34, p. 89–95, 2014.
- HEŘT, J.; FIALA, P.; PETRTÝL, M. Osteon orientation of the diaphysis of the long bones in man. **Bone**, v. 15, n. 3, p. 269–277, 1994.
- JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. Tecido ósseo. In: _____. **Histologia básica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Gunabara Koogan, 2013. p. 131–148.
- KNOTT, L. et al. Biochemical changes in the collagenous matrix of osteoporotic avian bone. **The Biochemical journal**, v. 310, n. 3, p. 1045–51, 1995.
- KOSTOLANSKÁ, J.; JAKUŠ, V.; BARÁK, L. HbA1c and serum levels of advanced glycation and oxidation protein products in poorly and well controlled children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. **Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism**, v. 22, n. 5, p. 433–442, 2009.
- LAPOLLA, A.; TRALDI, P.; FEDELE, D. Importance of measuring products of non-enzymatic glycation of proteins. **Clinical Biochemistry**, v. 38, n. 2, p. 103–115, 2005.
- LEES, S. et al. Comparison of dosage-dependent effects of β -aminopropionitrile, sodium fluoride, and hydrocortisone on selected physical properties of cortical bone. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 9, n. 9, p. 1377–1389, 1994.

LI, Y. et al. Advanced glycation end-products diminish tendon collagen fiber sliding. **Matrix Biology**, v. 32, n. 3–4, p. 169–177, 2013.

MARKESBERY, W. R. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 23, n. 1, p. 134–147, 1997.

MAROTTI, G.; MUGLIA, M. A.; PALUMBO, C. Structure and function of lamellar bone. **Clinical Rheumatology**, v. 13, Suppl 1, p. 63–8, 1994.

MARTIN, R. B.; BOARDMAN, D. L. The effects of collagen fiber orientation, porosity, density, and mineralization on bovine cortical bone bending properties. **Journal of Biomechanics**, v. 26, n. 9, p. 1047–1054, 1993.

MASSÉ, P. G. et al. Pyridoxine deficiency affects biomechanical properties of chick tibial bone. **Bone**, v. 18, n. 6, p. 567–574, 1996.

MCNERNY, E. M. B. et al. Bone fracture toughness and strength correlate with collagen cross-link maturity in a dose-controlled lathyrism mouse model. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 30, n. 3, p. 446–455, 2015.

MIYATA, T. et al. Possible involvement of advanced glycation end-products in bone resorption. **Nephrology, Dialysis, Transplantation : Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association**, v. 11 Suppl 5, p. 54–7, 1996.

NIMMI, M. E. Fibrillar collagens: their biosynthesis, molecular structure, and mode of assembly. In: ZERN, M. A.; REID, L. M. **Extracellular Matrix**. New York: Dekker, 1993. p. 121–148.

OPSAHL, W. et al. Role of copper in collagen cross-linking and its influence on selected mechanical properties of chick bone and tendon. **The Journal of Nutrition**, v. 112, n. 4, p. 708–716, 1982.

OXLUND, H. et al. Reduced concentrations of collagen cross-links are associated with reduced strength of bone. **Bone**, v. 17, n. 4, p. S365–S371, 1995.

PINNELL, S. R.; FOX, R.; KRANE, S. M. Human collagens: differences in glycosylated hydroxylysines in skin and bone. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure**, v. 229, n. 1, p. 119–122, 1971.

PORNPRASERTSUK, S. et al. Lysyl hydroxylase-2b directs collagen cross-linking pathways in MC3T3-E1 cells. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 19, n. 8, p. 1349–1355, 2004a.

PORNPRASERTSUK, S. et al. Overexpression of lysyl hydroxylase-2b leads to defective collagen fibrillogenesis and matrix mineralization. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 20, n. 1, p. 81–87, 2004b.

PUUSTJÄRVI, K. et al. Do more highly organized collagen fibrils increase bone mechanical strength in loss of mineral density after one-year running training? **Journal of Bone and**

Mineral Research, v. 14, n. 3, p. 321–329, 1999.

ROBINS, S. P.; SHIMOKOMAKI, M.; BAILEY, A. J. The chemistry of the collagen cross-links. Age-related changes in the reducible components of intact bovine collagen fibres. **The Biochemical journal**, v. 131, n. 4, p. 771–80, 1973.

RUBIN, M. R. et al. Advanced glycation end products and bone material properties in type 1 diabetic mice. **Plos One**, v. 11, n. 5, p. e0154700, 2016.

SEGREST, J. P.; CUNNINGHAM, L. W. Variations in human urinary O-hydroxylysyl glycoside levels and their relationship to collagen metabolism. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 49, n. 8, p. 1497–509, 1970.

SMITH-MUNGO, L. I.; KAGAN, H. M. Lysyl oxidase: properties, regulation and multiple functions in biology. **Matrix Biology**, v. 16, n. 7, p. 387–398, 1998.

TANG, S. Y.; VASHISHTH, D. The relative contributions of non-enzymatic glycation and cortical porosity on the fracture toughness of aging bone. **Journal of Biomechanics**, v. 44, n. 2, p. 330–336, 2011.

THOMPSON, J. B. et al. Bone indentation recovery time correlates with bond reforming time. **Nature**, v. 414, n. 6865, p. 773–776, 2001.

TRAUB, W. et al. Ultrastructural studies of bones from patients with osteogenesis imperfecta. **Matrix Biology**, v. 14, n. 4, p. 337–345, 1994.

UZAWA, K. et al. Differential expression of human lysyl hydroxylase genes, lysine hydroxylation, and cross-linking of type I collagen during osteoblastic differentiation in vitro. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 14, n. 8, p. 1272–1280, 1999.

VASHISHTH, D. et al. Influence of nonenzymatic glycation on biomechanical properties of cortical bone. **Bone**, v. 28, n. 2, p. 195–201, 2001.

VERZIIL, N. et al. Crosslinking by advanced glycation end products increases the stiffness of the collagen network in human articular cartilage: a possible mechanism through which age is a risk factor for osteoarthritis. **Arthritis & Rheumatism**, v. 46, n. 1, p. 114–123, 2002.

VETTER, U. et al. Changes in apatite crystal size in bones of patients with osteogenesis imperfecta. **Calcified Tissue International**, v. 49, n. 4, p. 248–250, 1991.

VIGUET-CARRIN, S.; GARNERO, P.; DELMAS, P. D. The role of collagen in bone strength. **Osteoporosis International**, v. 17, n. 3, p. 319–336, 2006.

WANG, X. et al. Age-related changes in the collagen network and toughness of bone. **Bone**, v. 31, n. 1, p. 1–7, 2002.

WANG, X. et al. The role of collagen in determining bone mechanical properties. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 19, n. 6, p. 1021–1026, 2001.

YANG, X. et al. Bone formation is affected by matrix advanced glycation end products

(AGEs) *in vivo*. **Calcified Tissue International**, v. 99, n. 4, p. 373–383, 2016.

ZIMMERMANN, E. A. et al. Age-related changes in the plasticity and toughness of human cortical bone at multiple length scales. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 35, p. 14416–21, 2011.

ZIOUPOS, P. Ageing human bone: factors affecting its biomechanical properties and the role of collagen. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 15, n. 3, p. 187–229, 2001.

ZIOUPOS, P.; CURREY, J. D.; HAMER, A. J. The role of collagen in the declining mechanical properties of aging human cortical bone. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 45, n. 2, p. 108–116, 1999.



Capítulo

2

Miastenia gravis – revisão de literatura

Caio Vaz Baqui Lima ¹
Jankerle Neves Boeloni ²

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

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

1 INTRODUÇÃO

As neuromiopatias são um conjunto de distúrbios neuromusculares decorrentes do acometimento primário da unidade motora, composta pelo neurônio motor medular, raiz nervosa, nervo periférico, junção neuromuscular e músculo (REED, 2002). As neuropatias acometem várias espécies, incluindo animais domésticos e seres humanos e podem apresentar diversas manifestações clínicas, desde mais brandas como a redução do reflexo palpebral, até as mais severas como insuficiência respiratória e parada cardíaca (DEWEY; COSTA, 2016).

Um grupo específico de neuromiopatias de grande relevância médica, tanto para a medicina humana quanto para a medicina veterinária, são as alterações da junção neuromuscular (JNM). Esta junção é responsável pela comunicação entre as células nervosas e as fibras musculares, sendo assim, é comum que doenças que acometam estas estruturas, apresentem sinais clínicos mais evidentes sobre os sistemas locomotor, digestório e cardiorrespiratório (NATIONAL INSTITUTE OF NEUROLOGICAL DISORDERS AND STROKE, 2017).

Existem diversas afecções da junção neuromuscular, dentre as mais conhecidas destaca-se a miastenia gravis (MG) que acomete os receptores de acetilcolina (AChR), impedindo a contração muscular de forma completa ou parcial. Essa doença ocorre em animais e seres humanos (DEWEY; COSTA, 2016).

De maneira geral, a miastenia gravis é uma doença de etiopatogenia, diagnóstico e tratamento complexos e ainda existem muitas dúvidas a serem sanadas a respeito deste tema. Assim, o objetivo do presente trabalho foi realizar uma revisão de literatura sobre miastenia gravis com o intuito de contribuir para o entendimento da doença, atentar os profissionais da área para a sua importância, assim como difundir o conhecimento em diversos os âmbitos da medicina veterinária.

2 JUNÇÃO NEUROMUSCULAR (JNM)

A Junção neuromuscular (JNM) é o termo designado para a união entre um nervo aferente e a fibra muscular que está sendo inervada. A JNM é constituída por três unidades: a membrana pré-sináptica (superfície final do axônio), a fenda sináptica (espaço entre a superfície final do axônio e a membrana da fibra muscular) e a membrana pós-sináptica (porção que

corresponde à superfície da fibra muscular). A união de um neurônio motor com as fibras musculares inervadas por ele é chamada de unidade motora (DEWEY; COSTA, 2016).

Para que a contração muscular ocorra, é necessário que o potencial de ação elétrico percorra todo o neurônio e atinja a superfície da membrana pós-sináptica. Nas JNM ocorre a liberação de um neurotransmissor, denominado acetilcolina (ACh). Este, por sua vez, promove a abertura dos canais dependentes de ACh, presentes na superfície das fibras musculares. Com a abertura desses canais, ocorre um influxo de íons de sódio para o interior das fibras musculares próximas à inserção da JNM, gerando um potencial de ação (GUYTON; HALL, 2011).

O potencial de ação percorre a membrana das fibras musculares, da mesma maneira que percorre a membrana dos axônios. Ao se propagar pela membrana da fibra muscular, o potencial de ação penetra a mesma, promovendo a liberação de íons de cálcio do retículo sarcoplasmático para as miofibrilas. O retículo sarcoplasmático armazena grande quantidade de cálcio em seu interior. Os íons de cálcio então liberados, promovem a atração entre os filamentos de actina e miosina, fazendo com que um deslize sobre o outro, constituindo um mecanismo de contração. Frações de segundo após a liberação dos íons de cálcio, os mesmos são bombeados novamente para o interior do retículo sarcoplasmático, onde ficam aguardando o estímulo de um novo potencial de ação para que o processo de contração se repita (GUYTON; HALL, 2011).

3 MIASTENIA GRAVIS

3.1 ETIOPATOGENIA

A miastenia gravis pode ser classificada em congênita e adquirida, sendo a congênita rara e a adquirida uma das desordens neuromusculares mais comuns em cães (BLAKEY et al., 2017). Porém, esta doença foi observada em diversas espécies de animais (LOSEN, 2015).

3.1.1 Etiopatogenia da miastenia gravis congênita

A forma congênita da miastenia gravis pode ser tipificada em três categorias: pré-sináptica, sináptica ou pós-sináptica, dependendo da sua etiopatogenia (DEWEY; COSTA, 2016).

Na forma pré-sináptica, ocorre uma falha na síntese do neurotransmissor acetilcolina, que fica armazenado no interior das vesículas secretoras do axônio, impedindo que o impulso nervoso atinja o músculo (DEWEY; COSTA, 2016).

Na forma sináptica, ocorre problemas na síntese da enzima acetilcolinesterase, responsável por desfazer a ligação da acetilcolina com seu receptor; sendo assim ocorre uma superestimulação da contração do músculo, culminando posteriormente em lesão das fibras musculares (DEWEY; COSTA, 2016).

Já na pós-sináptica, acontece a redução da quantidade de receptores de acetilcolina na superfície da fibra muscular. Esta redução promove sinais de fraqueza quando o paciente é submetido a provas de esforço físico. Em manifestações congênitas, é comum que mais de um filhote da ninhada seja portador da doença (DEWEY; COSTA, 2016).

Em cães e gatos, os mecanismos genéticos já descritos como responsáveis por causar a miastenia gravis congênita são: herança autossômica recessiva; síndrome miastênica autossômica recessiva, com alteração pré-sináptica na síntese de acetilcolina; alteração na codificação da enzima acetilcolinesterase (pela substituição da base guanina por adenina no éxon 6 do gene CHAT); e ainda, casos de homozigose resultando em indivíduos doentes e heterozigose, gerando indivíduos saudáveis (porém portadores do gene mutante) (DEWEY; COSTA, 2016).

3.1.2 Etiopatogenia da miastenia gravis adquirida

A miastenia gravis adquirida é uma doença autoimune na qual há produção de anticorpos contra os receptores de acetilcolina presentes na superfície da fibra muscular (sarcolema) (SANTOS; ALESSI, 2010).

Sabe-se que a adesão desses anticorpos, atua sobre os receptores de acetilcolina de três diferentes maneiras: impedindo que os canais de cálcio se abram; degradando os receptores (com conseqüente diminuição do número sobre a membrana da fibra muscular) e por lise da junção neuromuscular, causada por componentes do sistema complemento. Como conseqüência de qualquer um dos três mecanismos descritos, tem-se um menor número de receptores de acetilcolina para mediar a transmissão na JNM, e conseqüentemente, uma transmissão neuromuscular ineficiente, caracterizada principalmente por fraqueza muscular (DEWEY; COSTA, 2016). Em sua maioria, a MG adquirida ocorre sem causa sistêmica

subjacente (NATIONAL INSTITUTE OF NEUROLOGICAL DISORDERS AND STROKE, 2017).

Na medicina veterinária, algumas doenças possuem estreita relação com a miastenia gravis adquirida, e que em geral apresentam seu curso de forma concomitante como hipotireoidismo, timomas, cistos tímicos, linfoma cutâneo não epiteliotrópico, carcinoma colangiocelular, adenocarcinoma de glândula adanal, sarcoma osteogênico (osteossarcoma), sarcoma oral, terapia com metimazole em gatos, miosite de músculos mastigatórios e disautonomia (DEWEY; COSTA, 2016). Dentre as neoplasias que eventualmente são cursadas por pacientes miastêncos, o timoma (tumor de timo) é considerado o tipo mais comum (LORENZ; COATES; KENT, 2011) e acredita-se que essa neoplasia seja responsável pelo defeito na resposta imune (SANTOS; ALESSI, 2010). Em gatos com miastenia gravis adquirida, a incidência de massas mediastínicas craniais é notoriamente superior à incidência na espécie canina, sendo de 15-26% e 3%, respectivamente. Estudos mostraram que 17% dos cães com timoma, apresentavam sintomatologia clínica compatível com miastenia gravis (DEWEY; COSTA, 2016).

Especificamente em cães, a MG adquirida em geral está associada a megaesôfago e à disfagia, que podem resultar em pneumonia por aspiração secundária (NATIONAL INSTITUTE OF NEUROLOGICAL DISORDERS AND STROKE, 2017; SANTOS; ALESSI, 2010).

Além disso, algumas doenças imunomediadas são também correlacionadas ao aumento da predisposição à miastenia gravis, como por exemplo lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatoide, polimiosites, pênfigo, anemia perniciosa, sarcoidose, colite ulcerativa e síndrome de Sjogren (THANVI; LO, 2004).

3.2 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

De acordo com as manifestações clínicas de cada paciente, na medicina veterinária, a miastenia gravis adquirida pode ser classificada de três diferentes formas, sendo elas (I) focal, (II) generalizada ou (III) aguda fulminante. Na forma (I), focal, encontrada em 40% dos cães e 14% dos gatos, o paciente apresenta megaesôfago com ausência de sinais em membros, podendo apresentar também fraqueza de laringe, face, faringe e/ou reflexo palpebral reduzido/ausente (MACHADO, 2016; STUCCHI, 2013).

Na forma (II), generalizada, o indivíduo apresenta distúrbio muscular esofágico, laríngeo, faríngeo e/ou facial, acompanhado(s) também de fraqueza muscular de membros, podendo estar presente apenas nos membros pélvicos ou em ambos, pélvicos e torácicos. Na forma (III), aguda fulminante, o paciente apresenta sinais de fraqueza muscular grave de aparecimento repentino. As manifestações clínicas desta última forma, assim como as outras, também cursam com astenia da musculatura esofágica, laríngea, faríngea e/ou facial, porém, em geral, estão associadas à quadros graves de megaesôfago e pneumonia aspirativa. Sendo assim, os pacientes que cursam a forma aguda fulminante comumente entram em insuficiência respiratória e vêm à óbito, similar ao que ocorre no botulismo e na paralisia do carrapato (REMONDEGUI, 2012).

Em termos de manifestações clínicas da doença, na medicina veterinária, a miastenia gravis adquirida pode ser classificada de acordo com a distribuição e severidade dos sinais clínicos apresentados. Assim, existem quatro classes de pacientes pré-estabelecidas: (I) casos que apresentam sinais clínicos focais, porém sem fraqueza muscular; (II) pacientes com manifestação clínica branda, porém com fraqueza muscular generalizada de característica progressiva e sem ocorrência de megaesôfago; (III) quadros de fraqueza muscular aguda com ocorrência de megaesôfago, conhecida como forma fulminante; e (IV) os pacientes com timoma, apresentando síndrome paraneoplásica (MOTA, 2015).

3.3 FATORES PREDISPONENTES OU AGRAVANTES

A miastenia gravis adquirida é muito mais comum em cães do que em gatos (LORENZ; COATES; KENT, 2011).

Em cães, as raças de maior predisposição à miastenia gravis adquirida são: Pastor Alemão, Golden Retrievers e Labradores Retrievers. Sabe-se que cães das raças Newfoundlands e Dogue Alemão, também apresentam características de hereditariedade para a forma adquirida da doença. Os cães da raça Akita parecem apresentar maior risco para esta forma da doença do que qualquer outra raça (LORENZ; COATES; KENT, 2011). A doença, em sua forma congênita, é descrita com certa frequência em cães das raças Jack Russel Terriers, Samoieda, Smooth-haired Fox Terriers, Springer Spaniels e Dachshunds-Miniatura (DEWEY; COSTA, 2016). Cães mestiços apresentam menor risco, quando com parados com cães de raça pura (SHELTON; SCHULE; KASS, 1997).

Em gatos, as raças com maior ocorrência de miastenia gravis adquirida são: Somalis, Abissínios e gatos doméstico de pelo curto (LORENZ; COATES; KENT, 2011). Porém, esta forma da doença já foi observada em diversas outras raças como Himalaia, Maine Coon, Persa, Balinese, Bengal, Korat, Manx, Oriental de Pelo Curto, Rex e Scottish Fold (SHELTON; HO; KASS, 2000). Gatos de raças puras, em geral, apresentam maior predisposição do que gatos sem raça definida (DEWEY; COSTA, 2016). A forma congênita da doença, já foi relatada em alguns gatos (LORENZ; COATES; KENT, 2011). Não foram encontradas na literatura, informações a respeito das raças de gatos com maior predisposição à forma congênita.

Em relação ao sexo como fator predisponente para a miastenia gravis adquirida, sabe-se que na espécie canina, as fêmeas possuem uma maior predisposição (LORENZ; COATES; KENT, 2011). Além disso, é observada um discreto aumento da incidência da doença em animais castrados, quando comparados com animais não castrados (DEWEY; COSTA, 2016).

Em estudos, não foram observadas diferenças significativas entre a incidência de machos ou fêmeas de gatos com miastenia gravis (SHELTON; HO; KASS, 2000).

Em algumas espécies como humanos, cães e gatos, uma relação bimodal de idade já foi descoberta para a miastenia gravis adquirida. Em geral, cães são mais acometidos em idades inferiores a cinco anos ou acima de sete anos, ou mais precisamente, quando estão entre quatro meses e quatro anos ou entre nove e 13 anos de idade. Já os gatos costumam apresentar a enfermidade entre dois e três anos, ou posteriormente, entre nove e 10 anos de idade (DEWEY; COSTA, 2016; LORENZ; COATES; KENT, 2011).

3.3.1 Medicamentos e drogas

É descrita em raras fontes, a possibilidade do tratamento com prednisona estar correlacionado com agravamento do quadro de fraqueza muscular em cães, aumentando os sinais clínicos da miastenia gravis adquirida (ABELSON et al., 2009).

Em gatos que realizaram tratamento para hipotireoidismo, fazendo uso de metimazole, apresentam maior predisposição a cursar miastenia gravis adquirida (LORENZ; COATES; KENT, 2011).

Em cães e gatos, apesar de não ser comum, a administração de drogas anticolinesterásicas (Neostigmina) pode desencadear crises colinérgicas, por manter uma alta concentração de acetilcolina na fenda sináptica. Em geral, os efeitos colaterais são gerados em

resposta à um estímulo exagerado dos efeitos farmacológicos dos anticolinesterásicos. Em decorrência disso, os sinais clínicos mais observados são diarreia, aumento de secreção em brônquios e faringe e aumento do peristaltismo intestinal. Em casos mais graves, podem ocorrer depressão respiratória, parada cardíaca e possível morte do indivíduo (FOY; TREPANIER; SHELTON, 2011).

Alguns outros medicamentos devem ser utilizados com cautela em pacientes com miastenia gravis como relaxantes musculares, narcóticos, aminoglicosídeos, anti-arrítmicos, ampicilina, fenotiazínicos, anestésicos e antibióticos. Assim como o uso de organofosforados em associação com piridostigmina, devido à potencialização do efeito anticolinesterásico (DEWEY; COSTA, 2016).

3.4 PRINCIPAIS SINAIS CLÍNICOS

Em um estudo realizado durante os anos de 1991 e 1995, Shelton e colaboradores em 1997 na Universidade da Califórnia, descreveram os sintomas encontrados em 1032 cães diagnosticados com miastenia gravis em diversas áreas dos Estados Unidos. Participaram do estudo cães de raça pura e de raça mista. Além disso, foram descritas as porcentagens da frequência de cada um dos sinais clínicos encontrados e suas correlações. Esses dados foram separados de acordo com a característica da manifestação clínica, focal ou generalizada, e adaptados na Tabela 1.

Em gatos, episódios variados de fraqueza muscular são descritos, podendo serem acompanhados de ventroflexão de pescoço, déficit de reflexo de pálpebras, regurgitação, massas mediastinais craniais e alterações vocais. Além desses, outros sinais como disfagia, megaesôfago adquirido, paresia de laringe, faringe e músculos da face e intolerância ao exercício também são relatados (SHELTON; HO; KASS, 2000).

Uma das complicações mais frequentes da miastenia gravis é a ocorrência de pneumonia aspirativa em decorrência de megaesôfago, fator que dificulta ainda mais o tratamento. Outra consequência relatada, é o bloqueio atrioventricular de terceiro grau, porém para este, ainda não há comprovação científica da real relação de causa e efeito sobre a miastenia gravis. Além destas complicações, também há relatos da ocorrência de doenças imunomediadas em concomitância com a miastenia gravis, como é o caso das endocrinopatias e polimiosites imunomediadas (LORENZ; COATES; KENT, 2011).

Tabela 1. Sinais clínicos e frequência desses sinais em cães com miastenia gravis focal e generalizada.

Sinal Clínico	Focal		Sinal Clínico	Generalizada	
	Número de cães	Porcentagem do total (%)		Número de cães	Porcentagem do total (%)
M	367	31,8	FG, M	440	38,1
M,FL	7	<1	FG, M, FL	7	<1
M, PL, RA	3	<1	FG, M, RA	34	2,9
M, FL, RA	3	<1	FG, M, PL	3	<1
M, PL	6	<1	FG	77	0,7
M, RA	14	1,2	FG, PL	1	<1
M, MMC	16	1,3	FG, RA	5	<1
FL	13	1,1	FG, M, MMC	15	6,7
FL,PL	2	<1	FG, M, MMC	2	<1
SCV	7	<1	SCV	10	<1

M = megaesôfago; FG = fraqueza generalizada; FL = fraqueza de laringe; PL = paralisia de laringe; RA = redução ou ausência de reflexo de ameaça; MMC = massa mediastínica cranial; SCV = sintomas clínicos variados -> baixa motilidade esofágica (n=3), pneumonia crônica (n=1), massa mediastínica cranial somente (n=2), apenas fraqueza do musculo extraocular (n=1) e fraqueza generalizada com bloqueio cardíaco de terceiro grau (n=3).

Fonte: Adaptada de Shelton, Schule e Kass (1997).

3.5 MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

Em medicina veterinária, existem vários métodos utilizados para o diagnóstico da enfermidade, como histórico clínico do paciente, exames de imagem, teste de desafio com cloreto de edrofônio (Tensilon Test®), avaliação de eletrodiagnóstico, testes de avaliação nervosa repetitiva, realização de eletromiografia de fibra única, comprovação do aumento da concentração de anticorpos contra receptores de acetilcolina e observação da presença de anticorpos ligados à junção neuromuscular. Os principais métodos diagnósticos estão descritos a seguir:

- Abordagem clínica

Método de diagnóstico indicado para ambas as formas, congênita e adquirida da doença. Para uma abordagem satisfatória, é necessário que o profissional levante o máximo de informações a respeito de seu paciente. Deve-se inicialmente, identificar os sinais clínicos que

necessitem de intervenção de forma rápida, como dificuldades respiratórias, de deglutição e/ou megaesôfago, que resultam em dificuldades de oxigenação e ingestão hídrica e alimentar. É recomendado que o clínico solicite exames complementares como hemograma, urinálise e perfis bioquímicos. A partir desses exames, é possível descartar outras alterações que possam desencadear fraqueza muscular, generalizada ou focal. Além dos exames citados, deve-se pesquisar por problemas endócrinos, como disfunções das glândulas adrenal e tireoide e/ou infecciosos como botulismo, polirradiculoneurite e paralisia do carrapato [(adaptado de Loren, Coates e Kent (2011); Dewey e Costa (2017); University of San Diego (2017)].

- Exames de imagem

Método de diagnóstico indicado para ambas as formas, congênita e adquirida da doença. Radiografias são úteis para a identificação de megaesôfago, pneumonia aspirativa e massas tímicas. Em casos em que há a suspeita de megaesôfago, porém não foram achados sinais radiográficos em radiografia simples, recomenda-se realizar a modalidade de esofagografia contrastada com solução de bário ou uma fluoroscopia. No entanto, deve-se tomar cuidado com o risco do paciente inspirar o contraste durante o exame. Outra opção com menor risco é a cintilografia esofágica, que oferece informações mais precisas sobre a função esofágica. Exames radiográficos também são úteis na identificação de massas tímicas. Porém, mesmo que os sinais radiográficos de aumento do timo não estejam presentes, a possibilidade da ocorrência de timomas não devem ser completamente descartadas. Recomenda-se a realização de exames de imagem mais elaborados, como tomografia computadorizada e ressonância magnética. Além dos exames complementares citados, o eletrocardiograma também deve ser realizado, a fim de descartar um possível bloqueio cardíaco de terceiro grau [(adaptado de Loren, Coates e Kent (2011); Dewey e Costa (2017); University of San Diego (2017)].

- Teste de desafio com cloreto de edrofônio (*Tensilon Test*)

Método de diagnóstico indicado para a forma adquirida da doença. Indicado para animais apresentando fraqueza muscular. A ação anticolinesterásica desta droga faz com que a acetilcolina fique mais tempo ligado ao seu receptor na junção neuromuscular e é classificada como tendo efeito de muito curta duração. Isso faz com que ocorra uma melhora significativa na contração muscular de forma rápida. A resposta positiva ao teste com cloreto de edrofônio dura poucos minutos e confere uma maior certeza do diagnóstico de miastenia gravis, porém, esta não deve ser considerada como diagnóstico definitivo, uma vez que outras disfunções da junção neuromuscular também podem apresentar respostas discretas ao teste (falso-positivo).

Além disso, em pacientes apresentando uma redução dos receptores de acetilcolina, a resposta ao cloreto de edrofônio pode ser discreta ou ausente, gerando um falso negativo. Para a realização do teste, o clínico deve administrar o medicamento por via intravenosa utilizando um catéter, seguindo a dose de 0,1-0,2 mg por quilograma para cães e 0,25-0,50 mg por gato. Apesar da curta duração do teste, em casos de exacerbação dos efeitos colinérgicos da droga, o clínico deverá deixar atropina de forma acessível, caso seja necessária a reversão do efeito. Para pacientes positivos ao teste, recomenda-se a manutenção do tratamento com neostigmina, por seu efeito anticolinesterásico de longa duração. Neste caso, o clínico deve associar a aplicação de atropina (0,02-0,04 mg/kg) ou glicopirrolato (0,01-0,02 mg/kg), ambos por via intramuscular ou subcutânea anteriormente ao teste, reduzindo a probabilidade de uma crise colinérgica. Dentre os efeitos colaterais de um paciente em crise colinérgica, estão a bradicardia e broncoconstrição. Para a forma focal da doença em gatos, em geral não são observadas respostas significativas, exceto em caso de acometimento palpebral, sendo mais fácil a visualização da resposta [(adaptado de Loren, Coates e Kent (2011); Dewey e Costa (2017); University of San Diego (2017)].

- Estimulação nervosa repetitiva

Método de diagnóstico indicado para ambas as formas, congênita e adquirida da doença. A estimulação nervosa repetitiva consiste na aplicação de eletrodos em pontos específicos dos membros, a fim de estimular de forma repetitiva os nervos e interpretar a intensidade da resposta muscular ao estímulo elétrico. Os nervos mais comuns a serem utilizados no teste são o ulnar, tibial e perineal. Após a instalação dos eletrodos de estímulo elétrico sobre o nervo a ser testado, são colocados outros eletrodos de captação do sinal sobre os dígitos inervados pelo mesmo nervo, com o intuito de captar a resposta. Em pacientes com miastenia gravis, espera-se que essa resposta ao estímulo se apresente sempre na faixa de 5 Hz ou mais baixa. Em humanos esse método de diagnóstico é muito eficiente e responde melhor para casos com a forma generalizada da doença do que para casos focais. Porém, quando comparada com a dosagem de anticorpos contra receptores e acetilcolina, a estimulação nervosa repetitiva é mais eficiente para o diagnóstico da forma focal. Em geral, o eletrodiagnóstico é muito útil no diagnóstico de miastenia gravis, porém, por exigir anestesia geral e equipamentos específicos, seu uso não é muito frequente [(adaptado de Loren, Coates e Kent (2011); Dewey e Costa (2017); University of San Diego (2017)].

- Eletromiografia de fibra única

Método de diagnóstico indicado para ambas as formas, congênita e adquirida da doença. Este teste é muito eficaz, tanto em cães quanto em humanos, porém não é muito utilizado devido ao alto custo das agulhas e escassez de profissionais aptos para a realização. Para humanos, é o melhor teste para diagnóstico de todas as formas de miastenia gravis, sendo que 91-100% dos pacientes miastênicos apresentam alterações neste teste. Por avaliar apenas a resposta ao potencial evocado de apenas uma fibra muscular, é considerado mais específico e sensível. Em pacientes normais, a resposta ao estímulo é sempre constante, já em pacientes miastênicos ou com disfunções na junção neuromuscular, ocorre uma variação da resposta tendendo a ser de intensidade inferior. Vale lembrar que o teste interpreta qualquer alteração da junção neuromuscular e não apenas a miastenia gravis [(adaptado de Loren, Coates e Kent (2011); Dewey e Costa (2017); University of San Diego (2017)].

- Dosagem sérica de anticorpos contra receptores de acetilcolina

Método de diagnóstico indicado para a forma adquirida da doença. Para que o clínico obtenha o diagnóstico definitivo da miastenia gravis adquirida, é necessária a comprovação sérica de anticorpos contra os receptores de acetilcolina, através da dosagem dos mesmos através imunoprecipitação por radioimunoensaio. Os pacientes que apresentam a forma aguda fulminante da doença, tendem a apresentar maiores concentrações de anticorpos do que pacientes com a forma adquirida clássica. Em relação à interpretação do resultado, concentrações acima de 0,30 nmol/L em gatos e de 0,6 nmol/L em cães, são consideradas positivas para miastenia gravis adquirida. Tem sido observado que quanto mais severa é a manifestação clínica do paciente, maior o resultado da concentração de anticorpos no teste [(adaptado de Loren, Coates e Kent (2011); Dewey e Costa (2017); University of San Diego (2017)].

O teste é realizado através do soro do paciente e é considerado de baixo custo. Em medicina veterinária, a dosagem de anticorpos contra os receptores de acetilcolina, é realizada para cães e gatos pelo *Comparative Neuromuscular Laboratory*, na Universidade da Califórnia em San Diego. Apenas 2% dos cães miastênicos com a forma adquirida, são soronegativos. O valor da dosagem é de \$100,00 dólares americanos e o tempo para obtenção do resultado varia entre 5-7 dias úteis. Para a solicitação do exame, é necessário que clínico preencha o formulário de submissão de amostra e o envie juntamente com a amostra para o endereço descrito no mesmo. No próprio formulário, será preenchido os dados do cartão que efetuará o pagamento. É importante que a amostra seja coletada antes do paciente ser submetido a qualquer terapia

imunossupressora, caso contrário, o teste pode indicar um resultado falso-negativo, uma vez que este é baseado na dosagem de anticorpos. Em relação à amostra a ser enviada, é necessário envio 1-2 mL de soro por Correios na modalidade “standard overnight” (transporte durante à noite) ou “second day service” (serviço/entrega no dia seguinte) [(adaptado de Loren, Coates e Kent (2011); Dewey e Costa (2017); University of San Diego (2017))].

- Observação da presença de anticorpos depositados sobre a junção neuromuscular

Método de diagnóstico indicado para a forma adquirida da doença. Consiste na observação microscópica de anticorpos ligados aos receptores de acetilcolina em uma amostra de músculo. Para isso, existem duas possibilidades: (I) a realização de imunocitoquímica a partir da biópsia do músculo do paciente ou (II) através da análise de um fragmento de músculo de um cão saudável, após imersão e incubação no soro do paciente com suspeita de miastenia gravis adquirida. O benefício do teste é que o mesmo é simples de ser realizado e é de baixo custo, porém, não é muito específico, sendo que o resultado pode ser um falso-positivo. Quanto ao resultado é negativo do teste, o mesmo é confiável, podendo ser descartada a possibilidade da forma adquirida da doença, exceto quando o animal foi submetido previamente a terapias imunossupressoras [(adaptado de Loren, Coates e Kent (2011); Dewey e Costa (2017); University of San Diego (2017))].

- Biópsia muscular

Especificamente sobre o diagnóstico da MG realizado por biópsia muscular, as alterações histológicas no músculo são ausentes ou inespecíficas, mas quando ocorrem, são atrofia por desuso e fibrose (SANTOS; ALESSI, 2010).

Na MG adquirida, a biópsia muscular é pouco realizada, pois o quadro clínico e as provas terapêuticas estabelecem o diagnóstico na maioria dos casos, no entanto quando as lesões estão presentes, há atrofia de fibras tipo II com focos ocasionais de infiltrado linfocitário e alterações no padrão da junção neuromuscular à microscopia eletrônica, como simplificação das pregas pós-sinápticas e redução do número de receptores de acetilcolina na membrana sarcoplasmática (BLEGGI TORRES; NORONHA, 1994).

Sugere-se que a biópsia muscular pode ser inconclusiva em alguns casos devido a alguns fatores como: escolha inapropriada do grupo muscular a ser biopsiado; fase clínica inicial do processo sem lesão muscular estabelecida e em que a análise da biópsia demonstra apenas alterações mínimas. Assim, caso uma nova biópsia seja realizada em grupo muscular adequado

ou durante a fase estabelecida da doença, provavelmente o diagnóstico final seria determinado. Pode-se citar ainda outras causas de laudos inconclusivos como artefatos de compressão e material insuficiente ou não representativo de tecido muscular (BLEGGI TORRES; NORONHA, 1994).

3.6 TRATAMENTOS

3.6.1 Tratamento específico para miastenia gravis congênita

O tratamento da forma congênita depende da etiopatogenia de cada caso. Em situações onde houve apenas uma redução no número de receptores de acetilcolina sobre a membrana da fibra muscular, os receptores remanescentes podem responder à terapia com drogas anticolinesterásicas, como por exemplo a piridostigmina. Porém, em geral, ocorre uma dessensibilização a esses medicamentos com o passar do tempo. É pouco provável que ocorra uma remissão espontânea da doença, e por esse motivo, se faz necessário um acompanhamento suporte pelo resto da vida do animal (DEWEY; COSTA, 2016; LORENZ; COATES; KENT, 2011).

3.6.2 Tratamento específico para miastenia gravis adquirida

Para o tratamento terapêutico específico da miastenia gravis adquirida, deve-se considerar o uso de drogas anticolinesterásicas, terapias imunossupressoras, uso de glicocorticoides, administração intravenosa de anticorpos e/ou plasma, aplicação de vacinas terapêuticas e o tratamento das neoplasias e outras causas primárias (DEWEY; COSTA, 2016). As opções de tratamento para miastenia gravis adquirida estão descritas a seguir:

- Terapia com drogas anticolinesterásicas

Esta terapia facilita a interação da acetilcolina com seu receptor. A droga mais comum a ser utilizada é o brometo de piridostigmina oral. Gatos respondem melhor do que os cães à essa terapia, portanto, deve-se tomar cuidado com a dosagem nesta espécie, iniciando sempre o tratamento com a dose mais baixa. Apesar de responderem bem ao tratamento com anticolinesterásicos, as terapias imunossupressoras são mais recomendadas para gatos. Quando

presentes, os efeitos colaterais são sialorréia, fasciculação, diarreia e vômito. Nesses casos, as doses devem ser reduzidas. Para pacientes com problemas para ingerir medicações orais, pode-se administrar piridostigmina através do gastrotubo ou neostigmina parenteral, até que o problema de ingestão seja resolvido e o tratamento com piridostigmina oral possa ser realizado. A neostigmina por via parenteral tem ação mais rápida, porém mais curta (seis horas) que a piridostigmina por via oral (DEWEY; COSTA, 2016).

O resultado à terapia com anticolinesterásico varia bastante. Por exemplo, em humanos a forma focal ocular da doença dificilmente é controlada com esse tratamento apenas. Já cães, respondem de forma satisfatória, sendo observado um melhor resultado em cães com manifestações apendiculares do que em cães com megaesôfago. Essa variação pode ser relacionada ao fato das drogas anticolinesterásicas não cessarem a resposta autoimune, mas apenas amenizá-la de certa forma (DEWEY; COSTA, 2016).

- Terapia com drogas imunossupressoras

O intuito da terapia com drogas imunossupressoras é interromper o processo autoimune da doença, e em geral, ela deve ser sempre realizada em casos que a terapia com droga anticolinesterásica não apresentou resposta satisfatória. Devido ao efeito imunossupressor, alguns profissionais evitam esse tratamento pelo possível agravamento de quadros de pneumonia aspirativa e de fraqueza muscular (DEWEY; COSTA, 2016).

A azatioprina atua na síntese de DNA e inibe atividade linfocitária, reduzindo o número e a produção de anticorpos contra os receptores de acetilcolina. A associação desta droga com a prednisona tem efeitos muito satisfatórios. Seu uso em gatos não é recomendado por causar mielossupressão exacerbada. Em cães, só deve ser evitada em casos de leucopenia (4000 células/mL) e trombocitopenia. Em geral, resposta à terapia leva em torno de 6 semanas, porém em alguns casos, já se percebe os efeitos a partir de 2 semanas, principalmente quando associada à prednisona. Quando a terapia está associada, após 2-4 meses de tratamento, a prednisona pode passar a ser utilizada em dias alternados ou ser suspensa. Durante todo o tratamento com azatioprina, a função da medula óssea deve ser monitorada, semanalmente ou quinzenalmente no início do tratamento, e posteriormente, a cada 1-2 meses (DEWEY; COSTA, 2016).

A Ciclosporina é muito utilizada em pacientes humanos que não respondem à alguns protocolos de imunossupressão. Essa substância age no DNA impedindo a transcrição de genes que permitem a ativação de linfócitos T. Em geral, o efeito colateral mais comum observado são alterações discretas sobre o trato gastrointestinal. Raramente pode ser observado toxicidade

hepática, problemas proliferativos de linfócitos, hiperplasia de gengiva, alergias e infecções secundárias (DEWEY; COSTA, 2016).

Micofenolato mofetil (MMF) age impedindo a síntese de purina nos linfócitos B e T, sendo assim, bloqueia a diferenciação linfocitária e a formação de anticorpos. Em humanos é bastante usado para pessoas que realizam transplante renal, assim como para doenças autoimunes como a miastenia gravis. Seu uso em cães, já apresentou quadros de remissão dos sinais clínicos dentro de 48 horas, porém em estudos maiores, o tratamento do MMF associado com piridostigmina, não apresentou diferença quando comparado com os resultados do tratamento apenas com piridostigmina (DEWEY; COSTA, 2016).

O Leflunomida, atua inibindo a divisão dos linfócitos T e B e já foi testado em cães com doenças autoimunes como síndrome de Evans, encefalite e meningoencefalite não supurativa e poliartrite imunomediadas. Experimentalmente, esta droga preveniu aparecimento de miastenia gravis em ratos, porém não há informações sobre seu uso em pequenos animais. Como efeitos colaterais, foi observado presença de sangue nas fezes e vômito. Após o desaparecimento dos sinais clínicos, é recomendado que a dose seja reduzida à metade, evitando assim efeitos colaterais (DEWEY; COSTA, 2016).

- Terapia com glicocorticoides

Em cães, a terapia com glicocorticoides tem sido correlacionada com o agravamento da fraqueza muscular e dificuldades respiratórias, porém gatos têm se mostrado mais resistentes a esses efeitos colaterais. Em humanos o uso de glicocorticoides tem causado fraqueza muscular em cerca de 50% dos pacientes. A terapia com glicocorticoide deve ser implementada em casos de resposta insatisfatória ou resistente com anticolinesterásicos. Doses de prednisona acima de 0,5 mg/kg/BID têm maior predisposição a causarem efeitos colaterais (DEWEY; COSTA, 2016).

A dexametasona deve ser evitada em paciente miastênicos, pois apresenta mais efeitos colaterais, principalmente sobre músculos e trato gastrointestinal, do que a prednisona. Acredita-se que a prednisona iniba a síntese e liberação de mediadores inflamatórios, assim como reduz atividade leucocitária, principalmente linfocitária, em relação aos receptores de acetilcolina (DEWEY; COSTA, 2016).

- Terapia intravenosa com anti-anticorpos e/ou plasmaferese

Apesar de ser utilizada em pacientes humanos com miastenia gravis adquirida, a terapia com anti-anticorpos e plasmaferese, têm se mostrado mais eficaz no controle da forma

fulminante da doença. Na medicina veterinária, essa primeira técnica não é corriqueira devido ao seu alto custo e carência de equipamentos, porém, acredita-se que tenha um bom resultado também na forma fulminante em animais. Ainda não se tem certeza sobre o mecanismo de atuação, mas a teoria é de que os anticorpos exógenos acabam por se ligar aos anticorpos autoimunes, impedindo que os mesmos bloqueiem os receptores de acetilcolina sobre a fibra muscular. Não foi observada diferença significativa entre a terapia com anticorpos intravenosos ou a administração de metilprednisolona para o tratamento da forma aguda da doença (DEWEY; COSTA, 2016).

A plasmaferese, funciona como uma técnica de filtração do plasma do paciente miastênico, com o intuito de remover da circulação sanguínea os anticorpos contra os receptores de acetilcolina. Em humanos ainda não se tem comprovação científica da eficácia da plasmaferese e em cães, a informação que se têm é de apenas um cão que foi submetido à técnica associada à terapia com prednisona e o resultado foi a remissão da doença (DEWEY; COSTA, 2016).

- Terapia com vacinas

Consiste na aplicação de vacinas compostas de peptídeos estruturalmente similares aos receptores de antígeno das células de defesa, responsáveis por desencadear a resposta autoimune da miastenia gravis. Ao entrarem na corrente sanguínea, esses peptídeos estimulam a produção de anticorpos contra os receptores das células de defesa que degradam os receptores de acetilcolina sobre a membrana da fibra muscular, impedindo ou amenizando o mecanismo patogênico da doença (DEWEY; COSTA, 2016).

- Tratamento de neoplasias associadas

Em pacientes miastênicos apresentando neoplasias de timo, a cirurgia de remoção deve ser realizada. Em humanos, 80% dos pacientes miastênicos com a forma adquirida, apresentam neoplasia ou hiperplasia de timo. A remoção cirúrgica nos casos de hiperplasia aumenta as chances de remissão da doença. Já nos casos de neoplasia de timo, não é observada melhora clínica significativa após a remoção cirúrgica, pelo contrário, alguns pacientes humanos chegam a apresentar piora do quadro posteriormente. Na medicina veterinária, a timectomia sem presença de timomas, não apresenta benefício algum, mas apenas em casos em que é observada a presença de massas no timo. Tem sido observada uma resposta eficaz ao tratamento de timomas através de radioterapia (DEWEY; COSTA, 2016).

3.6.3 Tratamento específico para miastenia gravis fulminante

Dentre as manifestações clínicas, a forma aguda fulminante da miastenia gravis é a que apresenta maior propensão a levar o indivíduo ao óbito, porém, felizmente, é a forma mais rara (DEWEY; COSTA, 2016).

O diagnóstico e o protocolo de tratamento, devem ser obrigatoriamente instituídos de forma rápida, em geral, oferecendo suporte respiratório e terapias com drogas anticolinesterásicas. É comum que pacientes acometidos por esta forma da doença, apresentem quadros de falência respiratória, por deficiência dos músculos envolvidos no processo de respiração, ou eventualmente, cursem pneumonia aspirativa. Deve-se tomar cuidados com os efeitos colaterais causados por algumas terapias com corticoides, dentre os principais, a fraqueza muscular (DEWEY; COSTA, 2016).

Como terapia, é recomendada tanto na medicina humana quanto na medicina veterinária, que seja realizada a plasmaferese do paciente miastênico, porém na medicina veterinária a aplicação desta técnica ainda não é corriqueira, devido ao custo e disponibilidade (DEWEY; COSTA, 2016).

3.6.4 Tratamento suporte para miastenia gravis em cães e gatos

Em ambos os casos, congênito ou adquirido, se faz necessário um tratamento suporte para pacientes miastênicos. Como suporte, deve-se considerar o tratamento de eventual pneumonia aspirativa, manutenção do balanço eletrolítico e de fluídos corporais, suporte nutritivo, suporte respiratório e uso de drogas que atuam sobre o sistema gastrointestinal (DEWEY; COSTA, 2016). As opções de tratamento suporte para miastenia gravis em cães e gatos estão descritas a seguir:

- Prevenção de pneumonia aspirativa

Alternar o decúbito de pacientes com dificuldades de locomoção de 2-4 horas, evitando edema pulmonar e agravamento de quadros de pneumonia. Para pacientes já cursando pneumonia, deve-se associar antibioticoterapia, após cultura e antibiograma (cuidado com antibióticos que atuam na junção neuromuscular). Nebulização e tapotagem podem auxiliar (DEWEY; COSTA, 2016).

- Reposição de fluidos e eletrólitos

Realizar fluidoterapia parenteral para pacientes com regurgitação frequente (DEWEY; COSTA, 2016).

- Nutrição

Fornecer alimentos e locais elevados para facilitar a chegada do alimento até o estômago, reduzindo a regurgitação. Para cães, existe uma cadeira que os posiciona de forma bipedal no momento da alimentação, chamada de “Bailey Chair”. Recomenda-se manter o animal em posição bipedal, por pelo menos 10-15 minutos, após a ingestão de alimentos. Deve-se oferecer alimentos semissólidos. Para os animais que continuarem apresentando regurgitação, a sondagem nasogástrica, esofágica ou a colocação de um gastrotubo, deve ser cogitada. O profissional deve sempre dar preferência à nutrição enteral, pois se assemelha mais à condição fisiológica normal, é mais segura e gera menos custos, porém, em casos onde isso não é possível, a nutrição parenteral deve ser realizada (DEWEY; COSTA, 2016).

- Suporte respiratório

Para pacientes com fraqueza grave que necessitem de auxílio respiratório, recomenda-se ventilação mecânica (DEWEY; COSTA, 2016).

- Manutenção do trato gastrintestinal

Aumentar a motilidade esofágica fazendo o uso de prócinéticos como metoclopramida. Aumentar o tônus do esfíncter esofágico caudal fazendo uso de metoclopramida somente em casos em que o paciente está sondado, evitando assim refluxo do conteúdo gástrico. Porém, para pacientes responsivos à alimentação bipedal, deve-se evitar o uso dessas drogas, devido ao aumento da resistência do esfíncter no momento da abertura para a passagem do alimento para a câmara gástrica. Prevenir ou aliviar a esofagite por meio do uso de um gastrotubo, associado com drogas procinéticas, como metoclopramida ou sucralfato (DEWEY; COSTA, 2016).

Além disso, o aumento do pH do conteúdo gástrico, auxilia na prevenção/controla da esofagite. Em geral, recomenda-se aumentar o pH do conteúdo gástrico, pois quanto mais ácido, maior a lesão do epitélio em casos de refluxo ou pneumonia aspirativa. Para isto, podem ser usadas drogas anti-histamínicas, como a famotidina, ou drogas inibidoras da bomba de prótons,

como o omeprazol e pantoprazol. Essa segunda classe de medicamento apresenta uma atividade antiácida mais eficaz (DEWEY; COSTA, 2016).

3.7 MÉTODO DE PREVENÇÃO E PROGNÓSTICO

Para doenças que podem ser transmitidas de forma hereditária, na medicina veterinária, uma maneira tradicional de se evitar que os genes se perpetuem, é remover da reprodução os animais portadores (CRUZ, 2011).

Em cães com miastenia gravis adquirida, em geral, o prognóstico é reservado, devido à essa espécie apresentar maior predisposição à ocorrência de megaesôfago e pneumonia aspirativa. Porém, para cães que não apresentam fraqueza de laringe e pneumonia aspirativa severa, o prognóstico é favorável. A remissão espontânea da miastenia gravis, pode ocorrer em alguns cães, principalmente jovens, mesmo que estes não tenham sido submetidos à terapia com imunossupressores. Essa remissão é associada com o reestabelecimento dos níveis séricos normais dos anticorpos contra os receptores de acetilcolina (DEWEY; COSTA, 2016). Cães da raça Dachshound miniatura com a síndrome congênita, pode ocorrer remissão espontânea com o avanço da idade (LORENZ; COATES; KENT, 2011).

Em gatos miastênicos com a forma adquirida, o prognóstico em geral, é mais positivo do que em cães. Isso ocorre devido à menor frequência de fatores agravantes, como megaesôfago e pneumonia aspirativa, em gatos do que em cães (DEWEY; COSTA, 2016). Além disso, em gatos, é observada uma melhor resposta à tratamentos com imunossupressores, do que com drogas anticolinesterásicas (LORENZ; COATES; KENT, 2011).

Em humanos com miastenia gravis adquirida que não apresentam complicações, o prognóstico pode ser considerado de favorável à excelente (DEWEY; COSTA, 2016).

4 REFERÊNCIAS

ABELSON, A. L. et al. Use of mycophenolate mofetil as a rescue agent in the treatment of severe generalized myasthenia gravis in three dogs. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, North Grafton, v. 19, n. 4, p. 369-374, 2009.

BLAKEY, T. J. et. al. Congenital myasthenic syndrome in a mixed breed dog. **Frontiers in Veterinary Science**, Lausanne Switzerland, v. 4, n. 173, p. 1-6, 2017.

BLEGGI-TORRES, L. F., NORONHA, L. A importância da biópsia muscular no diagnóstico de neuromiopatias. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, São Paulo, v. 53, n. 2, p. 370-375, 1994.

CRUZ, C. Mitos e realidades na criação (III): devemos afastar da reprodução os animais com genes indesejáveis? **Revista Cães & Companhia**, São Paulo, v. 39, p. 40-41, 2011.

DEWEY, C. W; COSTA, R. C. **Practical guide to canine and feline neurology**. 3th ed. New Jersey: John Wiley & Sons inc, 2016.

FOY, D. S.; TREPANIER, L. A.; SHELTON, G. D. Cholinergic crisis after neostigmine administration in a dog with acquired focal myasthenia gravis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, Wisconsin-Madison, v. 21, n. 5, p. 547-551, 2011.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**, 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

LORENZ, M. D.; COATES J. R.; KENT M. **Handbook of Veterinary Neurology**. 5th ed. Missouri (USA): Saunders, 2011.

LOSEN, M. et al. Standardization of the experimental autoimmune myasthenia gravis (EAMG) model by immunization of rats with Torpedo californica acetylcholine receptors: recommendation for methods and experimental designs. **Experimental Neurology Journal**, Amsterdam, v. 270, p. 18-28, 2015.

MACHADO L. H. A. et al. Megaesôfago secundário à miastenia gravis. **Revista Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 23, n. 3, p. 347-355, 2016.

MOTA, C. M. F. Q. **Unravelling the role of methylprednisolone on neuromuscular transmission in myasthenia gravis**. 2015. 40 f. Tese (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) – Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto, Porto, 2015.

NATIONAL INSTITUTE OF NEUROLOGICAL DISORDERS AND STROKE.

Myasthenia gravis fact sheet, 2017. Disponível em:

<<https://www.ninds.nih.gov/Disorders/Patient-Caregiver-Education/Fact-Sheets/Myasthenia-Gravis-Fact-Sheet>>. Acesso em: 21 out. 2017.

REED, U. C. Doenças neuromusculares. **Jornal de Pediatria**, Porto Alegre, v. 78, Supl. 1, p. 89-103, 2002.

REMONDEGUI, C. Tick paralysis cases in Argentina. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 45, n. 4, p. 533-534, 2012.

SANTOS, R. de L.; ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária**, 2. ed. São Paulo: Roca, 2010.

SHELTON, G. D.; SCHULE, A.; KASS, P. H. Risk factors for acquired myasthenia gravis in dogs: 1,154 cases (1991-1995). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, California, v. 211, n. 11, p. 1428-1431, 1997.

SHELTON, G.D.; HO, M.; KASS, P. H. Risk factors for acquired myasthenia gravis in cats: 105 cases (1986 – 1998). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, California, v. 216, n. 1, p. 55-57, 2000.

STUCCHI, C. et al. Evitando erros de diagnóstico em pacientes com paraperesia/plegia aguda com ênfase no botulismo. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 13, n. supl., p. 3-4, 2013.

THANVI, B. R.; LO, T. C. N. Review: update on myasthenia gravis. **Postgraduate Medical Journal**, Reino Unido, v. 80, n. 950, p. 690-700, 2004.

UNIVERSITY OF SAN DIEGO. **Myasthenia Gravis**, 2017. Disponível em: <<http://vetneuromuscular.ucsd.edu/myastheniagravis.html>>. Acesso em: 21 out. 2017.



Capítulo

3

Atualização sobre os sarcomas em sítio de injeção em gatos

Driéle Lutzke ¹

Caio Vaz Baqui Lima ²

Franciely Mota de Oliveira ³

Karina Preising Aptekmann ⁴

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

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

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: francielymota94@gmail.com

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

1 INTRODUÇÃO

Os sarcomas em sítio de injeção, também já conhecidos como sarcomas pós-vacinais (KISSEBERTH, 2012) ou sarcomas de aplicação, são neoplasias que tem seu desenvolvimento associado principalmente à administração por via subcutânea ou intramuscular, de vacinas e/ou medicamentos em gatos (DALECK et al., 2016). Essa aplicação, ao gerar inflamação crônica local (GRACE, 2011), em indivíduos predispostos (DE MAN; DUCATELLE, 2007), pode incitar a formação tumoral, a qual pode ocorrer em diferentes faixas etárias, mas principalmente observada em gatos mais jovens, e sua localização geralmente coincide com locais usualmente utilizados em administrações (DODDY et al., 1996).

Os sarcomas em sítio de injeção apresentam o comportamento biológico mais agressivo comparado aos sarcomas de tecidos moles, assim como crescimento mais rápido e localmente mais infiltrativo (DODDY et al., 1996; KISSEBERTH, 2012). Além disso, os sarcomas de tecidos moles geralmente são diagnosticados em cavidade oral, região de cabeça, extremidade distal de membros e dígitos de gatos idosos, e seu surgimento é espontâneo, ou seja, não há uma etiologia aparentemente identificável para o seu desenvolvimento (SKORUPSKI, 2016).

A vacinação de gatos é uma ferramenta profilática muito importante para o controle de doenças infecciosas inerentes a espécie, assim como para o controle de zoonoses como a raiva, e seus benefícios são evidentes. Porém, sua realização também pode gerar eventos indesejados, como os sarcomas em sítio de injeção, além de outras complicações que devem ser conhecidas e consideradas frente a seus benefícios (SCHERK et al., 2013)

Neste contexto, o estudo dos sarcomas em sítio de injeção, sua etiopatogênese, novas modalidades terapêuticas e possibilidades preventivas se fazem necessárias pela classe médica veterinária, visto que seu desenvolvimento pode ser uma complicação secundária a administrações subcutâneas e intramusculares, vias comuns de aplicação de vacinas e medicamentos na rotina clínica.

2 ASPECTOS HISTÓRICOS E EPIDEMIOLOGIA

Desde os anos 90, foi especulada uma associação entre a administração de alguns imunobiológicos nos gatos e o subsequente desenvolvimento de tumores, principalmente fibrossarcomas (HENDRICK; GOLDSCHMIDT, 1991).

Nos Estados Unidos, no ano de 1985, a vacina contra a raiva foi modificada devido a exigência da utilização de vírus inativados na sua fabricação, na qual era necessária a utilização de adjuvantes, principalmente de alumínio. Esta modificação permitiu que sua administração fosse por via subcutânea, o que tornaria o ato vacinal mais confortável e menos estressante para o animal, e o espaço interscapular se tornou um local típico para a injeção de vacina (GRACE, 2011).

No mesmo ano, uma vacina com vírus morto da leucemia felina (FeLV - *Feline Leukemia Virus*), associada a adjuvante, também foi aprovada e comercializada nos Estados Unidos, sendo amplamente adotada (GRACE, 2011).

No final da década de 1980, a Pensilvânia e diversos outros estados americanos tornaram a vacina contra a raiva em gatos uma conduta obrigatória. Esses eventos resultaram em um aumento significativo na administração de vacinas em gatos. Paralelamente, foi observado um aumento no número de neoplasias mesenquimatosas, em região interscapular, região de flanco e lateral do tórax, locais habitualmente utilizados para injeções (HENDRICK et al., 1992). Devido à localização e as mudanças nas práticas veterinárias da época, estes tumores foram associados à vacinação e relatados pela primeira vez por Hendrick & Goldschmidt, em 1991 (HENDRICK; GOLDSCHMIDT, 1991).

Outro fato observado foi o aumento na ocorrência dos sarcomas em gatos mais jovens, com idade em torno de 8 a 11 anos. Comparativamente, os sarcomas espontâneos acometem gatos mais idosos (DODDY et al., 1996), e se desenvolvem principalmente em cavidade oral, região de cabeça, extremidade distal de membros e dígitos (SKORUPSKI, 2016).

A verdadeira incidência dos sarcomas em sítio de injeção ainda é desconhecida e variável de acordo com a localidade estudada. A estimativa mais comum conhecida é de 1 caso para cada 1.000 a 10.000 vacinas administradas, o que é considerada uma prevalência muito baixa, frente a importância da vacinação desses animais (KISSEBERTH, 2012). No Reino Unido, um estudo desenvolvido em 2007, estimou uma incidência ainda menor para os sarcomas associados à vacina, sendo 1 caso para 5.000 a 12.500 doses de vacinas administradas (DEAN; PFEIFFER; ADAMS, 2013).

Um estudo retrospectivo conduzido na Polônia, englobando dados entre os anos de 1998 a 2014, revelou que mais de 13% de todas as amostras de tecido ressecadas de gatos e 45% das amostras de tumores cutâneos e subcutâneos felinos examinados histopatologicamente, foram reconhecidos como sarcomas em sítio de injeção. A prevalência foi de 16 casos em 10.000

gatos atendidos por clínico/cirurgião geral e 85 casos em 10.000 gatos atendidos por serviços especializados em oncologia veterinária (KLICZKOWSKA et al., 2015).

3 ETIOPATOGENESE

As possíveis causas e mecanismos envolvidos na indução da carcinogênese ainda permanecem desconhecidos, no entanto, especula-se que a resposta inflamatória local provocada por material estranho aplicado por via subcutânea ou intramuscular, pode levar a uma proliferação descontrolada de fibroblastos e miofibroblastos, produção de citocinas e consequente rearranjo desfavorável do tecido conjuntivo fibroso de reparação, que pode sofrer transformação maligna (GRACE, 2011; KISSEBERTH, 2012) em um subconjunto de gatos suscetíveis ou geneticamente predispostos (DE MAN; DUCATELLE, 2007).

Cabe ressaltar, que a inflamação já foi associada ao desenvolvimento de câncer em gatos, principalmente oriunda de trauma contínuo, como observado nos casos de sarcomas oculares, os quais geralmente estão associados a um histórico prévio de trauma ocular ou uveíte crônica (PEIFFER; MONTICELLO; BOULDIN, 1988).

Atualmente já se sabe que as vacinas não são os únicos agentes capazes de induzir a formação de sarcomas em sítio de injeção, visto que a implantação de microchips subcutâneos (CARMINATO et al., 2011; DALY et al., 2008) e fios de sutura (BURACCO et al., 2002), assim como outras substâncias/medicamentos também já foram identificados como agentes que colaboraram com o desenvolvimento deste tipo tumoral. Neste contexto, hoje a literatura científica adota dois termos para descrever esta associação. Um corresponde a uma terminologia mais geral, os sarcomas em sítio de injeção, e outro mais específico, os sarcomas associados à vacinação (GRACE, 2011).

Vacinas com e sem adjuvantes contra raiva, FeLV (KASS et al., 1993; SRIVASTAV et al., 2012), rinotraqueíte, calicivírus e panleucopenia (DE MAN; DUCATELLE, 2007), administração de antiinflamatórios esteroidais, principalmente aqueles com ação prolongada (SRIVASTAV et al., 2012), meloxicam (MUNDAY et al., 2011), cisplatina (MARTANO et al., 2012), lufenuron (ESPLIN et al. 1999) ou até mesmo a infusão subcutânea de solução fisiológica, tem sido relacionadas com o desenvolvimento de sarcomas em sítio de injeção (DALECK et al., 2016).

Outro fato que pode aumentar o risco de desenvolvimento destes sarcomas consiste em aplicações repetidas em um mesmo local anatômico, (GRACE, 2011), assim como a

administração de vacinas a temperaturas mais frias. Inversamente, o tipo de seringa utilizada e sua reutilização, massagem da área, bem como alguma marca específica ou tipo de antígeno, e o estado de portador do vírus da FeLV ou da imunodeficiência felina (FIV - *Feline Immunodeficiency Virus*) não demonstraram correlação (KASS et al., 2003).

Curiosamente, o uso regular de insulina subcutânea em gatos diabéticos, que por vezes é aplicada no mesmo local, sendo que algumas apresentam zinco em sua composição, não foi associado a um risco aumentado de formação de sarcomas (GRACE, 2011; KISSEBERTH, 2012), sugerindo que nem todos os produtos injetáveis estão associados com o mesmo risco (KISSEBERTH, 2012).

O tempo entre a vacinação e o desenvolvimento tumoral pode ser bem variável, entre 4 semanas até 10 anos, sendo que a maioria geralmente se desenvolve dentro de 3 anos (KISSEBERTH, 2012; SKORUPSKI, 2016).

4 ASPECTOS CLÍNICOS

Os sarcomas oriundos de aplicações ocorrem mais frequentemente no tecido subcutâneo (DALECK et al., 2016), uma vez que o uso desta via é comum na aplicação de vacinas ou medicamentos na espécie felina (DODDY et al., 1996), no entanto, o desenvolvimento deste tipo de sarcoma não se limita apenas a este tecido, sendo também relatado em tecido muscular após administração de vacinas (DUBIELZIG; HAWKINS; MILLER, 1993), e outras substâncias, como também já descrito em humanos (MAYRINK; MENDONÇA; COSTA, 2003).

Os sarcomas de tecidos moles, geralmente têm início na derme, e apesar de seu caráter maligno, comparando-os aos sarcomas em sítios de aplicação, estes apresentam um crescimento muito mais rápido e localmente mais infiltrativo, sendo biologicamente mais agressivos do que os sarcomas “não-vacinais” (DODDY et al., 1996).

Geralmente se desenvolvem em locais de aplicação como na região interescapular, porém outras áreas como flanco, região lombar, de glúteos e femoral também tem sido reportados como locais de desenvolvimento dos sarcomas em sítio de injeção (KASS et al., 2003). No entanto, devido às recomendações atuais de administração de vacinas, espera-se que ocorra uma alteração na distribuição anatômica destas neoplasias (KISSEBERTH, 2012).

Os sinais clínicos serão dependentes da localização e do tamanho da massa tumoral, sendo que nos quadros iniciais geralmente os gatos não apresentam sinais sistêmicos (DALECK et al., 2016; KISSEBERTH, 2012).

No local da aplicação pode-se observar inicialmente um aumento de volume, que evolui comumente para uma massa única, de consistência firme, indolor e circunscrita (GRACE, 2011; KISSEBERTH, 2012). O crescimento tumoral se dá de forma variável, mas geralmente é rápido. As massas podem apresentar ulcerações e focos de necrose, principalmente pelas grandes dimensões que estas massas tumorais podem alcançar, o que pode prejudicar a função de membros e causar dificuldade de locomoção (DALECK et al., 2016; DODDY et al., 1996; GRACE, 2011).

Clinicamente, Kliczkowska et al. (2015) relataram que os sarcomas em sítio de injeção apresentavam consistência firme e estavam fixos aos tecidos circunvizinhos (Figura 1), em mais de 80% dos casos avaliados, demonstrando seu caráter infiltrativo local. Presença de espaços císticos com líquido sero-mucoso dentro da massa foi identificado em 28,6% dos casos, e a presença de ulceração não foi observada em nenhum caso (KLICZKOWSKA et al., 2015).



Figura 1: Gato apresentando formação nodular em região interescapular, local comum de aplicação de vacinas e medicamentos. Este animal já foi submetido à remoção cirúrgica, com recidiva local em menos de 3 meses. Fonte: O autor. (2019).

Acreditava-se que os sarcomas em sítio de injeção eram apenas localmente invasivos e com baixo índice metastático (GRACE, 2011). Porém, evidências indicam que as metástases ocorrem de forma mais tardia, e principalmente secundário a sarcomas com altos graus histológicos (ROMANELLI et al., 2008), sendo os linfonodos regionais e pulmões os locais mais comumente acometidos (MORRISON, 2002). O mediastino, pericárdio, fígado, pelve, olhos (KISSEBERTH, 2012) e sistema nervoso central eventualmente também podem ser

afetados. Desta forma, além de apatia e inapetência, animais com metástase pulmonar podem apresentar dispneia e intolerância ao exercício, ou até mesmo sinais neurológicos, quando há infiltração pelo espaço intervertebral e compressão medular (DALECK et al., 2016).

Uma forma multicêntrica, com o surgimento de múltiplas massas cutâneas e subcutâneas em membros e tronco, altamente agressiva e metastática, já foi relatada em gatos com menos de 3 anos de idade, onde o surgimento do tumor é desencadeado pelo vírus do sarcoma felino (FeSV- *Feline Sarcoma Virus*) (GRACE, 2011), que consiste num híbrido verdadeiro, resultante da combinação entre o genoma do FeLV e proto-oncogenes celulares do gato, não estando associado ao ato vacinal (DALECK et al., 2016).

5 DIAGNÓSTICO

Deve-se suspeitar de sarcoma em sítio de injeção mediante qualquer aumento de volume em tecidos moles, localizados próximos a um local de administração de vacinas e/ou medicações (GRACE, 2011). Desta forma, o histórico, sinais clínicos e o exame físico do paciente são essenciais para o levantamento de um diagnóstico presuntivo (DALECK et al., 2016; KISSEBERTH, 2012), o qual deve ser sempre diferenciado de granuloma pós-vacinal, abscessos, cistos e paniculite, além de outros processos neoplásicos como linfomas, histiocitomas, mastocitomas, adenomas e adenocarcinomas sebáceos (DALECK et al., 2016).

A citologia é considerada um método pouco confiável para o diagnóstico de sarcomas, visto que estas neoplasias são pouco esfoliativas, e a grande quantidade de células inflamatórias interferem na identificação das células neoplásicas (DALECK et al., 2016). As características citológicas tipicamente encontradas em sarcomas em sítio de injeção incluem: necrose intralesional, presença de neutrófilos, células inflamatórias mononucleares e macrocariose e pleomorfismo marcante das células neoplásicas (KLICZKOWSKA et al., 2015).

O exame citológico pode ser empregado na exclusão de outros tipos neoplásicos e na identificação de metástases, principalmente em linfonodos (DALECK et al., 2016). Desta forma, em algumas situações, o resultado citológico associado aos dados clínicos, pode fornecer informações relevantes que podem permitir ao clínico a tomada de decisões mais radicais com relação ao tratamento do gato afetado (KLICZKOWSKA et al., 2015).

A histopatologia permite o diagnóstico definitivo dos sarcomas em sítio de injeção, que se caracterizam por sua origem mesenquimal, com vasto componente inflamatório, cerca de

51%, frente aos sarcomas de outras origens, que apresentam apenas 15% de células inflamatórias (DODDY et al., 1996). Kliczkowska et al. (2015) reconheceram a presença de material semelhante a adjuvante em macrófagos intratumorais e a presença de células gigantes em menos de 50% dos casos de seu estudo. Presença de cicatrização e inflamação perilesional, agregados de linfócitos na periferia tumoral, pleomorfismo celular moderado, e marcada necrose intralesional foram características significativamente identificadas em sarcomas em sítios de injeção.

Histologicamente, os fibrossarcomas são os tipos tumorais mais reconhecidos (CARNEIRO et al., 2018; KLICZKOWSKA et al., 2015). Osteossarcomas, rabdomiossarcomas, liomiossarcomas, condrossarcomas e lipossarcomas, também tem sido descritos (DALECK et al., 2016), assim como linfomas, os quais em sua forma cutânea, e em áreas comumente usadas para injeção, apresentam caráter mais agressivo e angioinvasivo que o linfoma cutâneo não relacionado ao sítio de injeção (ROCCABIANCA et al., 2016), característica também observada com relação aos sarcomas. Devido a presença de grandes áreas de necrose, pode ser necessário mais de um fragmento tumoral, e de diferentes áreas para um diagnóstico mais fidedigno (DODDY et al., 1996).

Além da confirmação histológica, são necessários exames complementares como hemograma, bioquímica sérica, urinálise e sorologia para FIV/FeLV para avaliar a condição geral do animal, caso este seja submetido a cirurgia, ou alguma outra terapia (GRACE, 2011; KISSEBERTH, 2012).

Ao mesmo tempo, exames de imagem são fundamentais para o estadiamento clínico do animal. Sendo assim, para a pesquisa de metástases pulmonares, a radiografia torácica em três incidências ainda é o exame mais utilizado, e para a pesquisa de metástases em abdômen, a ultrassonografia é o exame recomendado (DALECK et al., 2016). A tomografia computadorizada pode ser utilizada para um estadiamento clínico mais preciso (FORREST, 2016), mas a ausência de metástases visíveis não exclui o risco de disseminação tumoral microscópica (GRACE, 2011).

O conhecimento das medidas tumorais, assim como a invasividade local do tumor é fundamental para o planejamento cirúrgico. Neste contexto, a tomografia computadorizada e a ressonância magnética, auxiliam no dimensionamento tumoral e estimativa de margens laterais, e principalmente profundas, de forma mais sensível, que aquelas estimadas clinicamente, para a ressecção total do tumor (FERRARI et al., 2015), além disso, a tomografia computadorizada auxilia no planejamento e monitoração da resposta ao tratamento radioterápico (FORREST, 2016).

Marcações imunohistoquímicas dos sarcomas em sítio de injeção têm sido estudadas, pois podem ser uma importante ferramenta para a escolha da terapêutica mais adequada, assim como estabelecimento de prognóstico do paciente. A vimentina (100%), proteína S-100 (95,2%) e ciclo-oxigenase 2 (COX-2) (61,9%) foram as imunocolorações que demonstraram mais marcação no estudo de Carneiro et al. (2018).

6 TRATAMENTO

Um tratamento precoce e radical é necessário para um prognóstico favorável (KLICZKOWSKA et al., 2015). É no primeiro ato cirúrgico que deve-se buscar a excisão total tumoral, já que a recorrência local provavelmente ocorrerá e se tornará cada vez mais agressiva com tentativas subsequentes de remoção, culminando com a morte do animal (MÜLLER; KESSLER, 2018). Desta forma, a massa não deve ser excisada antes de um planejamento adequado, uma vez que a cirurgia agressiva é o tratamento de eleição, com a delimitação de margens de segurança de pelo menos 3 cm, sendo que margens de 5 cm melhoram os resultados (PHELPS et al., 2016).

Em massas de pequenas dimensões, margens livres de doença se tornam mais fáceis de serem obtidas, porém em tumores de maiores proporções, essa margem em todos os quadrantes se torna mais difícil de ser obtida, sendo em muitos casos necessário a remoção de grupos musculares, de processos dorsais das vértebras adjacentes, ou até mesmo a amputação de membros ou cauda, nos casos de acometimento de alguma destas estruturas (DALECK et al., 2016; GRACE, 2011).

A taxa de recidiva local é variável, e influenciada principalmente pela presença de células tumorais no leito cirúrgico, podendo ser de 30,5% em casos com margens livres de doença microscópica, e de 76,2% naqueles com células tumorais (MÜLLER; KESSLER, 2018). Phelps et al. (2016), obtiveram recidivas locais em 14% dos gatos operados com margem cirúrgica de 5cm.

Recomenda-se uma abordagem tripla na maioria dos casos, isto é, associação de cirurgia, radioterapia e quimioterapia como forma de oferecer um maior tempo de sobrevida, no entanto, as taxas de cura ainda são baixas. Os sarcomas espontâneos geralmente têm um melhor prognóstico (GRACE, 2011) e são menos propensos a recorrência local do que os sarcomas em sítio de injeção (KISSEBERTH, 2012).

Se a terapia de radiação for considerada, esta pode ser utilizada antes ou após o procedimento cirúrgico (KISSEBERTH, 2012), ou quando a cirurgia é contraindicada, podendo ser também associada a quimioterapia. A radioterapia em doses altas proporciona benefícios clínicos quanto ao intervalo livre de doença para aqueles gatos que foram submetidos a apenas uma intervenção cirúrgica. Este mesmo benefício não foi observado em gatos submetidos a múltiplas cirurgias para a remoção de sarcomas em sítio de injeção (ROSSI et al., 2019).

A braquiterapia com irídio-192 foi muito bem tolerada pelos gatos, e a taxa de recidiva local e tempo de sobrevida foi comparável a outras formas de radioterapia adjuvante, tendo como principal efeito colateral, deiscência de sutura e alterações cutâneas, como alopecia e hiperpigmentação (BLOCH et al., 2019). O uso de nanopartículas de ouro em cultivos celulares aumentou a eficácia da terapia de radiação, porém seu mecanismo de ação e toxicidade para o paciente precisa ser melhor estudado (BENTON et al., 2018).

A associação da imunoterapia a cirurgia e radioterapia, aparenta caráter promissor no tratamento dos sarcomas em sítio de injeção, reduzindo o risco de recidiva, e quando esta ocorre, demora mais a acontecer (JAS et al., 2015).

Protocolos quimioterápicos como terapêutica isolada só são recomendados para tumores não ressecáveis e/ou com metástases, com o intuito paliativo, do contrário eles não devem ser considerados como terapia definitiva. Seu uso pré-operatório pode reduzir o tamanho tumoral, e com isso facilitar a ressecção cirúrgica (GRACE, 2011). Também tem sido empregado como forma de sensibilização previamente à terapia de radiação (KISSEBERTH, 2012) ou prevenção de metástases (SKORUPSKI, 2016).

Em estudo conduzido por Martano et al. (2005), o uso da doxorubicina pós-cirúrgica, não interferiu no tempo livre de doença, nem na sobrevida global, quando comparado ao grupo tratado apenas com cirurgia. Sua forma lipossomal não produziu uma melhor taxa de resposta, comparada a doxorubicina tradicional (POIRIER et al., 2002).

Recentemente, duas novas linhagens de células do sarcoma felino em sítio de injeção, B4 e C10, foram desenvolvidas e a expectativa é que elas auxiliem bastante nas pesquisas sobre a quimiorresistência. Em laboratório, o uso da doxorubicina de forma isolada não apresentou resultados clínicos relevantes na inibição dessas células. Porém, a associação de salinomicina a essas novas linhagens, apresentou propriedades potencializadoras e/ou sinérgicas com a doxorubicina. Apesar dos resultados serem promissores, estudos que avaliem o mecanismo de ação, toxicidade e dose tolerável da salinomicina em gatos, ainda são necessários (BORLLE et al., 2019).

A epirrubicina teve seus benefícios estudados como terapia quimioterápica neoadjuvante para consolidação da pseudocápsula tumoral antes da intervenção cirúrgica, e posteriormente a cirurgia, como adjuvante. Os resultados obtidos em gatos com sarcomas em sítio de injeção com relação a tempo de sobrevida e intervalo livre de doença foram superiores a estudos anteriores (BRAY; POLTON, 2014).

Inibidores de tirosina-quinase têm sido estudados quanto ao seu emprego no tratamento de gatos com sarcomas em sítio de injeção. O imatinib (KATAYAMA et al., 2004) e o masitinib (FELDHAEUSSER et al., 2013; LAWRENCE et al., 2011) foram estudados *in vitro*, e demonstraram potenciais efeitos, mas ainda não comprovados *in vivo*. O masitinib também teve sua capacidade de radiosensibilidade avaliada em cultivos celulares, característica essa não comprovada (TUREK et al., 2014).

O toceranib, outro inibidor de tirosina-quinase, foi estudado no tratamento de gatos com sarcomas em sítio de injeção irressecáveis, porém sem eficácia clínica (HOLTERMANN; KIUPEL; HIRSCHBERGER, 2016). Essa resposta obtida pode ser devido a baixa positividade para o marcador c-KIT encontrada no estudo de Carneiro et al. (2018).

Sabe-se atualmente que existe uma relação direta entre a intensidade do processo inflamatório local e o grau de expressão de COX-2 pelas células tumorais. A associação de anti-inflamatórios que inibem a COX-2 pode ser benéfica no tratamento de tumores em sítios de injeção de gatos. Porém, seu uso deve ser restrito a tumores com baixo grau de anaplasia, uma vez que os de altos graus expressam uma menor quantidade de COX-2 (SANTELICES IGLESIAS et al. 2018).

A eletroquimioterapia já teve seu benefício demonstrado no tratamento de sarcomas de tecidos moles recidivantes, proporcionando um maior tempo de sobrevivência (MIR et al., 1997), porém seu efeito aparentemente é melhor em gatos que não receberam tratamentos anteriores, e que apresentam tumores menores (SPUGNINI et al., 2007). Seus benefícios frente aos sarcomas em sítio de injeção ainda precisam ser mais estudados (SKORUPSKI, 2016).

Martano et al. (2019) utilizaram o sarcoma em sítio de injeção felino como modelo de estudo da cirurgia fotodinâmica associada a terapia com laranja de acridina, e observaram um melhor controle local do tumor, sendo uma opção terapêutica promissora para o tratamento dos sarcomas em gatos e em humanos.

7 PREVENÇÃO

Devido o caráter maligno e invasivo dos sarcomas em sítio de injeção em gatos, e principalmente aos tratamentos com baixo índice de resposta e grande chance de recidiva, é de extrema importância o desenvolvimento de medidas que se concentrem na prevenção destes tipos tumorais (SKORUPSKI, 2016).

Uma vez que a administração de vacinas e medicamentos por via subcutânea e intramuscular é apontada como a principal causa dos sarcomas em sítio de injeção, a não realização destas práticas seria a maneira mais eficaz de prevenção (DALECK et al., 2016), no entanto, nem sempre é possível evitar o desenvolvimento dos sarcomas em sítio de injeção (KLICZKOWSKA et al., 2015), já que a vacinação ainda é uma ferramenta profilática muito importante para o controle de doenças infecciosas, tanto para os gatos como indivíduos, quanto para suas populações (SCHERK et al., 2013).

A diminuição da ocorrência de doenças graves causadas por organismos altamente patogênicos, como o parvovírus felino, foi observada nas populações em que a vacinação generalizada foi praticada. Além disso, alguns antígenos vacinais de gatos são utilizados para diminuir a ocorrência de algumas zoonoses, por exemplo, a raiva (SCHERK et al., 2013).

Desta forma, os clínicos devem respeitar recomendações internacionais para locais de injeções preferíveis em gatos (Figura II) (KLICZKOWSKA et al., 2015), onde vacinas com o vírus rábico devem ser administradas o mais distal possível do membro pélvico direito, e aquelas com o vírus da FeLV devem ser administradas na porção distal do membro pélvico esquerdo. Demais vacinas que não contenham estes antígenos devem ser administradas no membro torácico direito (SCHERK et al., 2013).



Figura 2: Desenho esquemático representando algumas das regiões atualmente recomendadas para a vacinação em gatos (em verde). As áreas demarcadas de vermelho devem ter seu uso evitado para a aplicação de vacinas. Fonte: SCHERCK et al. (2013).

Cada paciente deve ser observado individualmente, com base nas informações do animal, do ambiente, da densidade populacional e aos agentes infecciosos que o mesmo possa estar exposto, de forma com que se trace o esquema vacinal ideal para cada indivíduo (SCHERK et al., 2013). Ao mesmo tempo, o médico veterinário deve anotar o local e a data de qualquer administração, e buscar variar o local de aplicação (DALECK et al. 2016). Os tutores devem ser esclarecidos com relação aos riscos das doenças preveníveis por vacinação, a obrigatoriedade da vacinação de alguns tipos de antígenos, e também à possibilidade do desenvolvimento do sarcoma em sítio de injeção (KISSEBERTH, 2012).

Além disso, aplicações subcutâneas ou intramusculares de medicamentos devem ser avaliadas quanto a sua verdadeira necessidade e benefício ao animal, frente o risco de desenvolvimento do sarcoma em sítio de injeção, devendo sempre que possível o uso da via oral (DALECK et al. 2016).

O exame eventual dos locais de aplicação deve ser ensinado e estimulado, de forma com que se diagnostique precocemente qualquer alteração de volume que persista por mais de 3 meses; se houver o crescimento de uma massa maior que 2 cm no local, independente do tempo de injeção; ou se a massa formada tem tido aumento menos após 1 mês após a aplicação (SCHERK et al., 2013), visto que uma grande parte dos sarcomas em sítio de injeção ainda são diagnosticados em estágios avançados, o que pode influenciar nas possibilidades terapêuticas e prognóstico do animal (KLICZKOWSKA et al., 2015).

8 REFERÊNCIAS

BENTON, J. Z. et al. Gold nanoparticles enhance radiation sensitization and suppress colony formation in a feline injection site sarcoma cell line, in vitro. **Research in Veterinary Science**, v. 117, p. 104-110, 2018.

BLOCH, J. et al. Treatment of feline injection-site sarcoma with surgery and iridium-192 brachytherapy: retrospective evaluation of 22 cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, p. 1-9, 2019.

BORLLE, L. et al. Salinomycin decreases feline sarcoma and carcinoma cell viability when combined with doxorubicin. **BMC Veterinary Research**, v. 15, n. 36, p. 1-12, 2019.

BRAY, J.; POLTON, G. Neoadjuvant and adjuvant chemotherapy combined with anatomical resection of feline injection-site sarcoma: results in 21 cats. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 14, n. 2, p. 147-160, 2014.

- BURACCO, P. et al. Vaccine-associated-like Fibrosarcoma at the Site of a Deep Nonabsorbable Suture in a Cat. **The Veterinary Journal**, v. 163, p. 105-107, 2002.
- CARMINATO, A. et al. Microchip-associated fibrosarcoma in a cat. **Veterinary Dermatology**, v. 22, n. 6, p. 565-569, 2011.
- CARNEIRO, C. S. et al. Feline injection site sarcoma: immunohistochemical characteristics. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 21, n. 4, p. 1-8, 2018.
- DALECK, C. R. et al. Sarcomas de Aplicação. In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B. **Oncologia em cães e gatos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016.
- DALY, M. K. et al. Fibrosarcoma adjacent to the site of microchip implantation in a cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 10, n. 2, p. 202-205, 2008.
- DEAN, R. S.; PFEIFFER, D. U.; ADAMS, V. J. The incidence of feline injection site sarcomas in the United Kingdom. **BMC Veterinary Research**, London, v. 9, p. 1-6, 2013.
- DE MAN, M. M.; DUCATELLE, R. V. Bilateral subcutaneous fibrosarcomas in a cat following feline parvo-, herpes- and calicivirus vaccination. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 9, n. 5, p. 432-434, 2007.
- DODDY, F. D. et al. Feline Fibrosarcomas at Vaccination Sites and Non-vaccination Sites. **Journal of Comparative Pathology**, v. 114, p. 165-174, 1996.
- DUBIELZIG, R. R.; HAWKINS, K. L.; MILLER, P. E. Myofibroblastic sarcoma originating at the site of rabies vaccination in a cat. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 5, p. 637-638, 1993.
- ESPLIN, D. G. et al. Fibrosarcoma at the site of a Lufenuron injection in a cat. **Veterinary Cancer Society**, v. 23, p. 8-9, 1999.
- FELDHAEUSSER, B. R. et al. Influence of different cell storage/culture conditions on spontaneous proliferation and level of tyrosine kinase receptor inhibition in two feline injection-site sarcoma cell lines. **Journal of Immunoassay and Immunochemistry**, v. 34, n. 3, p. 266-282, 2013.
- FERRARI, R. et al. Clinical and computed tomography tumour dimension assessments for planning wide excision of injection site sarcomas in cats: how strong is the agreement? **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 15, n. 2, p. 374-382, 2015.
- FORREST, L. J. Computed Tomography Imaging in Oncology. **Veterinary Clinics of North America**, v. 46, n. 3, p. 499-513, 2016.
- GRACE, S. F. Sarcomas, Injection Site. In: NORSWORTHY, G. D.; GRACE, S. F.; CRYSTAL, M. A.; TILLEY, L. P. **The Feline Patient**. 4.ed. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2011.

HENDRICK, M. J.; GOLDSCHMIDT, M. H. Do injection site reactions induce fibrosarcomas in cats? **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 199, p. 968, 1991.

HENDRICK, M. J. et al. Post vaccinal sarcomas in the cat: epidemiology and electron probe microanalytical identification of aluminum. **Cancer Research**, v. 52, n. 19, p. 5391-5394, 1992.

HOLTERMANN, N.; KIUPEL, M.; HIRSCHBERGER, J. The tyrosine kinase inhibitor toceranib in feline injection site sarcoma: efficacy and side effects. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 15, n. 2, p. 632-640, 2016.

JAS, D. et al. Adjuvant immunotherapy of feline injection-site sarcomas with the recombinant canarypox virus expressing feline interleukine-2 evaluated in a controlled monocentric clinical trial when used in association with surgery and brachytherapy. **Trials in Vaccinology**, v. 4, p. 1-8, 2015.

KASS, P. H. et al. Multicenter case-control study of risk factors associated with development of vaccine-associated sarcomas in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 223, p. 1283-1292, 2003.

KATAYAMA, R. et al. Imatinib mesylate inhibits platelet-derived growth factor activity and increases chemosensitivity in feline vaccine-associated sarcoma. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 54, n. 1, p. 25-33, 2004.

KISSEBERTH, W. C. Injection site-sarcoma. In: LITTLE, S. E. **The cat – Clinical Medicine and Management**. 1.ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2012.

KLICZKOWSKA, K. et al. Epidemiological and morphological analysis of feline injection site sarcomas. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, Olsztyn, v. 18, n. 2, p. 313-322, 2015.

LAWRENCE, J. et al. Masitinib demonstrates anti-proliferative and pro-apoptotic activity in primary and metastatic feline injection-site sarcoma cells. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 10, n. 2, p. 143-154, 2011

MARTANO, M. et al. Photodynamic Surgery for Feline Injection-Site Sarcoma. **BioMed Research International**, v. 2019, p. 1-9, 2019.

MARTANO, M. et al. A case of feline injection-site sarcoma at the site of cisplatin injections. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 14, n. 10, p. 751-754, 2012.

MARTANO, M. et al. Surgery alone versus surgery and doxorubicin for the treatment of feline injection-site sarcomas: a report on 69 cases. **The Veterinary Journal**, v. 170, n. 1, p. 84-90, 2005.

MAYRINK, M.; MENDONÇA, A. C.; COSTA, P.R. da. Soft-tissue sarcoma arising from a tissue necrosis caused by an intramuscular injection of diclofenac. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 112, p. 1970-1971, 2003.

- MIR, L. M. et al. First clinical trial of cat soft-tissue sarcomas treatment by electrochemotherapy. **British Journal of Cancer**, v. 76, n. 12, p. 1617-1622, 1997.
- MORRISON, W. B. **Cancer in dogs and cats: Medical and Surgical Management**. 2. ed. Indiana: Teton New Media, 2002.
- MÜLLER, N.; KESSLER, M. Curative-intent radical en bloc resection using a minimum of a 3cm margin in feline injection-site sarcomas: a retrospective analysis of 131 cases. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 20, n. 6, p. 509-519, 2018.
- MUNDAY, J. S. et al. Development of an Injection Site Sarcoma Shortly after Meloxicam Injection in an Unvaccinated Cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 13, n. 12, p. 988-991, 2011.
- PEIFFER, R. L.; MONTICELLO, T.; BOULDIN, T. W. Primary ocular sarcomas in the cat. **Journal of Small Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 105-116, 1988.
- PHELPS, H. A. Radical excision with five-centimeter margins for treatment of feline injection-site sarcomas: 91 cases (1998–2002). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 239, n. 1, p. 97-106, 2011.
- POIRIER, V. J. et al. Liposome-Encapsulated Doxorubicin (Doxil) and Doxorubicin in the Treatment of Vaccine-Associated Sarcoma in Cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, n. 6, p. 726-731, 2002.
- ROCCABIANCA, P. et al. Cutaneous Lymphoma at Injection Sites: Pathological, Immunophenotypical, and Molecular Characterization in 17 Cats. **Veterinary Pathology**, v. 53, n. 4, p. 823-832.
- ROMANELLI, G. et al. Analysis of prognostic factors associated with injection-site sarcomas in cats: 57 cases (2001–2007). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 232, n. 8, p. 1193-1199, 2008.
- ROSSI, F. et al. Comparison of definitive-intent finely fractionated and palliative-intent coarsely fractionated radiotherapy as adjuvant treatment of feline microscopic injection-site sarcoma. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 21, n. 2, p. 65-72, 2019.
- SANTELICES IGLESIAS, O. A. et al. Association between Degree of Anaplasia and Degree of Inflammation with the Expression of COX-2 in Feline Injection Site Sarcomas. **Journal of Comparative Pathology**, v. 165, p. 45-51, 2018.
- SCHERK, M. A. et al. 2013 AAEP Feline Vaccination Advisory Panel Report. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 15, p. 785-808, 2013.
- SKORUPSKI, K. A. Feline Soft Tissue Sarcomas. In: LITTLE, S. E. **August's Consultations in Feline Internal Medicine**. 1. ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2016.
- SPUGNINI, E. P. et al. Intraoperative versus postoperative electrochemotherapy in high grade soft tissue sarcomas: a preliminary study in a spontaneous feline model. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 59, p. 375-381, 2007.

SRIVASTAV, A. et al. Comparative vaccine-specific and other injectable-specific risks of injection-site sarcomas in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 241, n. 5, p. 595-602, 2012.

TUREK, M. et al. Masitinib mesylate does not enhance sensitivity to radiation in three feline injection-site sarcoma cell lines under normal growth conditions. **Research in Veterinary Science**, v. 96, n. 2, p. 304-307, 2014.



Capítulo

4

Tripanossomatídeos de potencial zoonótico que acometem cães domésticos na América Latina

Beatriz Gistri Pontes¹
Letícia Azeredo de Freitas²
Lígia Isabelle Silva Souza³
Yuri Vieira Almeida⁴
Marcos Santos Zanini⁵
Fabiane Matos dos Santos⁶

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

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

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

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: yurialmeida03@gmail.com

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: marcos.zanini@ufes.br

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: fabiane.santos@ufes.br

1 INTRODUÇÃO

Populações latino-americanas encontram-se constantemente expostas ao risco do acometimento por doenças infecciosas consideradas negligenciadas pela Organização Mundial da Saúde, tais como a doença de Chagas (DC) ou Tripanosomíase Americana e as Leishmanioses – Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) e Leishmaniose Visceral (LV). Os agentes etiológicos da DC, LTA e LV são tripanossomatídeos do gênero *Trypanosoma* (*Trypanosma cruzi*) e *Leishmania* (*Leishmania sp.*) que podem infectar animais domésticos, animais silvestres e seres humanos, desencadeando desde infecções assintomáticas a sinais clínicos altamente nocivos ao organismo, podendo acarretar até mesmo o óbito principalmente em crianças (DARIO et al., 2016; GÜRTLER; CARDINAL, 2015; LEATTE et al., 2014; MENDES et al., 2016). Cerca de 90% dos casos de leishmaniose mucocutânea no continente americano ocorrem no Brasil, Bolívia e Peru (WHO, 2019). No ano de 2017, um total de 17.526 casos de leishmaniose mucocutânea e um aumento de 26,4% de LV (914 casos) foi verificado apenas no Brasil (PAHO, 2019). Por sua vez, a DC acomete aproximadamente oito milhões de indivíduos e aproximadamente 25 milhões de pessoas estão sob o risco de infecção principalmente no continente americano, mas não mais restrito ao mesmo (WHO, 2019).

A permanência dessas enfermidades no ciclo primitivo natural dos tripanossomatídeos é associada à presença de hospedeiros intermediários considerados vetores dos parasitos a outros animais em seu habitat natural. Triatomíneos e flebotomíneos são os hospedeiros intermediários da DC, LTA e LV, respectivamente, e a partir do repasto sanguíneo com contato de material contaminado conseguem atingir os hospedeiros vertebrados, incluindo seres humanos, e assim perpetuar a doença (BARATA et al., 2005; FIOCRUZ, 2015; LEATTE et al., 2014; MISSAWA; LOROSA; DIAS, 2008; ROLÓN et al., 2011).

Pontos críticos de prevenção e controle vêm sendo estudados na tentativa de promover a interrupção destas infecções. Os cães, por exemplo, são animais que ao adquirirem a infecção se transformam em reservatórios dos parasitos e animais sentinelas, pois cursam as doenças de mesmo modo ao organismo humano, podendo muitas vezes ser perceptível a sintomatologia (GÜRTLER; CARDINAL, 2015; JAIMES-DUEÑEZ et al., 2017; MASCOLLI et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2017; SOUZA et al., 2008; SOUZA et al., 2009). Numerosos estudos verificaram que os cães são excelentes modelos experimentais para elucidação da interação protozoário com metabolismo, além de buscas terapêuticas e profiláticas (ANDRADE et al.,

2016; BASSO et al., 2007; BASSO et al., 2016; CALDAS et al., 2019; GUEDES et al., 2002; MAHMOUDVAND et al., 2015; SANTOS et al., 2012; SANTOS et al., 2016a).

Adicionalmente por participarem da mesma família evolutiva, os tripanossomatídeos causadores da DC e Leishmanioses compartilham muitas características morfológicas e estruturais, possibilitando o surgimento de reações cruzadas em determinados métodos diagnósticos, de modo a necessitarem de maior atenção dos profissionais na divulgação dos resultados e investimentos em pesquisas de testes metodológicos com maior especificidade (DARIO et al., 2017; LUCIANO et al., 2009; MATOS et al., 2015; SOUZA et al., 2009).

2 MECANISMO INFECCIOSO NAS LEISHMANIOSES E DOENÇA DE CHAGAS

2.1 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E CICLO BIOLÓGICO

As leishmanioses e doença de Chagas apresentam muitas similaridades em suas formas de transmissão, possuindo a capacidade de infectar os indivíduos pelo contato com sangue contaminado via transfusão sanguínea, transplantes de órgãos, comunicação transplacentária, sexual, água e alimentos contaminados, ingestão oral (acidental) dos vetores e o próprio repasto sanguíneo vetorial, diferenciando contudo o tipo de vetor e fluido de deposição das formas infectantes - os flebotomíneos para LTA e LV, e triatomíneos para DC, com presença nesse último de formas tripomastigotas metacíclicas em suas fezes (ARAÚJO et al., 2017; DARIO et al., 2016; FILHO et al., 2005; LABELLO-BARBOSA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2015; RODRÍGUEZ-MORALES et al., 2011; SANTOS et al., 2018, VARGAS et al., 2018).

Os flebotomíneos vetores das leishmanioses abrangem cerca de 986 espécies (YOUNG; DUNCAN, 1994) descritas em todo mundo, sendo que a América Latina abriga muitas dessas espécies, tanto do gênero *Lutzomyia* quanto *Brumptomyia*. *Lutzomyia longipalpis* é a principal espécie transmissora de *Leishmania infantum chagasi*, agente etiológico da leishmaniose visceral, que também pode ser transmitida por *Lutzomyia cruzi* e *Lutzomyia migonei* em algumas regiões e estados brasileiros. A leishmaniose tegumentar pode ser transmitida por diversas espécies, dentre elas as principais são *L. braziliensis* para forma mucosa; *L. braziliensis*, *L. amazonensis* e *L. guyanensis* para forma cutânea e a *L. amazonensis* para a forma cutâneadifusa. No ciclo biológico dos parasitos do gênero *Leishmania*, os flebotomíneos são vetores associados à infecção de mamíferos, incluindo pessoas, animais domésticos,

principalmente cães, e animais silvestres (GALATI, 2003; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017; MISSAWA; LOROSA; DIAS, 2008; READY, 2013).

Os triatomíneos são os vetores do *T. cruzi* e podem ser reconhecidos por diversos nomes de origem popular nas diferentes regiões em que são encontrados no continente americano, como chupões, procofós e vum-vum (Região Nordeste, Brasil), chupança (Região Centro-Oeste, Brasil), vinchucas (países andinos), chinha voladora (México) e “kissing bugs” (Estados Unidos). Desde o relato da primeira espécie de triatomíneo já foram contabilizados no continente americano cerca de 14 gêneros, destacando principalmente os gêneros *Triatoma*, *Panstrongylus* e *Rhodnius* em uma abrangência de 135 espécies (ARGOLO et al., 2008; CECCARELLI et al., 2018; FIOCRUZ, 2015; GALVÃO et al., 2003; LENT; WYGODZINSKY, 1979; SANTOS et al., 2004).

Os tripanossomatídeos compartilham características estruturais semelhantes quanto às formas evolutivas. As formas amastigotas possuem forma ovalada, cinetoplasto visível e flagelo indistinguível, podendo ser localizadas nos hospedeiros vertebrados dentro de células fagocíticas (*Leishmanias*) e formando nichos principalmente na musculatura cardíaca, esfofágica e colônica (*T. cruzi*) através da multiplicação por fissão binária. As formas promastigota metacíclica e tripomastigota metacíclica são as formas alongadas flageladas infectantes das Leishmanioses e DC respectivamente, apresentam cinetoplasto posicionado posteriormente ao núcleo, locomovem-se no sangue e adentram os tecidos (JUNQUEIRA; GONÇALVES; MOREIRA, 2011; ROSSI; FASEL, 2017; SEHGAL et al., 2012; SRIVASTAVA et al., 2016). Os flebotomíneos também podem ser infectados pela forma promastigota das Leishmanioses e os triatomíneos podem se infectar quando em contato no repasto sanguíneo com a forma tripomastigota do *T. cruzi* (JUNQUEIRA; GONÇALVES; MOREIRA, 2011; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Um dos pontos que diferenciam as formas clínicas das leishmanioses é o ciclo biológico do parasito, sendo que na forma visceral a *L. chagasi* adentra a corrente sanguínea e direciona-se principalmente ao baço, fígado e medula óssea, podendo causar lesão apenas se a resposta imune mediada por linfócitos T-CD4 não for eficiente. Na forma tegumentar, as espécies etiológicas do gênero *Leishmania* ficam restritas ao tecido epitelial do hospedeiro vertebrado, multiplicando-se e causando lesões que variam de acordo com a forma, quantidade e o estado imune do indivíduo (SEHGAL et al., 2012; SILVEIRA et al., 2008; SRIVASTAVA et al., 2016).

2.2 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Na tentativa de controlar a invasão protozoária, o organismo do hospedeiro vertebrado dispõe de respostas imunológicas que englobam perfis típicos na imunidade inata e na resposta imune adaptativa, que podem ser associadas ao desenvolvimento sintomatológico agudo e crônico ou assintomático dessas enfermidades. As diferenças entre as espécies, cepas infectantes e ambiente influenciam na resposta imune e sinais clínicos (CALDAS et al., 2017; CURTIS-ROBLES et al., 2017; RIBEIRO-GOMES et al., 2014; SCOTT; NOVAIS, 2016).

O curso clínico da LV pode apresentar fase subclínica ou graves sinais clínicos nos hospedeiros vertebrados, sendo perceptível em seres humanos um período de incubação de 10 dias a 24 meses. Por sua vez em cães a fase subclínica é bem variável, persistindo de meses a anos. Na fase clínica é notado emagrecimento, apetite normal ou aumentado, poliúria, polidipsia, depressão, tosse, petéquias, equimoses, epistaxe, espirros, rinite, sons pulmonares aumentados, icterícia, articulações inchadas e doloridas, linfadenopatia, hepatomegalia, esplenomegalia, uveíte, conjuntivite, dermatite, alopecia facial, onicogrifose, imunossupressão, febre e infecção gastrointestinal, refletida em vômito, diarreia, melena e abdome distendido. Ainda são comumente relatados prostatite, infertilidade e comprometimento renal pela formação de imunocomplexos (BAGUES et al., 2018; CRUZ et al., 2010; LIMA et al., 2004; NELSON; COUTO, 2015; SILVA, 2007).

Na LTA, as formas cutânea, cutâneadifusa ou disseminada apresentam um período de incubação que varia de duas semanas a dois meses, sendo as lesões caracterizadas por úlceras de bordas salientes na pele que são precedidas por uma mácula com duração de um a dois dias após a picada infectante e posteriormente se transforma em pápula, aumentando progressivamente até formar totalmente a úlcera. Verifica-se também a presença de linfadenomegalia antes, durante e após o surgimento da lesão, que ainda pode ser acompanhada de hiperqueratose, descamação, espessamento dérmico e nódulos intradérmicos principalmente nas orelhas (pina), patas (coxins), cadeias mamárias, focinho, bolsa escrotal e mucosas. Alterações hematológicas como anemia e trombocitopenia, além de perda de peso podem ser presentes. A forma mucosa, primária ou tardia com ou sem lesão cutânea prévia, é relatada por lesões destrutivas das mucosas das vias aéreas superiores com evolução crônica, havendo em alguns casos comprometimento das demais mucosas, regiões de transição e orifícios naturais com a presença de sinais como dispneia, tosse, disfagia e dor durante a deglutição. É relevante ressaltar o reflexo negativo ao sistema imune e a instalação de infecções bacterianas, fúngicas e virais como a coinfeção com vírus da imunodeficiência humana (HIV)

(FIGUEREDO et al., 2012; GONTIJO; CARVALHO, 2003; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017; NELSON; COUTO, 2015).

Na DC, os seres humanos apresentam a evolução crônica da enfermidade através das formas clínicas cardíaca, digestiva, mista e indeterminada (indivíduos assintomáticos). Durante o estágio crônico ocorre uma extensa associação entre o hospedeiro e o parasito, proporcionando danos ao organismo, principalmente a inflamação e fibrose na musculatura cardíaca, dilatação do esôfago ou cólon e anormalidades no sistema nervoso central (MONCAYO, 1999; TAFURI, 1987). Similarmente os cães demonstram interações com os parasitos marcadas pelo desenvolvimento de alterações patológicas de forma semelhante às descritas na DC humana. A DC canina apresenta sintomatologia variável em função do estágio da doença e tem como consequência principalmente a nocividade aos cardiomiócitos, desencadeando a cardiopatia chagásica na fase crônica da infecção (BARR et al., 1995; BRADLEY et al., 2000; CALDAS et al., 2017; CALDAS et al., 2019; NELSON; COUTO, 2015; SANTOS et al., 2012; SANTOS et al., 2016a; SAUNDERS et al., 2013; TILLEY; SMITH, 2003). Na fase aguda, podem ser verificados a ausência ou presença de sinais clínicos como taquicardia com ou sem arritmias, linfadenopatia pontual ou generalizada, sinais neurológicos como fraqueza, ataxia, convulsões, movimentos involuntários e irregulares acompanhados de irritabilidade e depressão. A ocorrência de mudanças no comportamento animal como a letargia, depressão, anorexia, diarreia, intolerância a exercícios e sinais neurológicos de intensidade leve à grave é comumente relatada. Quando a progressão da enfermidade está na fase crônica, a taquicardia prolongada ou paroxística, associada ao histórico de fraqueza, intolerância a atividades físicas e síncope podem ser detectadas (NELSON; COUTO, 2015; TILLEY; SMITH, 2003).

3 CÃES

3.1 INFECÇÃO NATURAL: RESERVATÓRIOS E SENTINELAS

Os cães estão propensos às infecções naturais de acordo com o meio onde habitam, comportamento alimentar como a ingestão de insetos e animais silvestres, exercício de atividades de suporte aos serviços militares e policiais e de caça e também com o estilo de vida dos proprietários. Os locais de maior risco são tanto a zona rural quanto a zona urbana, com

ênfase principalmente nas regiões próximas às matas como os parques e reservas naturais (CARDINAL et al., 2018; CRUZ et al., 2010; GÜRTLER; CARDINAL, 2015; PORFIRIO et al., 2018).

Neste contexto, a atribuição da função de sentinela aos cães que demonstram sinais clínicos como reservatórios domésticos (sintomáticos e assintomáticos) para os tripanossomatídeos podem colaborar na detecção dessas enfermidades na incidência e prevalência da infecção humana (HALLIDAY et al., 2007). Visto que esses animais participam do ciclo domiciliar e peridomiciliar do parasito, integrando uma ampla variedade de ecorregiões, biótopos, espécies de flebotomíneos e triatomíneos (ANDRADE et al., 2015; BARROSO et al., 2015; BEZERRA et al., 2014; CARVALHO et al., 2015; GÜRTLER; CARDINAL, 2015; RENDÓN et al., 2015). Adicionalmente, os cães têm capacidade olfativa aguçada e superior à humana, quando treinados são capazes de localizar colônias de triatomíneos (MICHELETTI et al., 2016; ROLÓN et al., 2011). Contudo, o custo para a inclusão dos animais nesta atividade é elevado (VAIDYANATHAN; FELDLAUFER, 2013).

3.2 PREVENÇÃO E CONTROLE

A redução da população dos vetores se mantém como alternativa de prevenção e controle das leishmanioses e doença de Chagas, associada à manutenção da higiene dos comedouros, abrigos e regiões peridomiciliares (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). O uso de coleiras e sprays repelentes para os cães têm se mostrado eficiente para prevenção contra os flebotomíneos e existem no mercado algumas fórmulas comerciais aprovadas (KAZIMOTO et al., 2018; LEITE et al., 2018).

A introdução de protocolos de imunização é outra ferramenta relevante para o controle destas enfermidades, proporcionando a interrupção do ciclo de vida destes protozoários. Para a DC existem pesquisas que buscam correlacionar respostas de anticorpos específicos ao *T. cruzi* com respostas de linfócitos T em cães naturalmente infectados (HARTLEY et al., 2014). Alguns estudos vêm demonstrando a eficácia do organismo canino em produzir anticorpos que funcionam como anti-*T. cruzi*, quando os animais são expostos a um desafio vacinal em região endêmica para DC com outra espécie de *Trypanosoma* (*Trypanosoma rangeli*), pois são capazes de produzir imunoglobulinas em função da semelhança morfológica entre as espécies de *Trypanosoma* sustentando uma proteção vacinal em um período de 3 a 4 anos (BASSO et al., 2007; BASSO et al., 2016). Para a LV já está disponível em mercado uma vacina com o

protocolo de três doses, via subcutânea, em intervalos de 21 dias e revacinação anual (GRIMALDI et al., 2017).

As opções terapêuticas leishmanicidas mais recentes envolvem os princípios ativos alopurinol, miltefosina e antimoniato de meglumina. A problemática decorrente continua sendo a resistência de algumas espécies e cepas de *Leishmania* a esses compostos. Estudos vem sendo realizados frequentemente associando estes compostos entre si ou a outros com poder sinérgico e dietas imunomoduladoras. As monoterapias com miltefosina e antimoniato de meglumina têm sido indicadas no tratamento da forma visceral principalmente, entretanto persistem os relatos de reicidivas, sendo necessário um período prolongado de acompanhamento do animal. As reações adversas como vômitos, diarreia, nefrotoxicidade e inflamações nas regiões de aplicação do produto são frequentes nestes tratamentos. O período de terapia, custos e exames complementares devem ser discutidos e a realização de proteção com uso de coleira repelente no animal para que não seja reinfestado (APOSTOLOPOULOS et al., 2018; NOGUEIRA et al., 2019; PINEDA et al., 2017).

A síntese de novos compostos, monoterapias com substâncias de efeitos tripanocidas e/ou tripanostáticos e associações com o benznidazol são alternativas de tratamento para a DC testadas constantemente em diferentes estudos. No entanto, a persistência do parasito continua sendo confirmada meses após o tratamento (MOLINA et al., 2014; MORILLO et al., 2017; PINAZO et al., 2014). Até o presente momento não existe uma terapêutica que promova a completa eliminação de *T. cruzi* ou a cura etiológica no estágio crônico (BRAGA et al., 2000; CANÇADO et al., 1997; COURA; BORGES-PEREIRA, 2011). As supressões nas cargas parasitárias causadas pelo benznidazol podem ser profiláticas ao desenvolvimento da cardiomiopatia chagásica crônica (CALDAS et al., 2013; SANTOS et al., 2012) e minimizar o grau de infecção dos cardiomiócitos quando a eliminação dos parasitos ocorre no início da infecção (CALDAS et al., 2019). Entretanto, os parasitos sobreviventes ao tratamento na fase crônica são capazes de promover progressivamente o dano ao tecido cardíaco pela inflamação, fibrose e deposição de colágeno entre as fibras musculares cardíacas e o consequente desenvolvimento de miocardite e alterações como disfunções sistólica e diastólica (SANTOS et al., 2016a).

3.3 MÉTODOS DIAGNÓSTICOS E REAÇÕES CRUZADAS

Os resultados de determinados métodos diagnósticos como o ensaio de imunoabsorção enzimática indireto, ensaio de imunofluorescência indireto e ensaio de hemaglutinação indireta para detecção de LTA, LV e DC estão sujeitos à ocorrência de reações cruzadas entre os parasitos do gênero *Leishmania* e o *Trypanosoma cruzi* em função das suas similaridades filogenéticas. A determinação das espécies também deverá considerar a epidemiologia local, presença dos vetores e sintomatologia percebida no animal (DARIO et al., 2017; ENRIQUEZ et al., 2014; MATOS et al., 2015; ZANETTE et al., 2014).

Neste âmbito, muitos resultados devem ser submetidos à análise por outros métodos diagnósticos mais específicos como a reação em cadeia da polimerase convencional ou em tempo real (CRUZ et al., 2010; FERRAZ et al., 2016; SANTOS et al., 2012; SANTOS et al., 2016b). A utilização do PCR em conjunto do Polimorfismo de Comprimento de Fragmento da Restrição (RFLP) é empregada para diferenciação de espécies de *Leishmania*, diferenciando *L. braziliensis*, *L. amazonensis* e *L. chagasi*, compondo uma ferramenta importante para diferenciação entre LV e LTA em áreas endêmicas à *L. chagasi* e *L. braziliensis* simultaneamente (ANDRADE et al., 2006; VOLPINI et al., 2004). O uso do PCR em tempo real permite a quantificação do nível da parasitemia e detecção precoce da mesma, entretanto, é um ensaio pouco usado rotineiramente pela necessidade de laboratórios modernos e bem equipados (SUDARSHAN et al., 2014). Por outro lado, a amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) surgiu como suporte eficiente para diagnóstico, permitindo maior sensibilidade e tolerância para inibidores presentes em inúmeras amostras biológicas, além de um menor tempo de reação e observação direta de positividade sem necessidades de equipamentos sofisticados (CHAOUCH et al. 2013; THEKISOE et al., 2010; VERMA et al., 2017).

4 REFERÊNCIAS

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.

ANDRADE, H. M. et al. Use of PCR–RFLP to identify *Leishmania* species in naturally-infected dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 140, n. 3-4, p. 231-238, 2006.

- 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.
- APOSTOLOPOULOS, N. et al. Aktuelle Kenntnisse zu therapie und prävention der kaninen Leishmaniose. **Tierärztliche Praxis / Ausgabe K, Kleintiere, Heimtiere**, v. 46, n. 5, p. 315-322, 2018.
- ARAÚJO, P. F. et al. Sexual transmission of American trypanosomiasis in humans: a new potential pandemic route for Chagas parasites. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 6, p. 437-446, 2017.
- ARGOLO, A. M. et al. **Doença de Chagas e seus Principais Vetores no Brasil**. Rio de janeiro: Imperial Novo Milênio, Fundação Oswaldo Cruz, Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro. 2008. 67 p.
- BAGUES, N. C. T. et al. Parasitic load and histological aspects in different regions of the spleen of dogs with visceral leishmaniasis. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 56, p. 14–19, 2018.
- BARATA, R.A. et al. Aspectos da ecologia e do comportamento de flebotomíneo em área endêmica de leishmaniose visceral, Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 5, p. 421-425, 2005.
- BARROSO, P. A. et al. Visceral Leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in Salta, Argentina: possible reservoirs and vectors. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 93, n. 2, p. 334–339, 2015.
- BARR, S. C. et al. *Trypanosoma cruzi* infection in Walker hounds from Virginia. **American Journal of Veterinary Research**, v. 56, n. 8, p. 1037-1044, 1995.
- 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, 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.
- BRADLEY, K. K. et al. Prevalence of American trypanosomiasis (Chagas disease) among dogs in Oklahoma. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 217, n. 12, p. 1853-1857, 2000.
- BRAGA, M. S. et al. Persistent infections in chronic Chagas' disease patients treated with anti-*Trypanosoma cruzi* nitroderivatives. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 42, n. 3, p. 157-161, 2000.

- CALDAS, I. S. et al. Myocarditis in different experimental models infected by *Trypanosoma cruzi* is correlated with the production of IgG1 isotype. **Acta Tropica**, v. 167, p. 40–49, 2017.
- CALDAS, I. S. et al. Myocardial scars correlate with eletrocardiographic changes in chronic *Trypanosoma cruzi* infection for dogs treated with Benznidazole. **Tropical Medicine and International Health**, v. 18, n. 1, p. 75–84, 2013.
- CALDAS, I. S. et al. Parasitaemia and parasitic load are limited targets of the aetiological treatment to control the progression of cardiac fibrosis and chronic cardiomyopathy in *Trypanosoma cruzi*-infected dogs. **Acta Tropica**, v. 189, p. 30–38, 2019.
- CANÇADO, J. R. Terapêutica específica. In: DIAS, J. C. P.; COURA, J. R. **Clínica e terapêutica da doença de Chagas**. Rio de Janeiro, Fiocruz, 1997. p. 323-351.
- CARDINAL, M. V. et al. High levels of human infection with *Trypanosoma cruzi* associated with the domestic density of infected vectors and hosts in a rural area of northeastern Argentina. **Parasites & Vectors**, v. 11, 2018, doi:10.1186/s13071-018-3069-0.
- CARVALHO, F. S. et al. *Leishmania (Viannia) braziliensis* in dogs in Brazil: epidemiology, co-infection, and clinical aspects. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 4, p. 12062-12073, 2015.
- CECCARELLI, S. et al. Data descriptor: datatri, a database of American triatomine species occurrence. **Nature**, 2018, doi: 10.1038/sdata.2018.71.
- CHAOUCH, M. et al. Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of *Leishmania infantum* in canine leishmaniasis based on cysteine protease B genes. **Veterinary parasitology**, v. 198, n. 1-2, p. 78–84, 2013.
- COURA, J. R.; BORGES-PEREIRA, J. Chronic phase of Chagas disease: why should it be treated? A comprehensive review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 6, p. 641-645, 2011.
- CRUZ, I. et al. A canine leishmaniasis pilot survey in an emerging focus of visceral leishmaniasis: Posadas (Misiones, Argentina). **BMC Infectious Diseases**, v. 10, 2010, doi: 10.1186/1471-2334-10-342.
- CURTIS-ROBLES, R. et al. Epidemiology and molecular typing of *Trypanosoma cruzi* in naturally-infected hound dogs and associated triatomine vectors in Texas, USA. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 1, 2017, doi:10.1371/journal.pntd.0005298.
- DARIO, M. A., et al. Ecological scenario and *Trypanosoma cruzi* DTU characterization of a fatal acute Chagas disease case transmitted orally (Espírito Santo State, Brazil). **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 477, p. 1-14, 2016.
- 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.

- 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.
- FERRAZ, F. N. et al. *Trypanosoma cruzi*: Evaluation of PCR as a Laboratory tool to follow up the evolution of parasite load. **Iranian Journal of Parasitology**, v. 11, n. 3, p. 389-395, 2016.
- FIGUEREDO, L. A. et al. Clinical and hematological findings in *Leishmania braziliensis*-infected dogs from Pernambuco, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 4, p. 418-420, 2012.
- FILHO, E. A. F. et al. Leishmaniose visceral e gestação: relato de caso. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 27, n. 2, p. 92-97, 2005.
- FIOCRUZ, Instituto Oswaldo Cruz. **Vetores da doença de Chagas no Brasil (Região Sudeste)**. 4 ed. RV Impressão Digital LTDA: Rio de Janeiro, 2015. 50 p.
- GALATI, E. A. B. Classificação de Phlebotominae. In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. **Flebotomíneos do Brasil**, Rio de Janeiro: Fiocruz. 2003. p. 123-175.
- GALVÃO, C. et al. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera: Reduviidae) and their geographical distribution with nomenclatural and taxonomic notes. **Zootaxa**, v. 202, p. 1-36, 2003.
- GONTIJO, B.; CARVALHO, M. L. R. de. Leishmaniose tegumentar americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 1, p. 71-80, 2003.
- GRIMALDI, J. R. et al. Field trial of efficacy of the Leish-tec® vaccine against canine leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in an endemic area with high transmission rates. **PloS One**, v. 12, n. 9, 2017, doi: 10.1371/journal.pone.0185438.
- GUEDES, P. M. M. et al. The dog as model for chemotherapy of the Chagas' disease. **Acta Tropica**, v. 84, p. 9-17, 2002.
- 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.
- HALLIDAY, J. E. B. et al. A framework for evaluating animals as sentinels for infectious disease surveillance. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 4, p. 973-84, 2007.
- 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.
- 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. 16 p.

KAZIMOTO, T. A. et al. Impact of 4% deltamethrin-impregnated dog collars on the prevalence and incidence of canine visceral Leishmaniasis. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 18, n. 7, p. 356-363, 2018.

LABELLO-BARBOSA, R. et al. Virulence of *Trypanosoma cruzi* from vector and reservoir in in natura açai pulp resulting in food-borne acute Chagas disease at Pará State, Brazil. **Experimental Parasitology**, v. 197, p. 68-75, 2019.

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.

LEITE, B. M. M. et al. The mass use of deltamethrin collars to control and prevent canine visceral leishmaniasis: A field effectiveness study in a highly endemic area. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 5, 2018, doi: 10.1371/journal.pntd.0006496.

LENT, H.; WYGODZINSKY, P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 163, p. 127-460, 1979.

LIMA, W. G. et al. Canine visceral leishmaniasis: a histopathological study of lymph nodes. **Acta tropica**, v. 92, n. 1, p. 43-53, 2004.

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.

MAHMOUDVAND, H. et al. *In vitro* and *in vivo* antileishmanial activities of pistaciavera essential oil. **Planta Medica**, v. 82, n. 4, 2015, doi: 10.1055/s-0035-1558209.

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. **Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 1971-1980, 2016.

MATOS, H. J. 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.

MENDES, C. S. et al. Impacto das mudanças climáticas sobre a leishmaniose no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 21, p. 263-272, 2016.

MICHELETTI, M. H. et al. Cães de detecção: uma breve revisão sobre o uso do nariz canino. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 38, n. 4, p. 387-392, 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Diagnóstico clínico. In:_____. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar**. 1 ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. p. 41-65.

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

MISSAWA, N. A.; LOROSA, E. S.; DIAS, E. S. Preferência alimentar de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) em área de transmissão de leishmaniose visceral em Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 4, p. 365-368, 2008.

MOLINA, I. et al. Randomized trial of posaconazole and benznidazole for chronic Chagas' disease. **The New England Journal of Medicine**, v. 370, p. 1899- 1908, 2014.

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

MORILLO, C. A. et al. Benznidazole and posaconazole in eliminating parasites in asymptomatic *T. Cruzi* Carriers. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 69, n. 8, p. 939-947, 2017.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Infecções protozoárias polissistêmicas. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. p. 3980-4006.

NOGUEIRA, F. S. dos et al. Use of miltefosine to treat canine visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 12, 2019, doi: 10.1186/s13071-019-3323-0.

OLIVEIRA, V. C. et al. Occurrence of *Leishmania infantum* in the central nervous system of naturally infected dogs: Parasite load, viability, co-infections and histological alterations. **Plos One**, v. 12, n. 4, 2017, doi:10.1371/journal.pone.0175588.

OLIVEIRA, V. V. G de et al. Patologias genitais associadas à leishmaniose visceral canina. **Ciência Rural**, v. 42, n. 9, p. 1614-1620, 2012.

OLIVEIRA, V. V. G de et al. Transmission routes of visceral leishmaniasis in mammals. **Ciência Rural**, v. 45, n. 9, p. 1622-1628, 2015.

PAHO (Pan American Health Organization). Leishmaniasis. **Epidemiological Report of the Americas. Leishmaniasis report n7**, March, 2019. Disponível em: <
http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/50505/Leishreport2019_eng.pdf?sequence=9&isAllowed=y>. Acesso em: 03 jul. 2019.

PINAZO, M. J. et al. Biological markers for evaluating therapeutic efficacy in Chagas disease, a systematic review. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 12, p. 479-496, 2014.

- PINEDA, C. et al. Treatment of canine leishmaniasis with marbofloxacin in dogs with renal disease. **PLoS One**, v. 12, n. 10, 2017, doi: 10.1371/journal.pone.0185981.
- PORFIRIO, G. E. O. de et al. Maintenance of *Trypanosoma cruzi*, *T. evansi* and *Leishmania spp.* by domestic dogs and wild mammals in a rural settlement in Brazil-Bolivian border. **Parasites and Wildlife**, v. 7, p. 398–404, 2018.
- READY, P. D. Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. **Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 227-250, 2013.
- 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.
- RIBEIRO-GOMES, F. L. et al. Site-dependent recruitment of inflammatory cells determines the effective dose of *Leishmania major*. **Infection and Immunity**, v. 82, n. 7, p. 2713–2727, 2014.
- RODRÍGUEZ-MORALES, O. et al. *Trypanosoma cruzi* congenital transmission in dogs with Chagas disease: experimental case report. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 11, n. 10, 2011.
- ROLÓN, M. et al. First report of colonies of sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in the Paraguayan Chaco, using a trained dog. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 5, 2011, doi: 10.1371/journal.pntd.0001026.
- ROSSI, M.; FASEL, N. How to master the host immune system? *Leishmania* parasites have the solutions! **International immunology**, v. 30, n. 3, p. 103-111, 2017.
- SANTOS, C. B. et al. Ocorrência de *Panstrongylus diasi* Pinto & Lent, 1946 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) no estado do Espírito Santo, Brasil. **Entomologia y Vectores**, v. 11, n. 2, p. 363-367, 2004.
- SANTOS, F. M. et al. Cardiomyopathy prognosis after benznidazole treatment in chronic canine Chagas disease. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, p. 1987-1995, 2012.
- 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.
- SANTOS, V. R. C. et al. Acute Chagas disease in the state of Pará, Amazon Region: is it increasing? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, n. 5, 2018, doi: 10.1590 / 0074-02760170298.
- SAUNDERS, A. B. et al. Bradyarrhythmias and pacemaker therapy in dogs with Chagas disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 4, p. 890-894, 2013.

SCOTT, P.; NOVAIS, F. O. Cutaneous leishmaniasis: immune responses in protection and pathogenesis. **Nature Reviews Immunology**, v. 16, n. 9, p. 581-592, 2016.

SEHGAL, R. et al. Immunology of leishmaniasis and future prospective of vaccines. In: KANWAR, J. et al. **Recent Advances in Immunology to Target Cancer, Inflammation and Infections**. Croatia: Intech, p. 479-494, 2012, doi: 10.5772/39291.

SILVA, F. S. Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina. **Revista Trópica-Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 1, n. 1, p. 20-31, 2007.

SILVEIRA, F. T. et al. Revisão sobre a patogenia da Leishmaniose Tegumentar Americana na Amazônia, com ênfase à doença causada por *Leishmania (V.) braziliensis* e *Leishmania (L.) amazonensis*. **Revista Paraense de Medicina**, v. 22, n. 1, p. 9-20, 2008.

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.

SRIVASTAVA, S. et al. Possibilities and challenges for developing a successful vaccine for leishmaniasis. **Parasites & vectors**, v. 9, n. 1, p. 277, 2016.

SUDARSHAN, M. et al. Quantitative PCR in epidemiology for early detection of visceral Leishmaniasis cases in India. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 12, 2014, doi: 10.1371/journal.pntd.0003366.

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.

THEKISOE, O. M. M. et al. Detection of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* infections from *Rhodnius pallescens* bugs by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 82, n. 5, p. 855–860, 2010.

VAIDYANATHAN, R.; FELDLAUFER, M. F. Review article: bed bug detection: current technologies and future directions. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 88, n. 4, p. 619–625, 2013.

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.

VERMA, S. et al. Development of a rapid loop-mediated isothermal amplification assay for diagnosis and assessment of cure of *Leishmania* infection. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, 2017, doi: 10.1186/s12879-017-2318-8.

VOLPINI, A. C. et al. PCR–RFLP to identify *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *L. (Leishmania) amazonensis* causing American cutaneous leishmaniasis. **Acta Tropica**, v. 90, n. 1, p. 31-37, 2004.

YOUNG, D. G., DUNCAN, M. A. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* Sand Flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). **Memoirs of the American Entomological Institute**, v. 54, p. 1-881, 1994.

WHO (World Health Organization). **Chagas disease (American trypanosomiasis)**. Disponível em: < <http://www.who.int/chagas/disease/en/>>. Acesso em: 03 jul. 2019.

ZANETTE, M. F. et al. Serological cross-reactivity of *Trypanosoma cruzi*, *Ehrlichia canis*, *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Babesia canis* to *Leishmania infantum chagasi* tests in dogs. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 1, p. 105–107, 2014.



Capítulo

5

Infecções fúngicas multirresistentes: uma ameaça à saúde animal

Vanderson de Ataíde Paulúcio ¹
Gabriela Rocha de Assunção ²
Natalia Iório Lopes Pontes Póvoa ³
Denise Braga Schimidt ⁴
Helvécio Cardoso Corrêa Póvoa ⁵
Vagner Tebaldi de Queiroz ⁶

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

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

³ Universidade Federal Fluminense, e-mail: iorionlp@yahoo.com.br

⁴ Universidade do Estado do Rio de Janeiro, e-mail: deniseschimidt@id.uff.br

⁵ Universidade Federal Fluminense, e-mail: helveciopovoa@gmail.com

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

1 INTRODUÇÃO

Os fungos são organismos que oferecem muitos benefícios para a sociedade moderna em função de sua utilização nas indústrias farmacêutica, de bebidas e de alimentos. Em contraste, os patógenos fúngicos são ameaças emergentes para os seres humanos, animais, plantas e insetos com potencial para causar mortalidade, morbidade e perda econômica. Surto associados a alterações antropogênicas do ambiente (mudanças climáticas e desastres naturais) podem ocasionar doenças humanas, animais e vegetais (VERWEI et al., 2009).

O impacto dos patógenos fúngicos sobre a saúde animal é significativo. A crescente resistência antifúngica é uma ameaça ao sucesso clínico e a propagação de espécies multirresistentes é preocupante. Sendo assim, o uso racional dos antifúngicos e o conhecimento dos mecanismos moleculares que governam a resistência dos patógenos fúngicos a tais compostos é fundamental na prevenção da resistência.

Embora os mecanismos que conferem resistência e os fatores genéticos que influenciam sua emergência sejam conhecidos, a resposta dos fungos ao estresse causa adaptação e tolerância a drogas e pode comprometer a terapia com antifúngicos. Por outro lado, o conhecimento atual dos mecanismos pelos quais a resistência às drogas antifúngicas evolui em populações experimentais e em ambientes clínicos permite rever as opções atuais de tratamento antifúngico e a discussão sobre estratégias promissoras para impedir a evolução da resistência fúngica aos medicamentos. Ao lidar com a resistência a drogas antifúngicas como um problema evolutivo, existe potencial para melhorar a utilidade dos tratamentos atuais e acelerar o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas (PERLIN; RAUTEMAA-RICHARDSON; ALASTRUEY-IZQUIERDO, 2017).

2 DERMATOSES POR LEVEDURA

2.1 *Malassezia pachydermatidis*

O gênero *Malassezia* inclui doze espécies de leveduras lipofílicas, muitas das quais são associadas principalmente a doenças humanas e caninas. *Malassezia pachydermatidis* é encontrada colonizando a pele e as mucosas de cães e gatos saudáveis. Apesar de fazer parte da microbiota cutânea normal, *Malassezia spp.* podem se tornar patogênicas sob certas circunstâncias (CAFARCHIA; OTRANTO, 2008).

As leveduras *Malassezia* foram classificadas em pelo menos 14 espécies, das quais oito foram isoladas da pele humana, incluindo *Malassezia furfur*, *Malassezia pachydermatis*, *Malassezia sympodialis*, *Malassezia slooffiae*, *Malassezia globosa*, *Malassezia obtusa*, *Malassezia restrita*, *Malassezia dermatis*, *Malassezia japonica* e *Malassezia yamatoensis* (PROHIC, et al., 2016)

A patogenicidade de cepas de *Malassezia spp* está relacionada ao sistema imunológico do hospedeiro. Alterações destes mecanismos de defesa podem levar ao aumento ou redução da regulação genômica e proteômica dos microrganismos refletindo na produção de fatores de virulência ou antígenos (CAFARCHIA; OTRANTO, 2008).

Malassezia pachydermatis é uma levedura lipofílica que coloniza o estrato córneo e os locais das mucosas dos cães. Condições de crescimento favoráveis no ambiente local permitem a multiplicação excessiva deste organismo, que pode então funcionar como um patógeno oportunista secundário. Os cães podem apresentar otite por *Malassezia*, dermatite (localizada ou generalizada) ou ambas. Os sinais clínicos são variáveis e incluem eritema, alopecia, prurido leve a severo, exsudação gordurosa e descamação. Lesões secundárias incluem escoriações, liquenificação, hiperpigmentação e exsudação. Em casos generalizados, um odor rançoso é comumente relatado (CHEN; HILL; PETER, 2005).

A resistência dos fungos aos azóis pode ser causada por alterações na biossíntese de esteróis (mutações na enzima alvo do fármaco, diminuindo a afinidade da enzima pelo fármaco), pela expressão aumentada do gene alvo (ERG11) que codifica esta enzima ou pelo aumento do efluxo, por exemplo, pela superexpressão de genes que codificam proteínas de membrana das transportadoras do transportador ABC (CDR1 / CDR2) (KANO, 2018).

3. MICOSES PROFUNDAS SUBCUTÂNEAS

3.1 *Sporotrichosis schenckii*

O complexo *Sporotrichosis schenckii*, pertencente ao filo *Ascomycota*, classe *Pyrenomycetes*, ordem *Ophiostomatales* e família *Ophiostomatales* (GUARRO; GENÉ; STCHIGEL, 1999), apresenta *S. brasiliensis*, *S. schenckii*, *S. globosa* e *S. luriei* como os principais representantes de importância clínica humana e veterinária (ZHOU et al., 2013).

As espécies do complexo *S. schenckii* são fungos termicamente dimórficos, crescem na forma de hifas multicelulares a 25 °C e na forma patogênica de leveduras unicelulares a 37 °C (BOYCE; ANDRIANOPOULOS, 2015).

A esporotricose tem sido relatada na maioria dos mamíferos, incluindo gatos, cães, suínos, cavalos, ratos e tatus (SIZAR; TALAT, 2019). Em humanos, as lesões associadas à esporotricose são geralmente restritas à pele, tecido subcutâneo e vasos linfáticos adjacentes (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011). Em cães, as lesões de esporotricose apresentam granuloma bem formado, com infiltração neutrofílica acentuada (MIRANDA et al., 2010). Enquanto que, em gatos a frequência de granulomas é baixa, as lesões variaram de pequenas pápulas a extensas zonas de necrose, o acometimento do trato respiratório é o sinal extracutâneo mais freqüente (SCHUBACH et al., 2004). Vale ressaltar, que a doença sistêmica em gatos é frequente e não está associada à imunodeficiência causada pelos vírus da imunodeficiência e/ou leucemia felina (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011).

Os gatos apresentam alta susceptibilidade à infecção por *S. schenckii*, que pode ser justificada pela ausência de corpos asteroides, baixa frequência de granulomas e abundância de organismos fúngicos encontrados na histopatologia das lesões (SCHUBACH et al., 2004). A transmissão entre gatos é bastante comum, já que os machos freqüentemente se envolvem em disputas sobre as fêmeas, (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011). A presença de levedura nas unhas dos gatos com lesões (SCHUBACH et al., 2001) pode favorecer essa transmissão.

A esporotricose zoonótica é endêmica no Rio de Janeiro, sendo transmitida principalmente por arranhões e mordidas de gatos domésticos infectados (GREMIÃO et al., 2017). O itraconazol é considerado a primeira opção de tratamento para esporotricose em gatos (REIS et al., 2016). A taxa de sucesso desse tratamento varia entre 38%-100% (PEREIRA et al., 2010; ROSSI; ODAGUIRI; LARSSON, 2013; SOUZA et al., 2018). O envolvimento da mucosa nasal, o acometimento respiratório e a alta carga fúngica nas lesões cutâneas são fatores preditores para a falha no tratamento (SOUZA et al., 2018).

4. MICOSE PROFUNDA SISTÊMICA

4.1 *Histoplasma capsulatum*

Recentemente, Sepúlveda e colaboradores (2017) descreveram que *Histoplasma capsulatum* é composto por pelo menos quatro espécies crípticas diferentes. As espécies

diferem geneticamente e também em virulência, nem todas as espécies são equivalentes em sua distribuição geográfica e capacidade de causar doença.

H. capsulatum também são fungos termicamente dimórficos, que apresentam sua forma patogênica de leveduras unicelulares a 37 °C e sua forma saprófita de hifas multicelulares a 25 °C (BOYCE; ANDRIANOPOULOS, 2015).

Os morcegos têm sido associados ao crescimento da histoplasmose há muitos anos, esses animais abrigam o fungo que podem ser isolados de suas fezes e de outros tecidos. Entretanto, surtos em humanos ou animais domésticos, como cães são frequentemente identificados (DEEPE JR, 2018). Essa é a micose sistêmica mais comumente diagnosticada em cães é a segunda infecção fúngica mais comumente relatada em gatos (LIN BLACHE; RYAN; ARCENEAUX, 2011). A infecção ocorre pela inalação de conídios a partir da fase de micélio, que posteriormente se converte na forma de levedura. A infecção pode ser disseminada, subclínica ou causar doença pulmonar granulomatosa clínica. Sinais gastrintestinais também podem ocorrer principalmente em cães (BRÖMEL; SYKES, 2005).

O itraconazol é o antifúngico de escolha para os tratamentos de histoplasmose (LINBLACHE; RYAN; ARCENEAUX, 2011), entretanto falhas do tratamento já foram relatadas (AULAKH et al., 2012; WILSON et al., 2018).

5 MICOSES SUPERIFICIAIS CUTÂNEAS

5.1 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DOS PRINCIPAIS AGENTES ETIOLÓGICOS DE INFECÇÕES FÚNGICAS EM ANIMAIS

As micoses superficiais cutâneas ou dermatofitoses são infecções de pele que acometem diversos animais mamíferos, alguns pássaros e também o homem (SUMMERBELL, 2011). De acordo com o *habitat* natural e preferência de hospedeiro, os dermatófitos podem ser definidos como fungos zoofílicos, antropofílicos ou geofílicos (MATTEI; BEBER; MADRID, 2014).

Os zoofílicos são essencialmente patógenos de animais, porém a transmissão para o ser humano não é incomum (cerca de 2/3 das dermatofitoses humanas são consideradas zoonoses) (COCKER et al., 2011); espécies antropofílicas, por outro lado, são quase exclusivas de infecções humanas e raramente infectam animais; já os dermatófitos geofílicos podem ser fonte de infecção para animais, e, conseqüentemente, para o homem, visto que se multiplicam no solo como saprofílicos, mas estão adaptados à forma patogênica em determinados hospedeiros

animais, dependendo das condições as quais são submetidos (MATTEI; BEBER; MADRID, 2014).

Em animais domésticos como cães, gatos, coelhos e outros roedores, os dermatófitos são frequentemente isolados de infecções de pele. Mas é importante ressaltar que, principalmente em regiões tropicais e subtropicais, onde temperatura e umidade são maiores e favorece o crescimento fúngico, alguns animais podem ser portadores assintomáticos, e por isso, fontes de infecção para os proprietários, destacando o potencial zoonótico das dermatofitoses (MATTEI; BEBER; MADRID, 2014; PAL; MAHENDRA, 2017).

Existem mais de 30 espécies de dermatófitos que pertencem a três gêneros: *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*. *Microsporum spp* e *Trichophyton spp* são os principais agentes etiológicos de micoses superficiais em animais (BOND, 2010), sendo *Microsporum canis* definida como a espécie mais isolada de infecções em cães e gatos (PAL; MAHENDRA, 2017). Dentre as raras infecções animais por espécies antropofílicas, se destacam aquelas causadas por *Epidermophyton floccosum* e *Trichophyton tonsurans* (BOND, 2010). *M. gypseum*, *M. persicolor*, *T. equinum*, *T. erinacei*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*, *T. tonsurans* e *T. verrucosum* são espécies de dermatófitos já isoladas de infecções em cães e gatos e outros animais, como cavalos, roedores e ruminantes. Animais de estimação exóticos, como porcos, coelhos e chinchilas podem ser portadores assintomáticos ou apresentar infecção principalmente por *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes* e *Microsporum spp* (MATTEI; BEBER; MADRID, 2014).

O tratamento tópico consiste no uso de xampus, cremes, géis ou soluções contendo enilconazol, clotrimazol ou uma combinação de miconazol com clorexidina (que separadamente são pouco efetivos) (PERRINS; BOND, 2003). Os antifúngicos sistêmicos mais usados são itraconazol, cetoconazol, fluconazol, terbinafina e griseofulvina, sendo itraconazol e terbinafina considerados os mais eficazes. Os demais apresentam maior potencial para causar efeitos adversos (MORIELLO et al., 2017). Lufenuron é outro fármaco que já foi sugerido para o tratamento das dermatofitoses em animais, porém, estudos mostraram que este não exerce atividade inibitória *in vivo* ou *in vitro*, e, portanto, seu uso como antifúngico é questionável e não aconselhado (ZUR; ELAD, 2006).

5.2 NECESSIDADES DE NOVAS DROGAS E ALTERNATIVAS TERAPÊUTICAS

Considerando a possibilidade de desenvolvimento de resistência aos antifúngicos, novas estratégias terapêuticas são necessárias. Pesquisas visam descobrir novas substâncias com atividade antifúngica a partir de fontes naturais; buscas em bibliotecas de compostos químicos também são feitas na tentativa de encontrar substâncias já existentes que também atuem como agentes fungistáticos ou fungicidas (MARTINEZ-ROSSI; PERES, 2008). Como os fungos compartilham semelhanças e alvos bioquímicos com células eucarióticas, encontrar compostos que apresentem toxicidade seletiva se torna mais difícil, por isso, a melhor compreensão da relação entre os dermatófitos e seus hospedeiros vem sendo alvo de pesquisas, já que um antifúngico ideal é um composto que inibe fatores de virulência potenciais, afeta a fisiologia da célula fúngica e também age em alvos celulares específicos (MARTINEZ-ROSSI; PERES, 2008; SANGLARD, 2003; SHIVANNA et al., 2017).

Nanopartículas de prata mostraram ter atividade contra *M. canis*, *M. gypseum* e *T. metagrophytes*, apesar de o efeito ser menor se comparado ao da griseofulvina (MOUSAVI; SALARI; HADIZADEH, 2015). Já foram desenvolvidas e testadas vacinas com dermatófitos vivos inativados (*T. verrucosum* e *M. canis*) em cães, gatos e em bovinos, mas não foi observada proteção contra a infecção. A vacinação pode ser uma terapia adjuvante útil no controle das dermatofitoses (BOND, 2010; MORIELLO et al., 2017).

Além da busca por novos tratamentos é importante reduzir e evitar o surgimento de dermatófitos resistentes. Para tal é necessário o uso prudente e correto dos antifúngicos; combinação de mais de uma substância durante o tratamento das dermatofitoses; e realização de estudos de vigilância para estabelecer a frequência real da resistência (KHURANA; SARDANA; CHOWDARY, 2019).

6 ANTIFÚNGICOS UTILIZADOS EM MICOLOGIA MÉDICO-VETERINÁRIA

Na década de 1950, ocorreu o desenvolvimento da anfotericina B, o primeiro agente capaz de combater doenças fúngicas sistêmicas (HARDMAN; LIMBIRD, 1996). Este fármaco é um antibiótico fungicida potente, mas apresenta nefrotoxicidade como efeito deletério (GOODMAN; GILMAN, 1996).

Na busca por agentes que causassem menores efeitos adversos, surgiram os derivados imidazólicos (miconazol, clotrimazol, cetoconazol) e, em seguida, os compostos triazólicos

fluconazol, itraconazol, voriconazol, entre outros (SIDRIM; ROCHA, 2004). O modo de ação da anfotericina B e dos compostos azólicos (principalmente fluconazol, itraconazol e cetoconazol) tem como alvo a membrana celular fúngica, onde polienos ligam-se ao ergosterol, presente na membrana dos fungos susceptíveis, formando poros, o que resulta na permeabilidade exacerbada da membrana (Figura 1). Em consequência, ocorre o extravasamento de moléculas, levando à morte celular (GOODMAN; GILMAN, 1996).

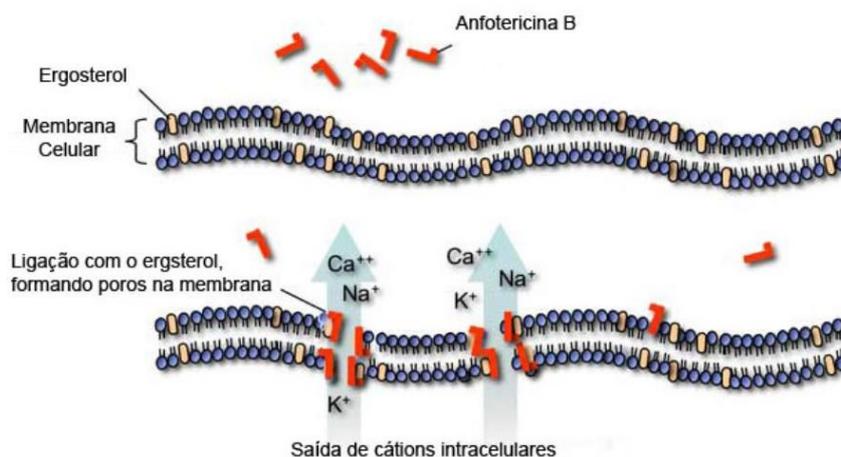


Figura 1: Desenho esquemático representando a ação da Anfotericina B sobre a membrana celular.
Fonte: Adaptado de White; Marr; Bowden, (1998).

Os medicamentos antifúngicos utilizados nas últimas décadas necessitam de aprimoramento em função de problemas relacionados a propriedades farmacocinéticas, espectro de ação e segurança dos ingredientes ativos (BERGOLD; GEORGIADIS, 2004). O desenvolvimento de compostos capazes de combater eficientemente fungos patogênicos sem causar efeitos colaterais graves nos enfermos, foi alavancado pelo aumento da ocorrência de micoses em humanos, principalmente devido a imunossupressão causada por outras enfermidades ou pelo uso de outras medicações. Por outro lado, o mesmo não foi observado para os produtos de uso veterinário pois a micologia médico veterinária difere em alguns aspectos da micologia humana (ENOCH et al., 2017).

Outro entrave que ocorre para a terapia antifúngica na medicina veterinária é o custo do tratamento, que ao utilizar fármacos mais novos e eficientes acaba se tornando demasiadamente caro (ELAD, 2018). Para o tutor do animal optar pelo tratamento da enfermidade fúngica, o custo econômico tem maior relevância, quando comparado aos casos de doenças fúngicas em humanos (ELAD, 2013). Ainda assim, espera-se que a tendência do aumento nas pesquisas em busca de melhorias em terapia fúngica na medicina humana possa influenciar e corroborar na melhoria das taxas de sucesso no tratamento de doenças fúngicas em animais (ELAD, 2018).

6.1 AZÓIS

Os azóis são classificados em imidazóis ou triazóis, dependendo se possuem dois ou três átomos de nitrogênio em seu anel azólico (ZONIOS; BENNETT, 2008). Os compostos azólicos apresentam amplo espectro de ação, tópica ou sistêmica e apresentam menos efeitos deletérios que a anfotericina B (GOODMAN; GILMAN, 1996; SIDRIM; ROCHA, 2004). O tempo de meia vida dos antifúngicos azólicos é relativamente longo, possibilitando fazer o tratamento em dose única e dentre os principais efeitos deletérios que estes fármacos apresentam estão a hepatotoxicidade e hipersensibilidade (TAVARES, 2001).

Dentre os principais imidazóis se destacam o cetoconazol, o miconazol e o clotrimazol. De acordo com a concentração utilizada o cetoconazol pode apresentar ação fungicida ou fungistática (Figura 2). Este composto também apresenta efeito hepatotóxico e interação medicamentosa com variado número de fármacos (FOY; TREPANIER, 2010; TELES et al., 2014).

O miconazol (triazol) foi o primeiro antifúngico azólico a ser utilizado em enfermidades fúngicas sistêmicas, mas posteriormente seu uso foi limitado apenas para uso tópico (ASHER; SCHURARTZMAN, 1977). O miconazol e o clotrimazol têm sido os fármacos de primeira escolha na terapia tópica (DUPONT, 2006). Já o itraconazol, um triazol, a droga de eleição para tratamento de enfermidades fúngicas sistêmicas em animais de pequeno porte (ELAD, 2018).

Os azóis são fármacos frequentemente utilizados para combater a esporotricose felina, tendo como agente causador espécies do gênero *Sporothrix*, como o *Sporothrix schenckii*. Normalmente, o fármaco de eleição no tratamento desta enfermidade é o itraconazol (GREMIÃO et al., 2014).

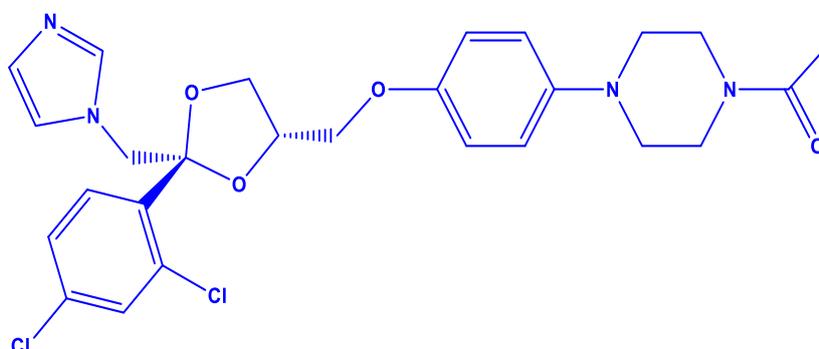


Figura 2: Desenho esquemático representando estrutura química do cetoconazol.
Fonte: O autor.

Itraconazol também é o tratamento de eleição para a histoplasmose em cães e gatos. Entretanto, o *Histoplasma capsulatum* é sensível a outros antifúngicos como o cetoconazol, fluconazol e também à anfotericina B (BRÖMEL; SYKES, 2005; FERREIRA; BORGES, 2009).

Gutiérrez et al. (2014) avaliaram fármacos de uso veterinário frente a patógenos de causadores de otite externa em cães. Estes autores concluíram que o clotrimazol pode ser utilizado no caso de otite causada por *Malassezia pachidermatis*, entretanto, em concentrações superiores a 14 mg/mL.

6.2 POLIENOS

Os poliênicos são antifúngicos utilizados desde a década de 1950, sendo a nistatina e a anfotericina B os representantes macrolídeos poliênicos. A anfotericina B é produzida pelo actinomiceto *Streptomyces nodosus*. É constituída por estrutura macrocíclica, contendo 37 carbonos fechados por lactonização (ASHER; SCHURARTZMAN, 1977; GANIS et al., 1971). Algumas espécies de *Candida* apresentam resistência a este agente antifúngico, devido a ausência de ergosterol e produção de enzimas capazes de degradar o fármaco (FRANZOT; HAMDAN, 1994; YOUNG; HULL; HEITMAN, 2003).

Um dos problemas no tratamento de animais com este fármaco é que a anfotericina B não é absorvida pelo sistema digestório, sendo administrada apenas por via intravenosa (TAN SUN LING; BILLA; ROBERTS, 2018). Formulações lipídicas da anfotericina B foram desenvolvidas na tentativa de minimizar o efeito nefrotóxico da formulação convencional. Embora menos tóxica, as formulações obtidas são consideravelmente mais caras, praticamente inviabilizando seu uso em medicina veterinária (FOY; TREPANIER, 2010; RANG et al., 2012; TAVARES, 2014).

Dois outros antimicóticos poliênicos utilizados em tratamentos tópicos são nistatina e natamicina, sendo este último considerado pilar na terapia (ELAD, 2018). A nistatina pode ser indicada no tratamento de micoses superficiais, otites e candidose. Já nistatina lipossomal foi indicada para doenças fúngicas sistêmicas como criptococose e aspergilose em pacientes imunossuprimidos ou em caso de resistência para outro antifúngico (NOBRE et al., 2002).

6.3 GRISEOFULVINA

A griseofulvina é um antibiótico obtido do *Penicillium griseofulvum*, tem grande distribuição pelos tecidos queratinizados e é uma das drogas de eleição no tratamento das dermatofitoses. A griseofulvina atua penetrando na célula do fungo, interage com os microtúbulos do núcleo e desfaz o fuso mitótico (HECTOR, 2005).

O tratamento sistêmico usual em animais de pequeno porte baseia-se na administração dos fármacos antifúngicos de uso oral, como: griseofulvina, itraconazol e terbinafina, onde o tratamento consiste na associação entre o tratamento sistêmico e tópico (MATTEI; BEBER; MADRID, 2014).

6.4 ALILAMINAS

O grupo das alilaminas, representado pela terbinafina (Figura 3) e naftina, apresenta semelhanças aos derivados azólicos. São compostos sintéticos e possuem modo de ação que também inibe a biossíntese do ergosterol. As alaninas agem alterando a permeabilidade da membrana e, além disso, causam acúmulo intracelular de esqualeno, que é substrato da enzima inibida pelo fármaco, contribuindo também para morte celular (FOY; TREPANIER, 2010; GHANNOUM; RICE, 1999).

A terbinafina apresenta alta afinidade com a pele sendo, assim, utilizada no tratamento de dermatomicoses, muitas vezes em substituição a griseofulvina. No tratamento de micoses, a sua ação é, muitas vezes, mais eficiente em conjunto com outros fármacos (ELAD, 2018).

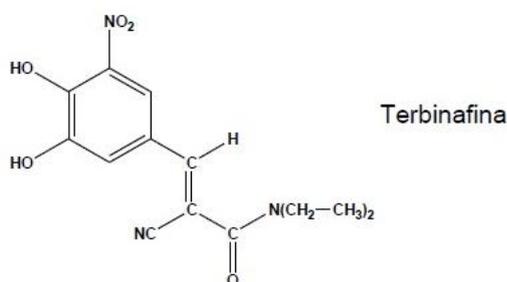


Figura 3: Desenho esquemático representando estrutura química da terbinafina.
Fonte: Adaptado de Baptista, (2015).

6.5 EQUINOCANDINAS

Na década de 1990 foram desenvolvidas as equinocandinas. São compostos antifúngicos que inibem a formação de glucana por meio do bloqueio da enzima β -1,3-glucano sintetase levando a produção de uma parede celular fúngica danificada e, conseqüentemente, a lise osmótica. Os fármacos que compõe essa classe são a caspofungina, micafungina e anidulafungina (RANG et al., 2012; TAVARES, 2014;). O conhecimento da utilização de equinocandinas na medicina veterinária ainda é recente e as informações são escassas (YEOH et al., 2018).

7 NOVAS PROPOSTAS TERAPÊUTICAS

Nos últimos anos, ocorreram grandes avanços no desenvolvimento de fármacos antifúngicos, porém as opções terapêuticas na medicina veterinária continuam sendo limitadas (MARINS et al., 2018). O fato das células animais serem eucarióticas, assim como as células fúngicas, têm limitado as moléculas alvos disponíveis para o desenvolvimento de novos fármacos antifúngicos (SANTOS et al., 2018).

Ferreira et al. (2009), citam que a cada 100 mil moléculas novas descobertas, somente uma chega a indústria farmacêutica, sendo utilizada no desenvolvimento de um novo fármaco. Já em relação aos gastos para o desenvolvimento de uma nova droga, o custo chega a cerca de um milhão de dólares

Os entraves no desenvolvimento de novos fármacos, a importância da redução de custos e a necessidade de novos agentes antimicrobianos, possibilita que novos estudos sobre as drogas existentes no mercado ganhem uma nova percepção. A associação de agentes antifúngicos já usuais com outros antimicóticos, ou com novas moléculas, pode ser uma ferramenta para o desenvolvimento de um novo fármaco eficaz no sucesso da terapia antifúngica animal (NASCIMENTO, 2018). O sinergismo entre agentes antifúngicos pode aumentar o espectro de atuação, ampliar o efeito antimicótico e diminuir a toxidez das drogas. Assim, associação de fármacos na terapia antifúngica se torna uma alternativa benéfica e eficiente para a melhoria no tratamento de doenças causadas por fungos (CAMPITELLI et al., 2017).

Nascimento (2018) verificou, através do redirecionamento de fármacos, a atividade antifúngica da hidralazina, um fármaco vasodilatador originalmente indicado no tratamento de hipertensão. O autor refere que a associação de hidralazina com o agente antifúngico

itraconazol, mostrou-se muito promissora frente a cepas de *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis*. Tais resultados demonstram que o redirecionamento de drogas também é uma opção de terapia inovadora com potencial de contribuir no tratamento de micoses.

O desenvolvimento de novas substâncias fungicidas também é uma alternativa a indústria farmacêutica para reduzir e prevenir possíveis problemas com linhagens resistentes (BIANCALANA et al., 2011). Extratos, frações, óleos essenciais e compostos isolados de plantas medicinais tem sido alvo de estudos, pois podem ser fonte de novas moléculas alvo de potenciais agentes terapêuticos (NEWMAN; CRAGG, 2016). A família Asteraceae possui espécies de plantas com potencial terapêutico para enfermidades causadas por fungos. A espécie *Pterocaulon balansae* tem sido alvo de pesquisas, por possuir uma grande concentração de cumarinas, compostos conhecidos por possuir diversas ações farmacológicas (PANATIERI et al., 2017).

Baptista (2015) avaliou a eficácia de óleo essencial de *Pimenta pseudocaryophyllus* para tratamento de dermatofitose animal e verificou que este óleo essencial mostrou-se uma alternativa promissora para controle e tratamento de espécies fúngicas como *Microsporum canis* e *Trichophyton mentagrophytes*.

Outra opção que tem sido alvo de estudos recentes com potencial para incorporação no tratamento de micoses, são as nanoemulsões. Estes sistemas nanoemulsionados tem sido utilizados para viabilizar a aplicação de extratos vegetais de forma a aprimorar a penetração dos princípios ativos na pele. (SINGH et al., 2017). Nesse cenário, Neves (2018) realizou estudo visando avaliar um produto nanoemulsionado contendo extrato de *Pterocaulon balansae* no tratamento tópico de infecções fúngicas causadas por *Sporothrix schenckii*. Nesse estudo, o autor relata que a incorporação dessa nova formulação testada demonstrou resultados promissores, e que os produtos nanoemulsionados são potenciais carreadores para extratos de *P. balansae* para utilização tópica.

Além de novas opções a serem desenvolvidas utilizando o redirecionamento de fármacos, extratos vegetais/óleos essenciais e o desenvolvimento de apresentações farmacológicas nanoemulsionadas, também vêm ocorrendo avanços em trabalhos de síntese de novos compostos químicos a partir de derivados de fármacos convencionais. É o caso do triazol de segunda geração, o posaconazol. Apesar do custo ainda elevado para ser adotado em larga escala no tratamento animal, este composto apresenta potencial para ser utilizado nos próximos anos. Nesse mesmo cenário, o imidazol, enilconazol, as equinocandinas, caspofungina, micafungina e anidulafungina, também são princípios ativos promissores para serem estudados e incorporados na terapia antifúngica nos próximos dois a três anos (ELAD, 2018).

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos que visem o aprofundamento do conhecimento e obtenção de dados fidedignos, em relação a doenças causadas por fungos em animais, são de grande relevância. Do mesmo modo, pesquisas que busquem o aprimoramento dos agentes antifúngicos já disponíveis, assim como o desenvolvimento e investigação de alternativas que contribuam com a terapia fúngica na medicina veterinária, poderão contribuir para o sucesso no tratamento destas enfermidades.

9 AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelo auxílio financeiro. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

10 REFERÊNCIAS

- ASHER, I. M.; SCHURARTZMAN, G. Amphotericin B. **Anal. Profiles Drug Subst.**, v. 6, p. 1-42, 1977.
- AULAKH, H. K. et al. Feline histoplasmosis: a retrospective study of 22 cases (1986–2009). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 48, n. 3, p. 182-187, 2012.
- BAPTISTA, E. B. **Estudo de estabilidade e eficácia de formulação tópica fitoterápica para tratamento de dermatofitose animal**. Orientadora: Nádia Rezende Barbosa Raposo. 2015. 171f. Dissertação (Doutorado em Saúde) – Programa de Pós-graduação em Saúde, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2015.
- BARROS, M. B. de L.; PAES, R. de A.; SCHUBACH, A. O. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 4, p. 633-654, 2011.
- BERGOLD, A.; GEORGIADIS, S. Novidades em fármacos antifúngicos: uma revisão new antifungic drugs: A review. **Visão Acadêmica, Curitiba**, v. 5, n. 2, p. 159–172, 2004.
- BIANCALANA, F. S. C. et al. Standardization of Hyphal Growth Inhibition Rate as a Means of Evaluating *Microsporum* spp. in vitro Susceptibility to Terbinafine, Griseofulvin, and Ciclopiroxolamine. **Mycopathologia**, v. 172, n. 4, p. 279–285, 2011.

- BOND, R. Superficial veterinary mycoses. **Clinics in dermatology**, v. 28, n. 2, p. 226-236, 2010.
- BOYCE, K. J.; ANDRIANOPOULOS, A. Fungal dimorphism: the switch from hyphae to yeast is a specialized morphogenetic adaptation allowing colonization of a host. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 39, n. 6, p. 797-811, 2015.
- BRÖMEL, C.; SYKES, J. E. Histoplasmosis in dogs and cats. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 20, n. 4, p. 227–232, 2005.
- BUMROONGTHAI, K. et al. **Biofilm production and antifungal susceptibility of co-cultured *Malassezia pachydermatis* and *Candida parapsilosis* isolated from canine seborrheic dermatitis**. *Sabouraudia*, v. 54, n. 5, p. 544-549, 2016.
- CAFARCHIA, C.; OTRANTO, D. The pathogenesis of *Malassezia yeasts*. **Parassitologia**, v. 50, n. 1/2, p. 65, 2008.
- CAMPITELLI, M. et al. Combination Antifungal Therapy: A Review of Current Data. **Journal of Clinical Medicine Research**, v. 9, n. 6, p. 451–456, 2017.
- CHEN, T.; HILL, PETER B. The biology of *Malassezia* organisms and their ability to induce immune responses and skin disease. **Veterinary Dermatology**, v. 16, n. 1, p. 4-26, 2005.
- COCKER, R. et al. Towards a conceptual framework to support one-health research for policy on emerging zoonoses. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 11, n. 4, p. 326-331, 2011.
- DEEPE JR, G. S. Outbreaks of histoplasmosis: The spores set sail. **PLoS Pathogens**, v. 14, n. 9, p. e1007213, 2018.
- DUPONT, B. Use of topical antifungal agents. **Therapie**. Review, 2006.
- ELAD, D. Immunocompromised patients and their pets: Still best friends? **Veterinary Journal**, v. 197, n. 3, p. 662–669, 2013.
- ELAD, D. Therapy of Non-Dermatophytic Mycoses in Animals. **Journal of Fungi**, v. 4, n. 4, p. 120, 2018.
- ENOCH, D. A. et al. The Changing Epidemiology of Invasive Fungal Infections. In: **Human fungal pathogen identification: methods and protocols**. Methods Mol. Biol. 2017, 1508.
- FERREIRA, F. G. et al. Fármacos: Do Desenvolvimento À Retirada Do Mercado. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 6, n. 1, p. 14–24, 2009.
- FERREIRA, M. S.; BORGES, A. S. Histoplasmoze. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 2, p. 192–198, 2009.
- FOY, D. S.; TREPANIER, L. A. Antifungal Treatment of Small Animal Veterinary Patients. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 40, n. 6, p. 1171–1188, 2010.
- FRANZOT, S. P.; HAMDAN, J. S. Effect of amphotericin B on the lipids of five different

strains of *Cryptococcus neoformans*. **Mycopathologia**, n. 128, p. 85–89, 1994.

GANIS, P. et al. Polyene Macrolide Antibiotic Amphotericin B. Crystal Structure of the N-Iodoacetyl Derivative. **Journal of the American Chemical Society**, v. 93, n. 18, p. 4560–4564, 1971.

GHANNOUM, M. A.; RICE, L. B. Antifungal agents: Mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 501–517, 1999.

GOODMAN L. S.; GILMAN A. Z. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9ª ed. Rio de Janeiro, McGraw-Hill Interamericana. p.1436. 1996.

GREMIÃO, I. D. F. et al. Feline sporotrichosis: Epidemiological and clinical aspects. **Medical Mycology**, v. 53, n. 1, p. 15–21, 2014.

GREMIÃO, I. D. F. et al. Zoonotic epidemic of sporotrichosis: cat to human transmission. **PLoS Pathogens**, v. 13, n. 1, p. e1006077, 2017.

GUARRO, J.; GENÉ, J.; STCHIGEL, A. M. Developments in fungal taxonomy. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 3, p. 454-500, 1999.

GUTIÉRREZ R, L. A. et al. Evaluación in vitro de dos fármacos de uso veterinario frente a patógenos causantes de otitis externa en perros. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru**, v. 25, n. 4, p. 538–544, 2014.

HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9. ed. Rio de Janeiro: MacGraw-Hill Interamericana, 1996.

HECTOR, R. F. An overview of antifungal drugs and their use for treatment of deep and superficial mycoses in animals. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 20, n. 4, p. 240–249, 2005.

KANO, R. et al. Multi-azole-resistant strain of *Malassezia pachydermatis* isolated from a canine *Malassezia dermatitis*. **Medical Mycology**, v. 57, n. 3, p. 346-350, 2018.

KHURANA, A.; SARDANA, K.; CHOWDHARY, A. Antifungal resistance in dermatophytes: recent trends and therapeutic implications. **Fungal Genetics and Biology**, p. 103255, 2019.

LINBLACHE, J.; RYAN, K.; ARCENEUX, K. Histoplasmosis. **Compendium: Continuing Education for Veterinarians**, v. 33, n. 3, p. E1-10, 2011.

MARINS, T. A. et al. Evaluation of Influenza A H1N1 infection and antiviral utilization in a tertiary care hospital. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, p. 579, 2018.

MARTINEZ-ROSSI, N. M.; PERES, N. T. A.; ROSSI, A. Antifungal resistance mechanisms in dermatophytes. **Mycopathologia**, v. 166, n. 5-6, p. 369, 2008.

MATTEI, A. S.; BEBER, M. A.; MADRID I. M. Dermatophytosis in Small Animals. **SOJ**

Microbiology & Infectious Diseases, v. 2, n. 3, 2014.

MIRANDA, L. H. M. et al. Comparative histopathological study of sporotrichosis and American tegumentary leishmaniasis in dogs from Rio de Janeiro. **Journal of Comparative Pathology**, v. 143, n. 1, p. 1-7, 2010.

MORIELLO, K. A. et al. Diagnosis and treatment of dermatophytosis in dogs and cats. Clinical Consensus Guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. **Veterinary Dermatology**, v. 28, n. 3, p. 266-e68, 2017.

MOUSAVI, S. A. A.; SALARI, S.; HADIZADEH, S. Evaluation of antifungal effect of silver nanoparticles against *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* and *Microsporum gypseum*. **Iranian Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 4, p. 38, 2015.

NASCIMENTO, F. B. S. A. **Avaliação da atividade antifúngica da hidralazina, seu efeito sinérgico com itraconazol e mecanismo de ação sobre cepas de *Candida spp.* resistentes ao fluconazol**. Orientador: Hélio Vitoriano Nobre Júnior. 2018. 70f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Médica) – Programa de Pós-graduação em Microbiologia Médica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 3, p. 629–661, 2016.

NEVES, B. M. **Desenvolvimento tecnológico de nanoemulsões contendo extrato padronizado de *Pterocaulon balansae* visando à atividade antifúngica**. Orientador: Helder Ferreira Teixeira. 2018. 206f. Dissertação (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

NOBRE, M. O. et al. Drogas antifúngicas para pequenos e grandes animais. **Ciência Rural**, v. 32, n. 1, p. 175–184, 2002.

PAL, M.; MAHENDRA, R. Dermatophytosis-A Highly Infectious Mycosis of Pet Animals. **International Journal of Livestock Research**, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2017

PANATIERI, L. F. et al. Nanoemulsions Containing a Coumarin-Rich Extract from *Pterocaulon balansae* (Asteraceae) for the Treatment of Ocular Acanthamoeba Keratitis. **AAPS PharmSciTech**, v. 18, n. 3, p. 721–728, 2017.

PEREIRA, S. A. et al. Response to azolic antifungal agents for treating feline sporotrichosis. **Veterinary Record**, v. 166, n. 10, p. 290-294, 2010.

PERRINS, N.; BOND, R. Synergistic inhibition of the growth in vitro of *Microsporum canis* by miconazole and chlorhexidine. **Veterinary Dermatology**, v. 14, n. 2, p. 99-102, 2003.

PERLIN, D. S.; RAUTEMAA-RICHARDSON, R.; ALASTRUEY-IZQUIERDO, A. The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 12, p. e383-e392, 2017.

- PROHIC, A. et al. *Malassezia* species in healthy skin and in dermatological conditions. **International Journal of Dermatology**, v. 55, n. 5, p. 494-504, 2016.
- REIS, E. G. et al. Association of itraconazole and potassium iodide in the treatment of feline sporotrichosis: a prospective study. **Medical Mycology**, v. 54, n. 7, p. 684-690, 2016.
- ROSSI, C. N.; ODAGUIRI, J.; LARSSON, C. E. Retrospective assessment of the treatment of sporotrichosis in cats and dogs using itraconazole. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 41, n. 1, p. 1-5, 2013.
- SANTOS, G. C. D. O. et al. *Candida* infections and therapeutic strategies: Mechanisms of action for traditional and alternative agents. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. JUL, p. 1–23, 2018.
- SANGLARD, D. Resistance and tolerance mechanisms to antifungal drugs in fungal pathogens. **Mycologist**, v. 17, n. 2, p. 74-78, 2003.
- SCHUBACH, T. M.P. et al. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 10, p. 1623-1629, 2004.
- SCHUBACH, T. M. P. et al. Isolation of *Sporothrix schenckii* from the nails of domestic cats (*Felis catus*). **Medical Mycology**, v. 39, n. 1, p. 147-149, 2001.
- SEPÚLVEDA, V. E. et al. Genome sequences reveal cryptic speciation in the human pathogen *Histoplasma capsulatum*. **MBio**, v. 8, n. 6, p. e01339-17, 2017.
- SHIVANNA, R. et al. Clinical failure of antifungal therapy of dermatophytoses: Recurrence, resistance, and remedy. **Indian Journal of Drugs in Dermatology**, v. 3, n. 1, p. 1, 2017.
- SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos. In: ROCHA, M. F. G.; SIDRIM, J. J. C. **Drogas Antifúngicas Utilizadas na Terapêutica Contemporânea**. São Paulo: Guanabara Koogan, 2004. Cap. 06, p. 50-62.
- SINGH, Y. et al. Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 252, p. 28–49, 2017.
- SIZAR, O.; TALATI, R. Sporotrichosis (*Sporothrix Schenckii*). In: **StatPearls [Internet]**. StatPearls Publishing. Jun 4, 2019.
- SOUZA, E. W. de et al. Clinical features, fungal load, coinfections, histological skin changes, and itraconazole treatment response of cats with sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 9074, 2018.
- SUMMERBELL, Richard C. *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*, and agents of superficial mycoses. In: **Manual of Clinical Microbiology, 10th Edition**. American Society of Microbiology, 2011. p. 1919-1942.
- RANG. H. P. et al. **Farmacologia**. 7ª ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

- TAN SUI LING, J.; BILLA, N.; ROBERTS, C. J. Mucoadhesive chitosan-coated nanostructured lipid carriers for oral delivery of amphotericin B. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 22, p. 1–24, 2018.
- TAVARES, W. **Antibióticos e quimioterápicos para o uso clínico**. 3ª ed., São Paulo: Atheneu, 2014.
- TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos**. 3ª ed., Rio de Janeiro: Atheneu, 2001.
- TELES, A. J. et al. Histoplasmosose em cães e gatos no brasil. **Science And Animal Health**, v. 2, n. 1, p. 50, 2014.
- VERWEI, P.E., et al. Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a side-effect of environmental fungicide use?. **The Lancet infectious diseases**. v. 9, n. 12, p. 789-95, 2009.
- WILSON, A. G. et al. Clinical signs, treatment, and prognostic factors for dogs with histoplasmosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 252, n. 2, p. 201-209, 2018.
- WHITE, T. C.; MARR, K. A.; BOWDEN, R. A. Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 2, p. 382-402, 1998.
- YEOH, S. F. et al. Echinocandins for management of invasive candidiasis in patients with liver disease and liver transplantation. **Infection and Drug Resistance**, v. 11, p. 805–819, 2018.
- YOUNG, L. Y.; HULL, C. M.; HEITMAN, J. Disruption of ergosterol biosynthesis confers resistance to amphotericin B in *Candida lusitanae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 47, n. 9, p. 2717–2724, 2003.
- ZHOU, X. et al. Global ITS diversity in the *Sporothrix schenckii* complex. **Fungal diversity**, v. 66, n. 1, p. 153-165, 2013.
- ZONIOS, D. I.; BENNETT, J. E. Update on azole antifungals. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**, p. 198–210, 2008.
- ZUR, G.; ELAD, D. In vitro and in vivo effects of lufenuron on dermatophytes isolated from cases of canine and feline dermatophytoses. **Journal of Veterinary Medicine, Series B**, v. 53, n. 3, p. 122-125, 2006.



Capítulo

6

Patógenos de importância zoonótica em populações de mamíferos silvestres

Mayara Mezabarba Riva ¹
Gabriela de Oliveira Resende ²
Felipe Martins Pastor ³
Maria Aparecida da Silva ⁴

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

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

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

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

1 INTRODUÇÃO

As zoonoses cujos agentes possuem reservatórios de vida silvestre representam grande problema de saúde pública, afetando todos os continentes. Centenas de patógenos e muitos modos de transmissão diferentes estão envolvidos, além dos muitos fatores que influenciam a epidemiologia das várias zoonoses. A importância e o reconhecimento da fauna silvestre como reservatório de zoonoses estão aumentando. As zoonoses com um reservatório de vida selvagem são tipicamente causadas por várias bactérias, vírus, parasitas e fungos (KRUSE; KIRKEMO; HANDELAND, 2004).

A maioria das doenças infecciosas emergentes é zoonótica, e a vida selvagem constitui grande reservatório e pode ser a fonte de ressurgimento de zoonoses previamente controladas. Embora a descoberta de tais zoonoses esteja frequentemente relacionada a melhores ferramentas de diagnóstico, as principais causas de sua emergência são o comportamento humano e modificações nos habitats naturais, mudanças nas práticas agrícolas e globalização do comércio. Outros fatores incluem o comércio e a translocação da vida selvagem, os mercados de animais vivos e de carne de caça, o consumo de alimentos exóticos, o desenvolvimento do ecoturismo, o acesso a zoológicos e a posse de animais de estimação exóticos (CHOMEL; BELOTTO; MESLIN, 2007).

A vida selvagem é normalmente definida como animais de livre circulação (mamíferos, aves, peixes, répteis e anfíbios), enquanto que zoonose é doença infecciosa transmissível entre animais e humanos (KRUSE; KIRKEMO; HANDELAND, 2004). Entretanto, ressalta-se que a transmissão de zoonoses envolve dois lados, pois o homem pode atuar como fonte de infecção para a fauna, ao que se denomina antropozoonose (MACKENZIE et al., 2013). No “conceito abrangente, Saúde Única, reconhece os vínculos entre a saúde humana, animal e ambiental”, que indica abordagem holística, colaborativa e multiprofissional, com o objetivo de proporcionar saúde ótima aos componentes dessa tríade, considerando as inúmeras interações que os permeiam (CUNNINGHAM et al., 2017).

A importância das zoonoses é cada vez mais reconhecida, e a necessidade de mais atenção nessa área está sendo abordada. Assim, o objetivo deste capítulo é revisar sobre os principais agentes etiológicos em mamíferos silvestres com potencial zoonótico e as rotas prováveis de transmissão aos seres humanos.

2 AGENTES DE DOENÇAS PARASITÁRIAS

Apesar dos grandes avanços na medicina veterinária, as doenças parasitárias são consideradas grave problema à saúde dos animais, principalmente quando se refere às espécies de parasitos zoonóticos, que ocasionam sérios problemas à saúde de animais e humanos (JOY et al., 2008). Os parasitos apresentam diferentes formas de transmissão, que pode ocorrer por contato direto, ingestão de água e alimentos contaminados, transmissão sanguínea, transplacentária e iatrogênica (VYTHILINGAM et al., 2008), sendo a vetorial a mais comum (SUMRUAYPHOL; APIWATHNASORN; RUANGSITTICHA, 2016).

2.1 *Leishmania*

O gênero *Leishmania* pertence ao reino Protista, filo Euglenozoa, classe Kinetoplastidea, ordem Trypanosomatida e família Trypanosomatidae. E é dividido em dois subgêneros, *Leishmania* e *Viannia*, que têm mais de 20 espécies, distribuídas em complexos que causam a leishmaniose visceral e a leishmaniose tegumentar em humanos (RODRIGUES, 2016). O ciclo biológico da *Leishmania* spp. é complexo, necessitando da participação de um hospedeiro vertebrado e outro invertebrado (ALVES; FAUSTINO, 2005). Assim, a transmissão se dá por meio da inoculação de formas promastigotas durante o hematofagismo das fêmeas de flebotomíneos, vetores do protozoário (RAMOS et al., 2004).

Leishmaniose foi relatada em mamíferos terrestres como *Cerdocyon thous* (cachorro-do-mato), *Chiroptes satanus* (caxiú-preto), *Didelphis marsupial* (gambá-de-orelha-preta), *Didelphis albiventris* (gambá-de-orelha-branca), *Cebus apela* (macaco-prego), *Chloepus didactylus* (preguiça-de-dois-dedos), *Bradypus tridactylus* (preguiça-de-três-dedos), *Nasua nasua* (quati), *Rattus rattus* (rato-preto), *Tamandua tetradactyla* (tamanduá-mirim) e *Dasybus novemcinctus* (tatu-galinha) (PAIZ et al., 2015; PAÇA et al., 2015).

Há relatos da ocorrência de *Leishmania* em quirópteros de diversas espécies, inclusive no Brasil, nas espécies *M. molossus*, *M. rufus*, *Nyctinomops laticaudatus*, *Eumops glaucinus*, *E. auripendulus*, *E. perotis*, *Glossophaga soricina*, *Artibeus lituratus*, *Platyrrhinus lineatus*, *Sturnira lilium*, *Myotis nigricans*, *Histiotus velatus*, *Phyllostomus hastatus*, *Desmodus rotundus* e *Eptesicus furinalis* (FERREIRA et al., 2017; GÓMEZ-HERNÁNDEZ et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2015; REZENDE et al., 2017; SAVANI et al., 2010; SHAPIRO et al., 2013; VIEIRA, 2018).

2.2 *Trypanosoma cruzi*

Trypanosoma cruzi, outro protozoário da família Tripanosomatidae, pertence ao gênero *Trypanosoma*, e infecta várias espécies de mamíferos na natureza e tem como vetores mais de 130 espécies de triatomíneos, popularmente conhecidos como barbeiros (GARCIA et al., 2007). A doença causada pelo *T. cruzi*, denominada doença de Chagas, tornou-se problema de saúde pública com a invasão do homem no ambiente natural e a adaptação dos vetores ao ambiente urbano, se transformando em importante antroponose (COURA; DIAS, 2009).

O homem se infecta, por meio de uma porta de entrada na pele ou mucosa, com formas tripomastigotas metacíclicas eliminadas nas fezes de triatomíneos, após o repasto sanguíneo. Casos agudos de doença de Chagas por transmissão oral estão associados a apresentações clínicas mais severas e maior mortalidade (XAVIER et al., 2014). A transmissão oral é a via de infecção humana mais frequente no Brasil, considerando-se os dados do boletim epidemiológico sobre a doença de Chagas aguda, entre 2000 e 2013, 68,9% dos casos foram atribuídos à transmissão oral (BRASIL, 2015). Os surtos são associados à ausência de boas práticas de higiene na manipulação e armazenamento de alimentos e à invasão humana de habitats silvestres. A contaminação dos alimentos pode ocorrer por excretas de triatomíneos infectados, ou pelo próprio vetor triturado, além de contaminação por conteúdo de glândulas anais de gambás (*Didelphis* spp.) (PEREIRA et al., 2009).

Inúmeros animais silvestres estão listados como reservatórios silvestres de *T. cruzi*, dentre eles, os marsupiais são os mamíferos mais frequentemente relatados com a infecção sendo encontrada em animais de todos os biomas (BARROS et al., 2017). Tatus, preguiças e tamanduás, animais da superordem *Xenarthra*, bem como os gambás, são os mais antigos hospedeiros conhecidos de *T. cruzi*. Os roedores são os maiores alvos de predação dentre os mamíferos e, portanto, podem estar envolvidos na transmissão oral do parasita na natureza. Os quatis (*Nasua nasua*), animais da ordem Carnivora, parecem atuar como reservatórios na região do Pantanal, onde também os javalis (*Sus scrofa*), animais da ordem Artiodactyla, foram associados como reservatórios mantenedores de *T. cruzi* (HERRERA et al., 2008).

Os quirópteros da espécie *Carollia perspicillata* são listados como hospedeiros do *T. cruzi* e podem ser importantes por fatores como sua abundância, adaptação ao ambiente antrópico e por compartilharem abrigos com triatomíneos vetores (LOURENÇO, 2016). Contudo, na Mata Atlântica Costeira verificou-se um distinto cenário enzoótico, em que o mico-leão-dourado (*Leontopithecus rosalia*) é a espécie silvestre mais infectada, quando comparada

com os marsupiais e roedores, deixando claro que o ciclo de *T. cruzi* varia de acordo com o ambiente e diversidade de hospedeiros (VAZ, 2006).

3 AGENTES DE DOENÇAS VIRAIS

3.1 *Lyssavirus*

A raiva é antropozoonose caracterizada por encefalomielite fatal, causada pelas cepas de vírus da ordem Monogamivirales, família Rhabdoviridae e gênero *Lyssavirus*, que acometem animais e seres humanos. A letalidade é de 100% nos animais, os principais reservatórios são conhecidos por diferirem entre as regiões do mundo, mas na América Latina, as cepas clássicas do genótipo 1 ocorrem em morcegos e outros mamíferos terrestres domésticos e silvestres (NADIN-DAVIS, 2007). O vírus da raiva é transmitido pela saliva do animal raivoso por meio de mordida (KRUSE; KIRKEMO; HANDELAND, 2004) e, mais raramente, por arranhadura e lambadura, quando a saliva, secreções ou fluidos corporais do animal infectado entram em contato com algum ferimento exposto ou mucosas do indivíduo sadio (JESUS; GOMES, 2012).

O vírus da raiva é amplamente distribuído e afeta todos os mamíferos, especialmente canídeos, foi introduzido na América do Norte por cães infectados, com posterior transmissão para mamíferos terrestres selvagens. A raiva se estabeleceu em guaxinins nos estados do meio-Atlântico no final dos anos 1970, quando esses animais foram translocados do sudeste dos Estados Unidos, onde a raiva era endêmica nessa espécie (SMITH, et al., 1984).

Na Finlândia houve surto de raiva ligado a *Nyctereutes procyonoides* (cães-guaxinins) em 1988. *Nyctereutes procyonoides* se espalhou para a Finlândia depois que esta espécie foi lançada no oeste da Rússia para o comércio de peles. A raiva provavelmente chegou à Finlândia por lobos que migraram da Rússia durante o inverno ao longo da costa gelada (SIHVONEN, 2003).

O movimento da *Alopex lagopus* (raposa ártica) do arquipélago de Spitzbergen para Novaja Zemlja na Sibéria e do Canadá para a Groenlândia foi descrito, indicando outra maneira pela qual a raiva pode se espalhar para novas áreas (BALLARD et al., 2001). O movimento de animais silvestres e domésticos infectados é um fator importante no surgimento da raiva em novos locais (KRUSE; KIRKEMO; HANDELAND, 2004).

Dentre as espécies de mamíferos existentes no Brasil *Cerdocyon thous* (cachorro do mato), *Callithrix jacchus* (sagui-de-tufos-brancos) e *Desmodus rotundus* (morcego-vampiro)

são apontados como os principais reservatórios da raiva. *Lycalopex vetulus* (raposinha-do-campo), *Procyon cancrivorus* (guaxinim) e *Didelphis spp.* (gambás) são relatados como potenciais reservatórios (KOTAIT, 2007). Recentemente uma cepa do vírus da raiva isolado em *Cebus apella* (macaco-prego) se mostrou distinta das variantes dos quirópteros, indicando que a espécie pode se comportar como reservatório (KOBAYASHI et al., 2013). A oferta de alimento e a interferência humana facilitou o hábito sinantrópico dos animais silvestres que, conseqüentemente, promoveu o avanço da raiva em zonas de impacto de áreas de mata e regiões onde há a presença do cão doméstico (*Canis lupus familiaris*) e espécies silvestres com potencial de reservatório (KOTAIT, 2007). Assim, embora os estudos em quirópteros sejam de grande relevância no controle epidemiológico da doença é urgente pesquisas em outras espécies animais silvestres para constatação de novas variações de cepas do vírus.

3.2 VÍRUS DA HEPATITE E

O HEV é um vírus de RNA de fita simples não envelopado (BOADELLA, 2015) que apresenta pelo menos quatro genótipos conhecidos por infectar seres humanos. Os genótipos 1 e 2 foram identificados apenas em seres humanos e são responsáveis pela maioria dos surtos nos países em desenvolvimento (LU; LI; HAGEDORN, 2006). Acredita-se que os genótipos 3 e 4 estejam envolvidos na transmissão zoonótica e tenham sido isolados de suínos (porcos domesticados e javalis), veados, mangustos, coelhos, bovinos e humanos (MENG, 2010). Cepas adicionais não conhecidas por infectar seres humanos também foram identificadas em ratos e galinhas, e a diversidade genética do HEV está apenas começando a ser entendida. O papel dos roedores selvagens (*Rattus spp.*) como reservatórios na epidemiologia e transmissão de HEV não são claros, mas sua onipresença em ambientes urbanos e propensão inigualável para transportar patógenos zoonóticos os tornam alvo óbvio de investigação (LACK; VOLK; BUUSCHE, 2012).

O vírus da hepatite E (HEV) está entre as principais causas de hepatite aguda em países em desenvolvimento, representando importante problema de saúde pública em relação aos casos de hepatite viral aguda transmitido entericamente, em que os surtos surgem mais frequentemente por meio da contaminação fecal ou após alagamentos, devido água e alimentos contaminados (AGGARWAL, 2011). Além disso, a transmissão zoonótica de HEV por meio do consumo de carne de veado (*Muntiacus reevesi*) malcozida foi confirmada (YAZAKI et al., 2003), e a detecção de HEV em muitos hospedeiros mamíferos, em especial os silvestres, sugere

o potencial para múltiplas fontes zoonóticas de infecção por HEV em países industrializados (MENG, 2010).

Entretanto, há ausência de estudos ligando a vida selvagem com os humanos e poucos dados sobre a ecologia da população selvagem estão disponíveis, o que dificulta a identificação de fatores de risco para HEV. Em todo o mundo, há vários casos humanos de infecções por HEV, mas o conhecimento sobre o consumo de animais silvestres infectados e a doença clínica em humanos é em grande parte carente (BOADELLA, 2015). Enquanto isso, a prevenção baseada no congelamento de carnes de javali e veado, uma vez que previne a infecção pelo HEV, e a conscientização dos profissionais expostos, por exemplo, criadores de porcos, veterinários e caçadores, podem ajudar a prevenir a infecção pelo HEV (CARPENTIER et al., 2012).

3.3 *Hantavírus*

Hantavírus anteriormente eram classificados na família Bunyavirus, sofrendo uma alteração pelo *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV). Recentemente reclassificados à ordem Bunyvirales, família Hantaviridae (ICTV, 2018). São vírus envelopados, com RNA de hélice simples e segmentados em três: pequeno, médio e grande (FERREIRA, 2003).

Roedores silvestres constituem reservatório de hantavírus, causador da hantavirose (SCHMALJOHN; HJELLE, 1997). Os vírus são eliminados na urina, excrementos e saliva, e os seres humanos são principalmente infectados pela inalação de aerossóis contendo o vírus. A precipitação, a estrutura do habitat e a disponibilidade de alimentos são fatores ambientais críticos que afetam a dinâmica da população de roedores, bem como a transmissão viral entre animais e, subsequentemente, a incidência de infecção humana. *Myscus maniculatus* (rato cervo) é hospedeiro reservatório do hantavírus Sin Nombre, que causa a síndrome cardiopulmonar por hantavírus (SCPH) no sudoeste dos Estados Unidos. As mudanças climáticas com aumento das chuvas, a abundância de hospedeiros, podem causar a disseminação do patógeno, e aumentar a transmissão para humanos (KRUSE; KIRKEMO; HANDELAND, 2004).

No Brasil a partir do ano de 1993 diversos esforços foram realizados para descrever os tipos de hantavírus existentes neste país, são conhecidos oito, sendo seis catalogados patogênicos: Anajatuba, Castelo dos Sonhos, Laguna Negra Símile, Araraquara, Jucituba e Rio

Mamoré (MELO, 2017). Diversos roedores são apontados no Brasil como os principais reservatórios dos vírus causadores da síndrome cardiopulmonar em humanos, são eles de acordo com o Ministério da Saúde (2013), *Necromys lasiurus*, *Oligoryzomys utiaritensis*, *Calomys aff. callosus*, *Akodon montensis* e *Holochilus sciurus*.

4 AGENTES DE DOENÇAS BACTERIANAS

4.1 *Francisella tularensis*

O gênero *Francisella* pertence à família Francisellaceae, membros do grupo das γ -proteobacterias, são cocobastonetes gram-negativos imóveis, álcool-ácido-resistentes, parasitas intracelulares e aneróbios facultativos. A família Francisellaceae compreende as duas espécies do gênero *Francisella*, *F. tularensis* e *F. philomiragia*. Sendo *F. tularensis* subdividida em quatro subespécies: *F. tularensis tularensis*, *F. tularensis holarctica*, *F. tularensis novicida* e *F. tularensis mediasiatica* (CARVALHO et al., 2009).

Francisella tularensis, o agente causador da tularemia, pode ser transmitido pelo contato da pele com lebre ou roedor infectado, doente ou morto. Roedores (*Castor canadenses*, *Ondatra zibethicus*) e lebres (*Sylvilagus* spp., *Lepus* spp.) constituem as principais fontes de infecções, e os caçadores correm risco especial de adquirir a doença. O modo de transmissão também afeta a manifestação clínica em humanos. O agente pode ser transmitido por contato direto por meio do manuseio de carcaça infectada e por picadas de carrapatos ou mosquitos, que causam sintomas iniciais da pele, como úlceras (KRUSE; KIRKEMO; HANDELAND, 2004; MORNER, 1992).

A infecção também pode ocorrer após a ingestão de carne insuficientemente cozida de animal infectado ou a ingestão de água contaminada, causando sintomas no trato digestório e pela inalação de poeira contaminada (KRUSE; KIRKEMO; HANDELAND, 2004).

4.2 *Leptospira* sp.

A leptospirose é uma zoonose mundialmente distribuída, detectada em todos os países que realizaram investigações epidemiológicas. Seu agente etiológico, que possui forma de espiroqueta, pertence à ordem Spirochaetales, família Leptospiraceae (MESQUITA et al.,

2017). De acordo com os sorogrupos, sorovares e o potencial de patogenicidade apresentado, a leptospirose pode ser dividida em dois grupos: patogênicas e saprófitas. As patogênicas são divididas em cerca de 23 grupos e mais de 200 sorovares, enquanto as saprófitas se apresentam em 38 sorovares dispostas em seis sorogrupos (OLIVEIRA et al., 2013).

No Brasil, diversos sorovares foram atribuídos a populações de animais silvestres e sinantrópicos, dos quais podemos citar: *hardjo*, *wolffi*, *mini*, *icterohaemorrhagiae*, *copenhageni*, *Panama*, *Nupez*, *Australis*, *Bratislava*, *Noguchi*, *Ballum*, *Bataviae*, *Szwajizam* e *Grippotyphosa*. Na ordem rodentia o rato de esgoto (*Rattus norvegicus*), preá (*Cavia aperea azarae*) e capivara (*Hydrochoerus hydrochoeris*) mostram prevalência do sorovar *Ictero haemorrhagiae*, além de marsupiais (*Didelphis marsupialis* e *Didelphis Virginianus*). Na região Sul do Brasil uma cepa pertencente á *L. borgpetersenii* foi isolada em gambás-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*). *Sus scrofa* (javalis) também são apontados com risco potencial de transmissão de *Leptospira* sp. (JORGE, 2009; OLIVEIRA et al, 2013).

A baixa prevalência em primatas silvestres sugere que o hábito arborícola diminui estes indivíduos a exposição (GIRIO et al., 2004). *Chrysocyon brachyurus* (lobos-guará) e *Cerdocyon thous* (cachorro-do-mato) foram registrados soropositivos para leptospirose no Parque das Emas, estado de Goiás. Com o rompimento da barreira específica o controle de populações de cães domésticos é um ponto chave para reter o avanço do patógeno para populações selvagens (CURI, 2005).

A leptospirose apresenta-se como doença com alto impacto social, ambiental e econômico, acometendo animais domésticos e silvestres que podem se comportar como reservatórios e ampliar sua dispersão, sendo o homem considerado hospedeiro acidental. Animais que apresentam adaptação sintrópica tais como, roedores e carnívoros, são apontados como principais agentes de transmissão devido ao alto potencial de reservatório e baixa frequência na manifestação sintomatológica (GONÇALVES et al., 2016).

4.3 *Mycobacterium* sp.

O gênero *Mycobacterium* constitui importante papel na manutenção de doenças de prejuízo biológico e comercial. Cerca de 20 espécies existentes são patogênicas para o ser humano, dando ênfase para *Mycobacterium leprae* e as diferentes espécies bacterianas que constituem o complexo *M. tuberculosis*, das quais são *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. microti* e *M. canetti*. Pertencente ao gênero *Mycobacterium* e ordem

Actinomicetales, é considerado parasita intracelular obrigatório, corado por vermelho pela fucsina e não descolora em álcool e ácido, sendo assim considerado um bacilo álcool-ácido resistente (BAAR) (RIBEIRO et al., 2017). A forma de *Mycobacterium* é de bastonete reto ou ligeiramente encurvado, são desprovidas de esporos e cápsulas (ABRAHÃO, 1998).

A contaminação e a manifestação clínica variam de indivíduo para indivíduo, podendo os animais silvestres se comportar como reservatórios de infecções para humanos e animais domésticos por estarem fora dos programas de controle das doenças causadas por *Mycobacterium*. Em estudo realizado com três espécies de animais silvestres, *Ozotoceros bezoarticus* (veado campeiro), *Sus scrofa* (javali) e *Nasua nasua* (quatis), que habitavam o entorno de área com animais domésticos no Pantanal brasileiro foram encontrados sete espécies do gênero *Mycobacterium*. Quatro das sete espécies encontradas são consideradas ambientais, ocorrendo amplamente no solo e água: *Mycobacterium saskatchewanense*, *M. paraffinicum*, *M. parascrofulaceum* e *M. asiaticum*. Coletados de um veado campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) dois membros do complexo de *M. tuberculosis* chamam a atenção: *Mycobacterium avium* e *M. bovis*. Estas duas últimas espécies causam preocupação, pois trazem riscos para saúde humana e prejuízos na produção animal (ALBERTTI, 2014). A infecção por *Mycobacterium bovis* em cervídeos foi alvo de programas de erradicação na Nova Zelândia, Dinamarca e Reino Unido onde a doença trouxe diversos prejuízos à produção de carne e peles (ABRAHÃO, 1998).

No Rio Grande do Sul 13 herbívoros selvagens pertencentes a seis espécies, provenientes de zoológicos, tiveram diagnóstico *post mortem* para *Mycobacterium* sp.: *Lama glama* (lhamas), *Cervus unicolor* (cervos sambar), *Camelus bactrianus* (camelo), *Cervus elaphus* (cervo vermelho), *Tapirus terrestres* (anta) e *Boselaphus tragocamelus* (antílope). Neste estudo não foi possível caracterizar as espécies de *Mycobacterium* (RIBEIRO et al., 2017).

Nas Américas o único hospedeiro natural conhecido do *Mycobacterium leprae*, além do ser humano, são os tatus da espécie *Dasypus novemcinctus*. Distribuído por todo território Americano, a espécie passou a ser utilizada em pesquisas com *M. leprae*, devido ao quadro clínico se assemelhar com os humanos. *M. leprae* não é cultivável em meio de cultura comum e sua primeira inoculação foi em 1960 utilizando-se o método Shepard, em coxim de camundongo. Em 1971, tatus foram infectados intencionalmente para averiguar o comprometimento de pele, nervos periféricos, medula óssea, fígado, baço, linfonodos, pulmões, meninges e olhos. O primeiro registro de infecção natural por *M. leprae* em *D. novemcinctus* foi em 1975. Em 1983 foi confirmada que a infecção é causada em tatus e humanos pelo mesmo agente etiológico (ANTUNES, 2007).

A forma do contágio e como ela ocorre em *D. novemcinctus* ainda não é elucidada, o registro da hanseníase em humanos foi feito no Sul dos Estados Unidos antes da chegada dos tatus, sugerindo que a contaminação tenha ocorrido do homem para o tatu. Ainda não há a confirmação da relação do consumo ou contato com *D. novemcinctus*, contudo, sugerem que há correlação entre o contato e a manifestação clínica em humanos (CAPELLÃO et al., 2015).

Estudo realizado com pacientes tratados de um antigo hospital-colônia na cidade de Cariacica/ES encontrou que 90,4% dos portadores e ex-portadores de hanseníase consumiram carne de tatu antes do diagnóstico da doença, sugerindo que o consumo ou contato pode ter relação com o contágio (DEPS, 2003). Antunes (2007) sugere em revisão que a água, solo e algumas espécies de artrópodes que tenham tido contato com o *M. leprae* podem atuar como reservatório.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os animais silvestres parecem estar envolvidos na epidemiologia de inúmeras zoonoses e serem importantes reservatórios para a transmissão de agentes zoonóticos para animais domésticos e humanos. Os animais com doenças zoonóticas podem representar riscos para médicos veterinários, biólogos, sociedade civil em geral e outros animais suscetíveis. Assim, devem ser tomadas precauções de segurança apropriadas para prevenir a transmissão de doenças, especialmente às de caráter zoonótico. Além disso, se faz necessários métodos profiláticos para impedir o aumento da população de animais domésticos de rua, impedindo que se tornem animais ferais e propaguem patógenos para populações silvestres nas matas.

Para reduzir o risco de zoonoses emergentes, o público deve ser informado sobre os riscos associados à vida selvagem, consumo de carne de animais silvestres e comércio de animais exóticos para serem criados como de estimação. O saneamento básico é importante na prevenção à disseminação de doenças, diminuindo o papel do homem em ciclos patogênicos. A prevenção e controle dessas zoonoses requerem abordagem interdisciplinar e holística e cooperação internacional. Vigilância, capacidade laboratorial, pesquisa, treinamento, educação e comunicação são elementos-chave.

6 AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelo auxílio financeiro e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

7 REFERÊNCIAS

- ABRAHÃO, R. M. C. M. **Tuberculose humana causada pelo *Mycobacterium bovis*: considerações gerais e a importância dos reservatórios animais.** 1998. 328 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós Graduação em Epidemiologia - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.
- AGGARWAL, R. Hepatitis E: historical, contemporary and future perspectives. **Gastroenterology and Hepatology**, v. 26, p. 72-82, 2011.
- ALBERTTI, G. A. L. **Deteção de micobactérias em animais silvestres em sub-regiões do Pantanal Sul-Matogrossense.** 2014. 52 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2014.
- ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A. G. **Leishmaniose visceral canina.** Manual da Schering-Plough: São Paulo. 2005. 14 p.
- ANTUNES, J. M. A. P. **Pesquisa de *Mycobacterium leprae* em tatus selvagens da espécie *Dasypus novemcinctus* no Estado do Espírito Santo.** 2007. 106 f. Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas) – Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2007.
- BALLARD, W. B. et al. Rabies and canine distemper in an arctic fox population in Alaska. **Wildlife Diseases**, v. 37, p. 133–137, 2001.
- BARROS, J. H. S. et al. Identification of novel mammalian hosts and Brazilian biome geographic distribution of *Trypanosoma cruzi* TcIII and TcIV. **Acta Tropica**, v. 172, p. 173–179, 2017.
- BOADELLA, M. Hepatitis E in wild ungulates: A review. **Small Ruminant Research**, v. 128, p. 64–71, 2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Doença de Chagas aguda no Brasil: série histórica de 2000 a 2013. **Boletim Epidemiológico**, v. 46, n. 21, p. 1–9, 2015.
- CAPELLÃO, R. T. et al. Infecção natural por agentes zoonóticos em tatus (Mammalia: Cingulata) na América do Sul. **Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia**, v. 73, p. 23-36, 2015.

- CARPENTIER, A. et al. High hepatitis E virus seroprevalence in forestry workers and in wild boars in France. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 50, p. 2888–2893, 2012.
- CARVALHO, I. L. et al. Tularémia. **Acta Medica Portuguesa**, v. 22, p. 281-290, 2009.
- CHOMEL, B. B.; BELOTTO, A.; MESLIN, F. X. Wildlife, exotic pets, and emerging zoonoses. **Emerging Infectious Disease**, v. 13, n. 1, p. 6-11, 2007.
- COURA, J. R.; DIAS, J. C. P. Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease – 100 years after its Discovery. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 1, p. 31-40, 2009.
- CUNNINGHAM, A. A. et al. One health, emerging infectious diseases and wildlife: two decades of progress? **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 372, p. 1-8, 2017.
- CURI, N. H. A. **Avaliação do estado de saúde e do risco de transmissão de doenças entre canídeos (Mammalia, Carnivora) silvestres e domésticos na região da Serra do Cipó.** 2005. 100 f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) Programa de Pós-Graduação em Zoologia de Vertebrados – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.
- DEPS, P. D. et al. Aspectos epidemiológicos da transmissão da hanseníase em relação a exposição ao tatu. **Hansenologia Internationalis**, v. 28, p. 138-144, 2003.
- FERREIRA, E. C. et al. *Leishmania (V.) braziliensis* infecting bats from Pantanal wetland, Brazil: first records for *Platyrrhinus lineatus* and *Artibeus planirostris*. **Acta Tropica**, v. 172, p. 217-222, 2017.
- FERREIRA, M. S. Hantavíruses. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, p. 81-96, 2003.
- GARCIA, E. S. et al. Exploring the role of insect host factors in the dynamic of *T. cruzi*-*Rhodnius prolix* interactions. **Journal of Insect Physiology**, v. 53, n.1, p. 11-21, 2007.
- GIRIO, R. J. S. et al. Investigation of antibodies to *Leptospira* spp. in wild and feral animals from the region of Nhecolândia, Mato Grosso do Sul, Brasil. Use of the immunohistochemistry technique for agent detection. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p. 165-169, 2004.
- GÓMEZ-HERNÁNDEZ, C. *Leishmania* infection in bats from a non-endemic region of Leishmaniasis in Brazil. **Parasitology**, v. 144, p. 1980–1986, 2017.
- GONÇALVES, N. V. et al. Distribuição espaço-temporal da leptospirose e fatores de risco em Belém, Pará, Brasil. **Ciência Saúde Coletiva**, v. 21, n. 12, p. 3947-3955, 2016.
- HERRERA, H. M. et al. The coati (*Nasua nasua*, Carnivora, Procyonidae) as a reservoir host for the main lineages of *Trypanosoma cruzi* in the Pantanal region, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 102, n. 11, p. 1133–1139, 2008.

ICTV. Master Species list 2018b, v. 2. Disponível em <<https://talk.ictvonline.org/files/master-species-lists/m/msl/8266>>. Acessado 29 de julho de 2019

JESUS, A. G.; GOMES, H. Raiva humana: transmissão a humanos por cães e gatos no município de Balsas-MA. **Revista Científica da Faculdade de Balsas**, v. 3, n. 1, p. 1-14, 2012.

JORGE, R. S. P. **Caracterização do estado sanitário dos carnívoros selvagens da RPPN SESC Pantanal e de animais domésticos da região**. 2008. 105 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada a Zoonoses) - Programa de Pós Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada a Zoonoses. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

JOY, R. et al. Impact of neighborhood-level socioeconomic status on HIV disease progression in a universal health care setting. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 47, n. 4, p. 500-505, 2008.

KOBAYASHI, Y. et al. Isolation of a phylogenetically distinct rabies virus from a tufted capuchin monkey (*Cebus apella*) in Brazil. **Virus Research**, v. 178, n. 2, p. 535-538, 2013.

KOTAIT, I. et al. Reservatórios silvestres do vírus da raiva: um desafio para a saúde pública. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 4, n. 40, p. 2-8, 2007.

KRUSE, H.; KIRKEMO, A. M.; HANDELAND, K. Wildlife as source of zoonotic infections. **Emerging Infectious Diseases**, v. 10, n. 12, p. 2067–2072, 2004.

LACK, J. B.; VOLK, K.; BUUSCHE, R. A. V. D. Hepatitis E virus genotype 3 in wild rats, United States. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 8, p. 1268-1273, 2012.

LOURENÇO, J. M. **Ocorrência de tripanossomatídeos em morcegos (Mammalia: Chiroptera) no Distrito Federal, Brasil**. 2016. 82 f. Dissertação (Mestrado em zoologia), Programa de Pós Graduação em Zoologia, Universidade de Brasília, Brasília – DF, 2016.

LU, L.; LI, C.; HAGEDORN, C. H. Phylogenetic analysis of global hepatitis E virus sequences: genetic diversity, subtypes and zoonosis. **Reviews in Medical Virology**, v. 16, n. 5, p. 36, 2006.

MACKENZIE, J. S. et al. **Current topics in microbiology and immunology**. One Health: the human – animal – environment interfaces in emerging infectious diseases. The concept and examples of a One Health approach. Springer: Verlag, 2013. 358 p.

MELO, D. M. **Isolamento de hantavírus em cultura de células**. 2017. 50 f. Dissertação (Mestrado em Imunologia Básica e Aplicada) - Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

MENG, X. J. Hepatitis E virus: animal reservoirs and zoonotic risk. **Veterinary Microbiology**, v. 140, p. 256-265, 2010.

MESQUITA, M. O. et al. Percepções ambientais e fatores associados à ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* sp. em cães de um reassentamento urbano no município de Porto Alegre, estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 8, n. 1, p. 23-27, 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, **Secretaria de Vigilância em Saúde**. Departamento de Vigilância Epidemiológica: Brasília. 2013. 94 p.

MORNER, T. The ecology of tularaemia. **Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties**, v.11, p. 1123-1130, 1992.

NADIN-DAVIS, S. A. Molecular Epidemiology. In: JACKSON, A. C.; WUNNER, W. H. **Rabies**. 2. ed. Amsteden: Elsevier Academic Press, 2007. p. 69-122.

OLIVEIRA, F. M. et al. First detection of *Leishmania* spp. DNA in Brazilian bats captured strictly in urban areas. **Acta Tropica**, v. 150, p. 176-181, 2015.

OLIVEIRA, S. et al. Reservatórios animais de leptospiroses: uma revisão bibliográfica. **Saúde**, v. 39, p. 9-20, 2013.

PAIZ, L. M. et al. Serological evidence of infection by *Leishmania (Leishmania) infantum* (Synonym: *Leishmania (Leishmania) chagasi*) in free-ranging wild mammals in a nonendemic Region of the State of São Paulo, Brazil. **Vector Borne Zoonotic Diseases**, v. 15, n. 11, p. 667-673, 2015.

PAŞA, S. et al. Detection of *Leishmania major* and *Leishmania tropica* in domestic cats in the ege Region of Turkey. **Veterinary Parasitology**, v. 212, n. 3, p. 389-392, 2015.

PEREIRA, K. S. et al. Chagas' disease as a foodborne illness. **Journal of Food Protection**, v. 72, n. 2, p. 441-446, 2009.

RAMOS, C. S. et al. Characterisation of a new *Leishmania* META gene and genomic analysis of the META cluster. **FEMS Microbiology Letters**, v. 238, n. 1, p. 213-219, 2004.

REZENDE, M. B. et al. Detection of *Leishmania* spp. in bats from an area of Brazil endemic for visceral leishmaniasis. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 64, p. 36-42, 2017.

RIBEIRO, V. L., et al. Infecção por *Mycobacterium* sp. em herbívoros selvagens de cativeiro no Rio Grande do Sul: estudo retrospectivo e detecção imuno-histoquímica (2003-2015). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 58-65, 2017.

RODRIGUES, M. L. A. **Classificação e morfologia de protozoários e rickétsias em medicina veterinária**. 2016. 46 f. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - Instituto De Veterinária. Departamento Parasitologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2016.

SAVANI, E. S. M. M. et al. Detection of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* and *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* in Brazilian bats. **Veterinary Parasitology**, v. 168, p. 5-10, 2010.

SCHMALJOHN, C.; HJELLE, B. Hantaviruses: a global disease problem. **Emerging Infectious Diseases**, v. 3, p. 95–104, 1997.

SHAPIRO, J. P. et al. First record of *Leishmania braziliensis* presence detected in bats, Mato Grosso do Sul, southwest Brazil. **Acta Tropica**, v. 128, n. 1, p. 171-174, 2013.

SIHVONEN, L. Documenting freedom from rabies and minimising the risk of rabies being re-introduced to Finland. **Rabies Bulletin Europe**, v. 27, n. 2, p. 5–6, 2003.

SMITH, J. S. et al. Antigenic characteristics of isolates associated with a new epizootic of raccoon rabies in the U.S. **Journal of Infectious Diseases**, v. 149, p. 769–774, 1984.

SUMRUAYPHOL, S.; APIWATHNASORN, C.; RUANGSITTICHAJ, J. DNA barcoding and wing morphometrics to distinguish three *Aedes* vectors in Thailand. **Acta Tropica**, v. 159, p. 1–10, 2016.

VAZ, V. C. **Efeito da fragmentação florestal sobre o ciclo de transmissão silvestre do *Trypanosoma cruzi* entre pequenos mamíferos na Serra dos Órgãos, Teresópolis-RJ.** 2006. 51f. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária), Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2006.

VIEIRA, T. M. Redes de interação entre morcegos e *Leishmania* em ambiente silvestre e urbano do município de Montes Claros, MG, Brasil. **MEDTROP**. 54 Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Pernambuco, p. 56-57, 2018.

VYTHILINGAM, I. et al. *Plasmodium knowlesi* in humans, macaques and mosquitoes in peninsular Malaysia. **Parasites & Vectors**, v. 1, p. 1-26, 2008.

XAVIER, S. C. et al. Distantiae transmission of *Trypanosoma cruzi*: a new epidemiological feature of acute Chagas disease in Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 5, p. 1-9, 2014.

YAZAKI, Y. et al. Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, may be food-borne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food. **Journal of General Virology**, v. 84, p. 2351-2357, 2003.



Capítulo

7

**Parâmetros eletrocardiográficos nas sobrecargas
atrioventriculares e marcadores precoces de arritmia –
revisão de literatura**

Franciely Mota de Oliveira ¹
Karina Preising Aptekmann ²

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

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

1 INTRODUÇÃO

A eletrocardiografia é uma técnica de exame não invasivo que registra a atividade elétrica do coração a partir da superfície corpórea. Fornece informações sobre o funcionamento do tecido de condução, frequência cardíaca (FC), ritmo cardíaco, eixo elétrico, bem como alterações das câmaras cardíacas (LEOMIL NETO; LARSSON, 2015).

O eletrocardiograma (ECG) é amplamente empregado na rotina clínica veterinária, devido a sua acessibilidade, baixo custo e por ser um exame fácil de ser realizado (PELLEGRINO et al., 2016; SOTO-BUSTOS et al., 2017). Pode ser utilizado na detecção de arritmias, acompanhamento de terapia antiarrítmica, distúrbios de condução elétrica, desequilíbrios eletrolíticos, desordens metabólicas, além de ser uma importante ferramenta na avaliação pré, trans e pós cirúrgica (WARE, 2015).

Apesar do ECG sugerir sobrecargas de câmaras cardíacas, estudos que avaliaram a sensibilidade e especificidade do exame ainda são escassos na medicina veterinária (PELLEGRINO et al., 2016; SAVARINO et al., 2012; SCHOBER et al., 2007; SOTO-BUSTOS et al., 2017). Existem parâmetros que são empregados na medicina humana que podem aumentar a eficácia deste exame na detecção destas alterações (PASTORE et al., 2016).

Além disso, muitas cardiopatias em cães, resulta no remodelamento atrial e ventricular que pode ocasionar alterações elétricas no sistema de condução cardíaca, podendo gerar arritmias (BOLDT et al., 2006; WARE, 2015). Alguns parâmetros eletrocardiográficos considerados marcadores de distúrbios de repolarização (KURL et al., 2012; TSE; YAN, 2016) e/ou despolarização miocárdica (NOSZCZYK-NOWAK, 2012a; PASLAWSKA et al., 2005) podem atuar na determinação do prognóstico de diversas doenças cardiovasculares.

Nesta revisão de literatura objetivou-se realizar um levantamento dos principais parâmetros eletrocardiográficos utilizados na detecção de sobrecargas atriais e ventriculares, além de marcadores precoces de arritmias verificando distúrbios de despolarização e repolarização empregados na medicina humana e veterinária.

2 PARÂMETROS ELETROCARDIOGRÁFICOS NAS SOBRECARGAS ATRIAIS E VENTRICULARES

O ECG deve sempre ser utilizado como auxílio diagnóstico em todos os animais cardiopatas ou com forte suspeita. Apesar de ser utilizado principalmente na detecção de arritmias, o ECG fornece informações indiretas a respeito das alterações morfológicas das câmaras cardíacas (TILLEY; SMITH, 2008).

As hipertrofias das câmaras cardíacas podem ser consideradas, de modo genérico, como concêntricas e excêntricas. Nas hipertrofias concêntricas ocorre aumento de massa ventricular decorrente do aumento da espessura da parede e redução dos diâmetros cavitários. Tal condição surge em decorrência de um aumento de resistência à ejeção ou à sobrecarga de pressão (aumento da pós-carga). Nas hipertrofias excêntricas ocorre um aumento de massa ventricular e da espessura da parede ventricular, mas com aumento dos diâmetros cavitários. Esta condição surge em decorrência da sobrecarga de volume (aumento da pré-carga) (WARE, 2015).

Uma vez que várias condições associadas são responsáveis pelas alterações de ondas no traçado eletrocardiográfico, tais como dilatação, hipertrofia, atraso na condução, aumento da pressão e redução da distensibilidade de câmaras cardíacas, o termo “anormalidade” tem sido aplicado em detrimento de outros como hipertrofia, *strain*, sobrecarga ou atraso na condução. Essa é a recomendação da *International Society For Computerized Electrocardiography*. No entanto, a Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Análise e Emissão de Laudos Eletrocardiográficos utiliza o termo “sobrecarga” para estas alterações (FURTADO, 2012; PASTORE et al., 2016).

Dentre os principais parâmetros eletrocardiográficos avaliados na detecção de sobrecargas atriais estão a duração e amplitude de onda P, índice de Macruz, eixo de onda P e área de P (FURTADO, 2012; SOTO-BUSTOS et al., 2017). Para a avaliação de sobrecarga ventricular são utilizados o critério de Cornell, eixo e polaridade do complexo QRS, amplitude de onda R e S e polaridade da onda T (PASTORE et al., 2016; PELLEGRINO et al., 2016; SOTO-BUSTOS et al., 2017).

2.1 SOBRECARGA ATRIAL ESQUERDA

Um achado eletrocardiográfico sugestivo de sobrecarga atrial esquerda (SAE) frequentemente registrado é um aumento na duração de onda P. Verifica-se na derivação II,

uma onda maior que 40 milissegundos (ms) para felinos e cães de pequeno e médio porte, sendo que em cães de grande porte esse valor pode ultrapassar 50 ms (PASTORE et al., 2016; TILLEY, 1992). Aumento na duração de onda P foram identificados em estudos avaliando a SAE de cães e gatos (PELEGRINO et al., 2016; SOTO-BUSTOS et al., 2017).

Por ser uma alteração frequentemente registrada nas alterações da valva mitral, como a doença valvar crônica de mitral (DVCM), o aumento de duração desta onda recebe o nome de onda *P mitrale*. Algumas cardiopatias congênitas, como estenose aórtica e persistência do ducto arterioso, também podem exibir *P mitrale* no traçado eletrocardiográfico. Associado ao aumento de duração da onda P, esta pode apresentar um entalhe, que em alguns casos, é atribuído à distúrbios de condução do nodo sinusal ao nodo atrioventricular (FILIPPI, 2011; PASTORE et al., 2016).

O desvio de eixo médio de onda P para esquerda é um dos parâmetros que sugere aumento do átrio esquerdo (AE), sendo calculado da mesma forma que o eixo médio do complexo QRS (FILIPPI, 2011). Apesar deste tema ser pouco descrito na literatura, em um estudo com cães em decúbito lateral direito, comparou-se registros eletrocardiográficos obtidos pelos métodos convencional e computadorizado e observou valores maiores do eixo de P no método computadorizado (WOLF; CAMACHO; SOUZA, 2000). Outro estudo determinou o eixo de onda P na avaliação de cães diagnosticados com DVCM e verificaram baixa sensibilidade e especificidade desta medida na detecção de SAE (SOTO-BUSTOS et al., 2017). Este mesmo resultado foi observado em humanos, quando compararam o eixo médio de P com técnicas de alta precisão como o ECO e ressonância magnética (LEE et al., 2007; TSAO et al., 2008).

Outros parâmetros avaliados na detecção de SAE são a área de onda P e o Índice Macruz, ambos realizados na derivação II. A área de onda P é avaliada por meio do produto entre a amplitude de P e metade da duração de P. O índice de Macruz é descrito como a relação da duração de P e duração do segmento PR (FURTADO, 2012; SOTO-BUSTOS et al., 2017). Apesar de descritos com frequência em humanos, relatou-se apenas um único estudo na medicina veterinária que comparou cães saudáveis com cães afetados pela DVCM, onde verificou-se um aumento significativo nos valores destes parâmetros em cães no estágio B2 da doença, indicando que estes parâmetros são sugestivos de SAE, embora sua ausência não exclua o aumento de AE (SOTO-BUSTOS et al., 2017).

A área do componente negativo final da onda P (amplitude x duração), medido na derivação CV5RL, onde a onda P geralmente é bifásica, constitui o índice de Morris (MORRIS

et al., 1964). É um parâmetro muito utilizado na medicina humana, sendo que uma fase negativa terminal de P com área maior que 4 milivolts por segundo (mV/s) caracteriza uma SAE em humanos (Figura 1) (FURTADO, 2012; LEE et al., 2007; PASTORE et a., 2016; TSAO et al., 2008).

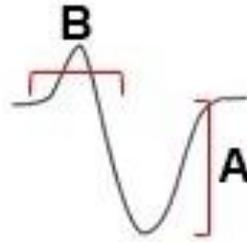


Figura 1: Esquema eletrocardiográfico representativo da onda P bifásica na derivação CV5RL. A área do componente negativo da onda P se dá pela multiplicação da amplitude em milivolts (A) pela duração em segundos (B).

Fonte: Arquivo pessoal (2018).

2.2 SOBRECARGA ATRIAL DIREITA

Na sobrecarga atrial direita (SAD), a onda P apresenta maior voltagem na derivação II, sendo maior que 0,4 mV em cães de raças pequenas, e maior que 0,5 mV em cães de raças grandes. Nos gatos, observa-se uma onda P maior que 0,2 mV (TILLEY, 1992).

Em humanos, complexos do tipo qR, qRs, QR e Qr, na derivação precordial V1, é um sinal indireto de SAD, na ausência de fibrose miocárdica (PASTORE et al., 2016; SODI-PALLARES; BISTENI; HERMAMM, 1962). Outro sinal indireto de SAD avaliado na medicina humana é a presença de complexos QRS de baixa voltagem na V1, nitidamente visível quando comparado com os complexos QRS das outras derivações. Acredita-se que a baixa voltagem do complexo QRS nesta derivação seja devida à interposição da câmara atrial direita hipertrofiada. O desvio de eixo elétrico de onda P para direita e o índice de Macruz também são indicativos deste tipo de sobrecarga (PASTORE et al., 2016; PENALOZA-TRANCHEZI, 1972).

Na sobrecarga biatrial pode ser observada a associação dos achados eletrocardiográficos de sobrecarga atrial esquerda e direita (FILIPPI, 2011; FURTADO, 2012).

2.3 SOBRECARGA VENTRICULAR ESQUERDA

Uma das alterações eletrocardiográficas sugestivas de sobrecarga ventricular esquerda (SVE) é o aumento na amplitude de R. Em cães, na derivação II, a amplitude de R é de no máximo 3 mV em raças grandes e 2,5 mV para raças pequenas e médias; nas derivações precordiais esse valor deve sempre ser inferior à 3,0 mV. Em felinos, ondas R com amplitude superior à 0,9 mV na derivação II; e/ou ondas R com amplitude superior a 1,0 mV nas precordiais sugerem SVE (TILLEY, 1992). Em um estudo avaliando gatos persas, a onda R apresentou aumento significativo na amplitude na derivação II, CV6LL e CV6LU nos animais diagnosticados com cardiomiopatia hipertrófica (PELLEGRINO et al., 2016). Apesar disso, alguns estudos em humanos e felinos demonstram que a amplitude do QRS apresenta baixa sensibilidade em detectar SVE no ECG (BACHAROVA, 2009; BENDER et al., 2012; PELLEGRINO et al., 2016; ROWIN et al., 2012).

O aumento de duração do complexo QRS é um achado eletrocardiográfico bem comum de ser encontrado em SVE. A duração do complexo QRS normal para cães é de 50 ms para raças pequenas e médias, e até 60 ms para raças grandes. Para gatos, esse valor é de até no máximo 40 ms (TILLEY, 1992). Alguns autores afirmam que quanto maior a hipertrofia ventricular, seja ela excêntrica ou concêntrica, maiores serão os valores de amplitude de onda R e duração dos complexos QRS (TILLEY; SMITH, 2008).

Uma onda T maior do que 25% da onda R na derivação II, III e aVF pode ser sugestivo de aumento do ventrículo esquerdo (VE). No entanto, alterações envolvendo a onda T na avaliação de sobrecargas de câmaras são mais comuns em humanos, na medicina veterinária esta onda pode apresentar grande variação (FILIPPI, 2011; PASTORE et al., 2016).

O segmento ST estende-se do final do complexo QRS (também denominado ponto J) até o início da onda T. Nos cães este segmento tende a inclinar-se para a onda T subsequente, podendo apresentar um supradesnível (elevação) ou infradesnível (depressão) em relação a linha de base; em felinos isso não acontece. Uma elevação maior que 0,15 mV ou uma depressão maior que 0,2 mV sugere uma SVE (TILLEY, 1992; WARE, 2015). Em humanos, a depressão do segmento ST associada à inversão assimétrica de onda T, também denominada de padrão *strain*, é observado em pessoas com SVE (FURTADO, 2012).

O eixo elétrico médio de QRS é obtido por meio das derivações I e III, sendo os valores considerados normais entre 40° e 100° para cães, e 0° e 160° para felinos, um desvio de eixo para a esquerda nestes animais é um indicador de SVE (TILLEY, 1992; WARE, 2015).

Em humanos, diversos critérios eletrocardiográficos são utilizados no diagnóstico de SVE. Cada critério possui sensibilidade diferente, sendo possível um mesmo paciente apresentar SVE na análise por um critério e não preencher os outros critérios. Devido à baixa sensibilidade na avaliação de critérios isoladamente, torna-se importante a avaliação de mais de uma variável no exame (FURTADO, 2012; PASTORE et al., 2016).

Ainda não descrito na veterinária, os critérios de Cornell foram propostos para a análise de SVE. Consiste no somatório da amplitude de R na derivação aVL com a onda S na CV6LL. A sobrecarga seria sugerida quando nos homens, os valores fossem superiores a 2,8 mV e, nas mulheres, ultrapassassem 2 mV (CASALE et al., 1987; FURTADO, 2012; PASTORE et al., 2016). Posteriormente, o grupo da Universidade de Cornell, modificou o critério original, desenvolvendo um algoritmo para a interpretação realizada no ECG, onde incorporou o produto da soma da voltagem da onda R de aVL com a onda S da CV6LL pela duração média do complexo QRS, sugerindo SVE quando o valor obtido fosse superior a 2,4 mV/s (OKIN et al., 1995). Desta forma, os diferentes métodos para calcular os critérios de Cornell, tanto por meio da análise na voltagem, quanto por meio do critério modificado, são utilizados na medicina humana (FURTADO, 2012). No entanto, as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Análise e Emissão de Laudos Eletrocardiográficos recomendam o uso dos Critérios de Cornell não modificado (PASTORE et al., 2016).

Um dos critérios mais antigos e ainda muito utilizado em humanos foi proposto por Sokolow e Lyon (1949). Utiliza a soma da amplitude da onda S na derivação V1 (CV5RL) com a soma da onda R na V5 (CV6LU) ou V6 (V10) (sempre optar pela maior das duas). Se a soma for igual ou superior a 3,5 mV, sugere-se SVE. Entretanto, este parâmetro é considerado duvidoso devido a alterações no complexo QRS que podem ocorrer compatíveis com a idade (PASTORE et al., 2016).

Romhilt e Estes (1968) propuseram um sistema de pontuação de diversas alterações eletrocardiográficas para o diagnóstico de SVE em humanos. Para traçados eletrocardiográficos que apresentem no somatório quatro pontos, o diagnóstico é de provável hipertrofia, e superior a cinco pontos, o diagnóstico é definitivo (FURTADO, 2012; PASTORE et al., 2016).

2.4 SOBRECARGA VENTRICULAR DIREITA

Um dos parâmetros utilizados na medicina veterinária para a avaliação de sobrecarga ventricular direita (SVD) são alterações na amplitude de onda S. A sobrecarga é sugerida

quando esta onda apresentar em cães, valores superiores à 0,35 mV na derivação II; 0,8 mV na CV6LL e/ou 0,7 mV na CV6LU. Pode-se observar uma onda S profunda nas derivações II, III e em aVF, em alguns casos, esta onda pode estar maior que a R em CV6LL (TILLEY, 1992; WARE, 2015). A razão entre onda R e S menor que 0,87 na CV6LU também é sugestivo de SVD (FILIPPI, 2011).

O complexo QRS em formato de “W” (Figura 2) é um dos achados que pode ocorrer neste tipo de sobrecarga. A onda T positiva na V10 também é uma alteração descrita na SVD, exceto nos cães da raça Chihuahua em que isto pode ocorrer de forma fisiológica (TILLEY; SMITH, 2008; WARE, 2015).

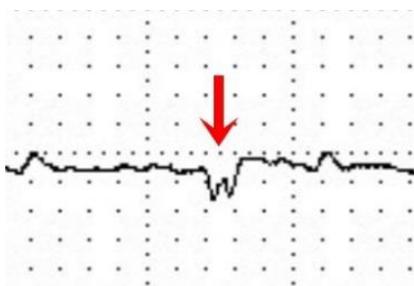


Figura 2: Esquema eletrocardiográfico representativo de um cão com complexo QRS em forma de W em aVL, apontado pela seta. Velocidade: 25 mm/s, amplitude N.
Fonte: Arquivo pessoal (2018).

O desvio de eixo elétrico médio de QRS para direita é um indicativo de aumento do ventrículo direito (VD), sendo que em alguns casos, pode estar associado ao bloqueio de ramo direito (TILLEY; SMITH, 2008).

Achados eletrocardiográficos compatíveis com sobrecargas do ventrículo esquerdo e direito estão associados com a sobrecarga biventricular (FILIPPI, 2011; PASTORE et al., 2016). Embora não haja sinais patognomônicos no traçado, espera-se um ECG mais semelhante ao aumento de VE, acrescidos de outros achados sugestivos de aumento no VD, devido ao predomínio da massa muscular cardíaca esquerda sobre a direita (FILIPPI, 2011).

3 MARCADORES PRECOCES DE ARRITMIA

A dilatação do AE e VE se relacionam com a ocorrência de arritmias, que parece ser estimulada pelo processo de remodelação atrioventricular. Esta é caracterizada pelo aumento da deposição de colágeno e tecido fibroso com conseqüente afastamento dos feixes musculares

e dos cardiomiócitos, prejudicando a microcapilaridade celular que dificulta a entrega de oxigênio às células com consequente hipóxia (BOLDT et al., 2006).

3.1 ARRITMIAS SUPRAVENTRICULARES

Um dos parâmetros avaliados no ECG que atua como um preditor de arritmias supraventriculares, como a FA, é a dispersão de onda P (Pd). Este parâmetro, avaliado na medicina humana, ainda é pouco descrito na medicina veterinária. É realizado por meio do cálculo entre a diferença da duração máxima e mínima da onda P, utilizando uma média de cinco ciclos cardíacos, calculada em todas as derivações. É principalmente indicada para animais com predisposição a desenvolver algum tipo de arritmia supraventricular como cães com cardiomiopatia dilatada, DVCM, doença valvar crônica de tricúspide, além de distúrbios no ritmo sinusal (NOSZCZYK-NOWAK et al., 2011).

Em humanos, a Pd já é utilizada como um índice prognóstico, empregado principalmente nos casos em que se suspeita de FA, sendo capaz de detectar pacientes que ainda não apresentaram doenças cardíacas, mas que possuem risco de desenvolver FA (DILAVÉRIS et al., 1998; DILAVÉRIS; GIALAFOS, 2001; OZER et al., 2000).

Na medicina veterinária, um estudo que utilizou apenas 21 cães saudáveis de diversas raças, determinou uma Pd em até 36 ms (NOSZCZYK-NOWAK et al., 2008). Estudos que compararam cães saudáveis com cães diagnosticados com DVCM, verificaram um valor mais elevado da Pd em cães afetados pela doença, embora não houve correlação significativa entre a Pd e o aumento atrial esquerdo nestes estudos (DITTRICH et al., 2018; NOSZCZYK-NOWAK et al., 2011). Outros autores também observaram valores de Pd significativamente aumentados em cães com FA (NOSZCZYK-NOWAK, 2012b), cães obesos (DITTRICH et al., 2018), cães com epilepsia (MUSTEATA et al., 2017) e cães que receberam ácido zoledrônico (TISDADE et al., 2015).

3.2 ARRITMIAS VENTRICULARES

A excitação cardíaca fisiológica envolve a despolarização ordenada que é conduzida a partir do nodo sinoatrial para o nodo atrioventricular, feixe de Hiss e fibras de Purkinje. Alterações no processo de despolarização ou condução podem predispor ao desenvolvimento

de arritmias (TSE; YAN, 2016). Marcadores baseados nestas anormalidades incluem a duração do complexo QRS e a dispersão do QRS (QRSd) (TSE; YAN, 2016).

A duração do QRS avalia a velocidade de condução, medida no intervalo entre o início e o fim do complexo QRS, medido nas derivações II, CV6LL e CV6LU (KURL et al., 2012). Ao passo que a QRSd avalia a diferença na velocidade de condução entre duas regiões miocárdicas por meio da diferença máxima entre a duração do QRS na CV5RL e CV6LU (PETERS; PETERS; THIERFELDER, 1999).

Em humanos com cardiomiopatia arritmogênica do ventrículo direito foram reportadas diferenças significativas nestes parâmetros quando comparados com pessoas saudáveis. Além disso, a QRSd revelou-se um forte preditor de morte súbita cardíaca (PETERS; PETERS; THIERFELDER, 1999). Resultados semelhantes foram observados em outros estudos realizados em pessoas com cardiomiopatia hipertrófica (BIAGINI et al., 2016; BONGIOANNI et al., 2007; HAGHJOO et al., 2009; OSTMAN-SMITH et al., 2009).

A repolarização cardíaca é dependente do processo de abertura e fechamento dos canais iônicos localizados na membrana plasmática, sendo mediada pelos influxos e efluxos transmembrana dos íons. Este mecanismo determina a duração do intervalo QT, que varia com a FC média e, por esse motivo, deve-se realizar a correção do intervalo QT com base no valor da FC, determinando-se, assim, o QT corrigido (QTc) (TSE; YAN, 2016; WARE, 2015). O prolongamento e a instabilidade do intervalo QT são descritos como preditores de arritmias ventriculares em humanos (BADRAN et al., 2011; DEBONNAIRE et al., 2015; OSTMAN-SMITH et al., 2009) e animais (BRÜLER et al., 2018; ROMITO et al., 2018; VAN DER LINDE et al., 2005; WARE et al., 2015).

Var der Linde et al. (2005) propuseram um método para o cálculo de instabilidade total, instabilidade de curto e longo prazo dos intervalos QT a partir de traçados do ECG de cães anestesiados, refletindo a instabilidade da repolarização. A metodologia deste estudo permitiu não só determinar a presença, mas também quantificar a instabilidade por meio destes três diferentes marcadores de dinâmica de repolarização.

Este método foi utilizado posteriormente em cães com DVCM, em que o prolongamento e a instabilidade do intervalo QT tiveram relação significativa com o desenvolvimento de arritmias ventriculares, sendo que a instabilidade de QT foi maior em estágios mais avançados da doença, período em que os animais são mais susceptíveis a desenvolver arritmias; e o prolongamento do intervalo QT apresentou diferença significativa entre os estágios B1 e B2 da

insuficiência cardíaca congestiva, sendo considerado o primeiro indicador de desordem em um animal assintomático, precedendo a instabilidade de QT (BRÜLER et al., 2018).

O risco para desenvolvimento de arritmias ventriculares malignas aumenta em ambos extremos do intervalo QT, como exemplo das síndromes do QT longo e curto visto em pessoas (TSE; YAN, 2016). Semelhante ao que ocorre em humanos, um estudo que avaliou uma mutação no gene KCNQ1 de uma família de cães da raça English Springer Spaniels observou uma relação positiva do gene mutante com o prolongamento de QT, levando a morte súbita dos animais (WARE et al., 2015).

A dispersão do intervalo QT (QTd) é um marcador pré-clínico da repolarização ventricular, capaz de avaliar a diferença entre a duração do potencial de ação entre duas regiões distintas do miocárdio (TSE; YAN, 2016). É avaliado por meio da diferença entre a duração máxima e a mínima do intervalo QT, calculado em todas as derivações (DENNIS; SUMMERFIELD; BOSWOOD, 2002). Este parâmetro revelou-se um importante preditor de arritmias ventriculares em vários estudos em humanos diagnosticados com cardiomiopatia hipertrófica (BADRAN et al., 2011; BUJA et al., 1993; YI et al., 1998). Em um acompanhamento de 23 anos realizado com pessoas, a QTd foi considerada um preditor independente de morbidade e mortalidade cardiovascular em 221 pacientes com diabetes do tipo I (STETTLER et al., 2007).

Na medicina veterinária, este parâmetro já demonstrou aumento significativo em cães com cardiomiopatia dilatada e cães com arritmias ventriculares (NOSZCZYK-NOWAK, 2012a; PASLAWSKA et al., 2005). Ao passo que, em um estudo avaliando grupos de cães com doenças cardíacas e um grupo sem evidência de cardiopatias, os resultados demonstraram que a dispersão de QT não foi significativamente diferente entre os grupos (DENNIS; SUMMERFIELD; BOSWOOD, 2002).

Outros marcadores eletrocardiográficos de repolarização, como o T_{pico}-T_{final} e o JT_{pico}/JT, que avaliam a repolarização tardia e inicial, respectivamente, têm sido empregados em estudos com humanos e demonstraram resultados promissores na estratificação de populações de risco para desenvolvimento de arritmias ventriculares (CORONEL et al., 2009; WIEGERINCK et al., 2008; XIA et al., 2005). O T_{pico}-T_{final} é medido no intervalo entre o pico e o final da onda T (XIA et al., 2005). Por outro lado, o JT_{pico}/JT é a razão entre o JT pico (intervalo entre o ponto J e pico da onda T) e JT (ponto J até o final da onda T), ambos avaliados nas derivações II, CV6LL e CV6LU (Figura 3) (JOHANNESSEN et al., 2014).

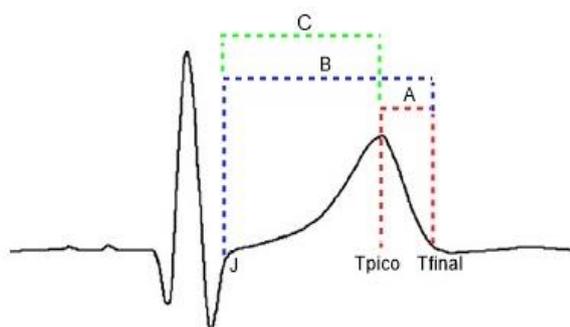


Figura 3: Esquema eletrocardiográfico representativo das medidas eletrocardiográficas Tpico-Tfinal (A), JT (B) e JTpico (C).

Fonte: Arquivo pessoal (2018).

Diversas diferenças eletrocardiográficas têm sido observadas entre as formas benignas e malignas de taquicardia ventricular (HAISSAGUERRE et al., 2002; KNECHT et al., 2009; KUROSAKI et al., 2013; VISKIN et al., 2005). Dentre tais diferenças sugere-se que um intervalo de acoplamento (IA) relativamente curto tem relação com as formas polimórficas malignas de taquicardia ventricular ou fibrilação ventricular. O IA é definido como o intervalo R-R entre o complexo ventricular prematuro e o batimento sinusal que o precede (IGARASHI et al., 2011; KNECHT et al., 2009; VISKIN et al., 2005). Em outra pesquisa, o índice de prematuridade (IP) maior mostrou-se fortemente correlacionado com o desenvolvimento de taquicardia ventricular e/ou fibrilação ventricular em humanos que sofreram infarto agudo do miocárdio. O IP é definido como a razão entre o IA e a duração do ciclo cardíaco sinusal (intervalo R-R sinusal imediatamente precedente ao complexo ventricular prematuro) (Figura 4) (IGARASHI et al., 2011).

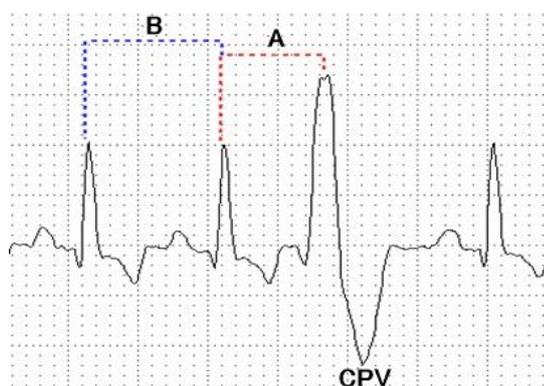


Figura 4: Esquema eletrocardiográfico representativo das medidas eletrocardiográficas de intervalo de acoplamento (A) e duração do ciclo cardíaco sinusal (B), sendo o índice de prematuridade: A/B. Velocidade: 25 mm/s, amplitude N.

Fonte: Arquivo pessoal (2018).

4 REFERÊNCIAS

- BACHAROVA, L. Electrocardiography-left ventricular mass discrepancies in left ventricular hypertrophy: electrocardiography imperfection or beyond perfection? **Journal of Electrocardiology**, v. 42, n. 6, p. 593-596, 2009.
- BADRAN, H. M. et al. Relationship of mechanical dyssynchrony to QT interval prolongation in hypertrophic cardiomyopathy. **European Heart Journal Cardiovascular Imaging**, v. 13, n. 5, p. 423-432, 2011.
- BENDER, S. R. et al. Electrocardiographic left ventricular hypertrophy predicts arrhythmia and mortality in patients with ischemic cardiomyopathy. **Journal of Interventional Cardiac Electrophysiology**, v. 34, n. 3, p. 237-245, 2012.
- BIAGINI, E. et al. Usefulness of electrocardiographic patterns at presentation to predict long-term risk of cardiac death in patients with hypertrophic cardiomyopathy. **American Journal of Cardiology**, v. 118, n. 3, p. 432-439, 2016.
- BOLDT, H. B. et al. Definition, expression, and characterization of a protein domain in the N-terminus of pregnancy-associated plasma protein-A distantly related to the family of laminin G-like modules. **Protein Expression and Purification**, v. 48, n. 2, p. 261-273, 2006.
- BONGIOANNI, S. et al. Relation of QRS duration to mortality in a community-based cohort with hypertrophic cardiomyopathy. **American Journal of Cardiology**, v. 100, n. 3, p. 503-506, 2007.
- BRÜLER, B. C. et al. QT instability, an indicator of augmented arrhythmogenesis, increases with the progression of myxomatous mitral valve disease in dogs. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 20, n. 4, p. 254-266, 2018.
- BUJA, G. et al. Comparison of QT dispersion in hypertrophic cardiomyopathy between patients with and without ventricular arrhythmias and sudden death. **The American Journal of Cardiology**, v. 72, n. 12, p. 973-976, 1993.
- CASALE, P. N. et al. Improved sex-specific criteria of left ventricular hypertrophy for clinical and computer interpretation of electrocardiograms: Validation with autopsy findings. **Circulation**, v. 75, n. 3, p. 565-572, 1987.
- CORONEL, R. et al. Dispersion of repolarization and arrhythmogenesis. **Heart Rhythm**, v. 6, p. 537-543, 2009.
- DEBONNAIRE, P. et al. QRS fragmentation and QTc duration relate to malignant ventricular tachyarrhythmias and sudden cardiac death in patients with hypertrophic cardiomyopathy. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, v. 26, n. 5, p. 547-555, 2015.
- DENNIS, S. G.; SUMMERFIELD, N. J.; BOSWOOD, A. Investigation of QT-interval dispersion in the electrocardiogram of 81 dogs. **Veterinary Record**, v. 151, n. 1, p. 77-82, 2002.

- DILAVERIS, P. E. et al. Clinical investigations simple electrocardiographic markers for the prediction of paroxysmal idiopathic atrial fibrillation. **American Heart Journal**, v. 135, p. 733-738, 1998.
- DILAVERIS, P. E.; GIALAFOS, J. E. P-wave dispersion: A novel predictor of paroxysmal atrial fibrillation. **Annals of Noninvasive Electrocardiology**, v. 6, n. 2, p. 159-165, 2001.
- DITTRICH, G. et al. P wave dispersion in obese dogs with and without mitral valve disease. **Ciência Rural**, v. 48, n. 10, p. 1-8, 2018.
- FILIPPI, L. H. Traçado eletrocardiográfico normal. In: FILIPPI, L. H. **O eletrocardiograma na Medicina Veterinária**. ed. São Paulo: Roca, 2011. p. 69-88.
- FURTADO, F. N. Sobrecargas de câmaras cardíacas. In: CARVALHO, A. C. et al. **Guia de eletrocardiografia com exercícios comentados**. ed. São Paulo: Manole, 2012. p. 61-68.
- HAGHJOO, M. et al. ST-segment depression as a risk factor in hypertrophic cardiomyopathy. **Europace**, v. 11, n. 5, p. 643-649, 2009.
- HAISSAGUERRE, M. et al. Mapping and ablation of idiopathic ventricular fibrillation. **Circulation**, v. 106, n. 8, p. 962-967, 2002.
- IGARASHI, M. et al. Electrocardiographic determinants of the polymorphic QRS morphology in idiopathic right ventricular outflow tract tachycardia. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, v. 23, n. 5, p. 521-526, 2011.
- JOHANNESSEN, L. et al. Differentiating drug-induced multichannel block on the electrocardiogram: randomized study of dofetilide, quinidine, ranolazine, and verapamil. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 96, n. 5, p. 549-558, 2014.
- KNECHT, S. et al. Long-term follow-up of idiopathic ventricular fibrillation ablation a multicenter study. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 54, n. 6, p. 522-528, 2009.
- KURL, S. et al. Duration of QRS complex in resting electrocardiogram is a predictor of sudden cardiac death in men. **Circulation**, v. 125, p. 2588-94, 2012.
- KUROSAKI, K. et al. Positive QRS complex in lead i as a malignant sign in right ventricular outflow tract tachycardia: comparison between polymorphic and monomorphic ventricular tachycardia. **Circulation Journal**, v. 77, n. 4, p. 968-974, 2013.
- LEE, K. S. et al. Relation of electrocardiographic criteria for left atrial enlargement to two-dimensional echocardiographic left atrial volume measurements. **American Journal of Cardiology**, v. 99, n. 1, p. 113-118, 2007.
- LEOMIL NETO, M.; LARSSON, M. H. M. A.; Eletrocardiograma. In: JERICÓ, M. M.; ANDRADE-NETO, J. P.; KOGIKA, M. M. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2015. p. 3232-3261.

MORRIS, J. J. et al. P-Wave analysis in valvular heart disease. **Circulation**, v. 29, n. 2, p. 242-252, 1964.

MUSTEATA, M. et al. Interictal cardiac autonomic nervous system disturbances in dogs with idiopathic epilepsy. **The Veterinary Journal**, v. 228, p. 41-45, 2017.

NOSZCZYK-NOWAK, A. et al. Comparison of P-wave dispersion in healthy dogs, dogs with chronic valvular disease and dogs with disturbances of supraventricular conduction. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 53, n. 18, p. 01-06, 2011.

NOSZCZYK-NOWAK, A. et al. P-wave dispersion in healthy dogs. A preliminary study. **Bulletin of the Veterinay Institute in Pulawy**, v. 52, p. 683-688, 2008.

NOSZCZYK-NOWAK, A. et al. P-wave dispersion in prediction of maintenance of sinus rhythm after an electrical cardioversion of atrial fibrillation in dogs. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v. 56, p. 99-102, 2012b.

NOSZCZYK-NOWAK, A. QTc dispersion and T-wave alternans as predictors of mortality in dogs with dilated cardiomyopathy and ventricular tachycardia in holter monitoring. A retrospective study. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v. 56, p. 189-192, 2012a.

OKIN, P. M. et al. Electrocardiographic identification of increased left ventricular mass by simple voltage-duration products. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 25, n. 2, p. 417-423, 1995.

OSTMAN-SMITH, I. et al. Electrocardiographic amplitudes: a new risk factor for sudden death in hypertrophic cardiomyopathy. **European Heart Journal**, v. 31, n. 4, p. 439-449, 2009.

OZER, N. et al. P wave dispersion in hypertensive patients with paroxysmal atrial fibrillation. **Pacing and Clinical Electrophysiology**, v. 23, p. 1859-1862, 2000.

PASLAWSKA, U. et al. Analysis of corrected QT and dispersion of QTc in dogs suffering from cardiac insufficiency. **Medycyna Weterynaryjna**, v. 62, n. 2, p. 907-910, 2005.

PASTORE, C. A. et al. III Diretrizes da sociedade brasileira de cardiologia sobre análise e emissão de laudos eletrocardiográficos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 106, n. 4, p. 01-23, 2016.

PELLEGRINO, A. et al. Sensibilidade e especificidade do exame eletrocardiográfico na detecção de sobrecargas atriais e/ou ventriculares em gatos da raça Persa com cardiomiopatia hipertrófica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 3, p. 187-196, 2016.

PENALOZA-TRANCHESI, J. **Eletrocardiograma normal e patológico**. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 1972.

PETERS, S.; PETERS, H.; THIERFELDER, L. Risk stratification of sudden cardiac death and malignant ventricular arrhythmias in right ventricular dysplasia-cardiomyopathy. **International Journal of Cardiology**, v. 71, n. 3, p. 243-250, 1999.

- ROMHILT, D. W.; ESTES, E. H. A point-score system for the ECG diagnosis of left ventricular hypertrophy. **American Heart Journal**, v. 75, n. 6, p. 752-758, 1968.
- ROMITO, G. et al. Diagnostic and prognostic utility of surface electrocardiography in cats with left ventricular hypertrophy. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 20, n. 5, p. 364-375, 2018.
- ROWIN, E. J. et al. Significance of false negative electrocardiograms in preparticipation screening of athletes for hypertrophic cardiomyopathy. **American Journal of Cardiology**, v. 110, n. 7, p. 1027-1032, 2012.
- SAVARINO, P. et al. Diagnostic performance of P wave duration in the identification of left atrial enlargement in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 53, n. 1, p. 267-272, 2012.
- SCHOBER, K. E. et al. Diagnostic accuracy of electrocardiography and thoracic radiography in the assessment of left atrial size in cats: comparison with transthoracic 2-dimensional echocardiography. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 4, p. 709-718, 2007.
- SODI-PALLARES, D.; BISTENI, A.; HERMAMM, G. R. Some views on the significance of qR and QR complexes in right precordial leads in the absence of myocardial infarction. **American Heart Journal**, v. 43, n. 5, p. 716-734, 1962.
- SOKOLOW, M.; LYON, T. P. The ventricular complex in left ventricular hypertrophy as obtained by unipolar precordial and limb leads. **American Heart Journal**, v. 37, n. 2, p. 161-186, 1949.
- SOTO-BUSTOS, Á. et al. Diagnostic accuracy of electrocardiographic P wave related parameters in the assessment of left atrial size in dogs with degenerative mitral valve disease. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 79, n. 10, p. 1682-1689, 2017.
- STETTLER, S. et al. QTc interval and resting heart rate as long-term predictors of mortality in type 1 and type 2 diabetes mellitus: a 23-year follow-up. **Diabetologia**, v. 50, p. 186-194, 2007.
- TILLEY, L.P. **Essentials of canine and feline electrocardiography: interpretation and treatment**. 3. ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1992. 470p.
- TILLEY, L. P.; SMITH, F. Electrocardiography. In: TILLEY, L. P. et al. **Manual of canine and feline cardiology**. 4. ed. Missouri: Saunders, 2008. p. 49-77.
- TISDADE, J. E. et al. Influence of zoledronic acid on atrial electrophysiological parameters and electrocardiographic measurements. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, v. 26, n. 6, p. 671-677, 2015.
- TSAO, C. W. et al. Accuracy of electrocardiographic criteria for atrial enlargement: validation with cardiovascular magnetic resonance. **Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance**, v. 10, n. 1, p. 1-7, 2008.
- TSE, G.; YAN, B. P. Traditional and novel electrocardiographic conduction and repolarization markers of sudden cardiac death. **Europace**, v. 19, n. 5, p. 712-721, 2016.

VAN DER LINDE, H. et al. A new method to calculate the beat-to-beat instability of QT duration in drug-induced long QT in anesthetized dogs. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 52, n. 1, p. 168-177, 2005.

VISKIN, S. et al. The “short-coupled” variant of right ventricular outflow ventricular tachycardia: A not-so-benign form of benign ventricular tachycardia? **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, v. 16, n. 8, p. 912-916, 2005.

WARE, W. A.; Doenças do sistema cardiovascular. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p. 1-206.

WARE, W. A. et al. Sudden death associated with QT interval prolongation and KCNQ1 gene mutation in a family of english springer spaniels. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 29, n. 2, p. 561-568, 2015.

WIEGERINCK, R. F. et al. Transmural dispersion of refractoriness and conduction velocity is associated with heterogeneously reduced connexin43 in a rabbit model of heart failure. **Heart Rhythm**, v. 5, p. 1178-1185, 2008.

WOLF, R.; CAMACHO, A. A.; SOUZA, R. C. A. Eletrocardiografia computadorizada em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 6, p. 610-615, 2000.

XIA, Y. et al. Tpeak - tend interval as an index of global dispersion of ventricular repolarization: evaluations using monophasic action potential mapping of the epi- and endocardium in swine. **Journal of Interventional Cardiac Electrophysiology**, v. 14, p. 79–87, 2005.

YI, G. et al. QT dispersion and risk factors for sudden cardiac death in patients with hypertrophic cardiomyopathy. **American Journal of Cardiology**, v. 82, n. 12, p. 1514-1519, 1998.



Capítulo 8

Achados eletrocardiográficos nas principais cardiopatias adquiridas em cães e gatos – revisão de literatura

Franciely Mota de Oliveira¹
Caio Vaz Baqui Lima²
Driéle Lutzke³
Hévilá Dutra Barbosa de Cerqueira⁴
Karina Preising Aptekmann⁵

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

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

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

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: hevila.veterinaria@hotmail.com

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: kapreising@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

O eletrocardiograma (ECG) é um exame complementar não invasivo que registra toda a atividade elétrica originada pelo coração a partir da superfície corpórea. Assume grande importância na medicina veterinária como método de diagnóstico e monitorização de alterações cardíacas (CARVALHO et al., 2009; LEOMIL NETO; LARSSON, 2015). É uma ferramenta de diagnóstico bastante acessível, fácil de se realizar, de baixo custo e amplamente difundido (PELLEGRINO et al., 2016; SOTO-BUSTOS et al., 2017).

Pode ser utilizado na detecção de arritmias, distúrbios de condução elétrica, acompanhamento de terapia antiarrítmica, detecção de alterações de câmaras cardíacas, desordens metabólicas e eletrolíticas. É também realizado rotineiramente em animais cujo exame físico ou histórico clínico sugerem a presença de uma cardiopatia, na avaliação pré, trans e pós-operatória, e para os animais com mais de seis anos de idade, devido ao aumento de incidência de arritmias assintomáticas e doenças cardíacas adquiridas (FURTADO, 2012; LEOMIL NETO; LARSSON, 2015).

Distúrbios cardiovasculares são cada vez mais frequentes em cães e gatos, sendo as cardiopatias adquiridas mais comumente relatadas nestas espécies (BAUMGARTNER; GLAUS, 2004). O conhecimento das possíveis alterações eletrocardiográficas das diversas cardiopatias é de fundamental importância para o clínico de pequenos animais, auxiliando na formulação de diagnósticos diferenciais e detecção dessas afecções mais precocemente, o que pode contribuir para o prognóstico dessas doenças.

2 DOENÇAS CARDÍACAS ADQUIRIDAS

Dentre as principais doenças cardíacas adquiridas em cães e gatos estão a doença valvar crônica de mitral (DVCM), cardiomiopatia dilatada (CMD), cardiomiopatia hipertrófica (CMH), cardiomiopatia arritmogênica do ventrículo direito (CMAVD) e efusão pericárdica (EP) (BAUMGARTNER; GLAUS, 2004), seguem os achados eletrocardiográficos em cada uma delas.

2.1 DOENÇA VALVAR CRÔNICA DE MITRAL

A DVCM, também denominada de endocardiose de mitral, é uma doença caracterizada por degeneração mixomatosa crônica dos folhetos valvares ou das cordoalhas tendíneas, onde ocorre perda da arquitetura valvar normal, com substituição da camada fibrosa por tecido mixomatoso. É considerada a enfermidade cardiovascular mais comum entre os cães e a maior causa de morte em pacientes geriátricos. Geralmente acomete animais de pequeno porte entre 8 e 11 anos de idade, sendo mais prevalente em machos. Dentre as raças mais acometidas, encontram-se o Poodle, Schnauzer, Chihuahua, Lulu da Pomerânia, Fox Terrier, Cocker Spaniel, Pequinês, Boston Terrier, Pinscher Miniatura, Whippet e Cavalier King Charles Spaniel, raças de grande porte como os Pastores Alemães também podem ser afetados (KEENE et al., 2019).

A valva mitral normal garante que todo o volume de sangue que chega ao ventrículo esquerdo (VE) seja direcionado a artéria aorta (Ao) por meio de uma perfeita coaptação dos folhetos durante a sístole. Para o fechamento adequado é necessário um aparato valvar anatômico e funcional íntegro. Cães com DCVM apresentam insuficiência de valva mitral e, parte do sangue que seria direcionado para a Ao sofre refluxo para o átrio esquerdo (AE), pelo orifício atrioventricular esquerdo durante a sístole ventricular. A quantidade de sangue que vai retornar para o AE depende do diâmetro do orifício, da pressão atrial e ventricular esquerda e da ejeção ventricular pela Ao (BICHARA et al., 2009).

Em estágios mais avançados da doença, há ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona, com sobrecarga de volume, dilatação atrial esquerda e dilatação do anel valvar. O aumento da pressão atrial esquerda resulta em congestão venosa pulmonar e edema. A sobrecarga de volume promove o remodelamento ventricular esquerdo, com hipertrofia excêntrica e disfunção ventricular esquerda com consequente insuficiência cardíaca congestiva (ICC) esquerda (CHAMAS; SALDANHA; COSTA, 2011; HAGGSTRÖM et al., 2008).

A presença de uma onda *P mitrale* (onda P com duração aumentada) é um dos achados compatíveis com a DCVM, como observado em alguns estudos avaliando cães com a doença (SOARES; LARSSON; YAMATO, 2005; SOTO-BUSTOS, 2017). Essa alteração ocorre em razão da dilatação atrial esquerda decorrente do processo de remodelação, que é caracterizado pelo aumento da deposição de colágeno e de tecido fibrótico com consequente afastamento dos feixes musculares e dos cardiomiócitos, prejudicando a microcapilaridade celular, o que dificulta a entrada de oxigênio das células e consequente hipóxia (BOLDT et al., 2006).

Parâmetros extrapolados da medicina humana, indicativos de aumento atrial esquerdo, como o eixo elétrico médio de onda P e índice de Macruz foram avaliados em cães com a doença, sendo capazes de sugerir sobrecarga atrial esquerda, no entanto a ausência destes parâmetros não exclui o aumento do AE (SOTO-BUSTOS et al., 2017).

Em casos mais avançados, quando a pressão vascular pulmonar aumenta devido à ICC esquerda crônica, pode contribuir para uma insuficiência na valva tricúspide, levando ao desenvolvimento de ICC direita (WARE, 2015). Neste caso, pode-se encontrar um aumento da amplitude de onda P associada ao aumento de duração desta onda, indicativo de sobrecarga biatrial (TILLEY; SMITH, 2008).

O aumento ventricular esquerdo representado pelo aumento da duração do complexo QRS e/ou aumento da voltagem (principalmente da onda R) configura outra alteração eletrocardiográfica desta doença (TILLEY; SMITH, 2008). O eixo elétrico médio de QRS pode estar normal ou apresentar um deslocamento para a esquerda devido a hipertrofia excêntrica do VE (WARE, 2015). Além disso, pode-se notar um entalhe no ramo descendente da onda R (Figura 1) decorrente de um infarto intramural no miocárdio (FILIPPI, 2011).

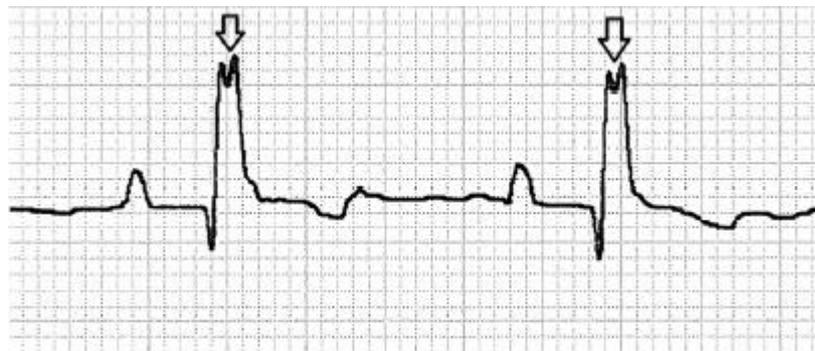


Figura 1: Esquema eletrocardiográfico representativo de um cão com entalhe no complexo QRS. As setas apontam para o entalhe na onda R na derivação III. Ajuste de calibração 10 mm/mV. Velocidade do papel 50 mm/s. Fonte: Winter; Bates (2018).

Cães acometidos pela DCVM podem apresentar ritmo sinusal, contudo é comum a presença de taquicardia sinusal, que ocorre como resposta do coração para repor o equilíbrio hemodinâmico alterado pela diminuição do débito cardíaco provocado pela ICC consequente à DCVM (WARE, 2015). Além disso, pode-se observar uma relação inversa entre a sobrecarga atrial esquerda (SAE) e a presença de arritmia sinusal respiratória, como observado em um estudo com cães da raça Cavalier King Charles Spaniel, que concluiu que o desaparecimento da variação fisiológica da FC ocorre com o aumento da gravidade da doença e paralelamente ao aumento da FC (RASMUSSEM et al., 2011).

Dentre as arritmias supraventriculares, a presença de complexos supraventriculares como a taquicardia atrial e a fibrilação atrial (FA) são típicos e sugestivos de sobrecarga atrial e são mais comuns nos estágios mais avançados da doença (RASMUSSEN et al., 2012; WARE, 2015). Geralmente, a frequência de arritmias ocorre secundariamente à ICC devido ao remodelamento atrioventricular (BRÜLER et al., 2018).

Um novo parâmetro eletrocardiográfico, a dispersão da onda P (Pd), tem sido empregado na avaliação de arritmias supraventriculares, atuando como um preditor da FA. Em estudos com cães este parâmetro apresentou-se mais elevado nos animais diagnosticados com DCVM, quando comparado com cães saudáveis (DITTRICH et al., 2018; NOSZCZYK-NOWAK et al., 2011).

Dentre as arritmias ventriculares, podem ocorrer complexos ventriculares prematuros (CVP) unifocais ou multifocais ou taquicardia ventricular paroxística (FILIPPI, 2011). O prolongamento do intervalo QT é descrito em cães e gatos com arritmias ventriculares que é uma das causas mais frequentes de morte súbita, sendo uma das principais preocupações na medicina cardiovascular (ROMITO et al., 2018). Em um estudo que avaliou a instabilidade e prolongamento deste intervalo em cães com DCVM identificou-se uma relação significativa a mortalidade dos animais devido ao desenvolvimento de arritmias ventriculares, concluindo que estes parâmetros podem ser úteis na determinação do prognóstico de pacientes com a doença (BRÜLER et al., 2018).

2.2 CARDIOMIOPATIA DILATADA EM CÃES

A CMD é uma doença miocárdica primária progressiva que resulta em dilatação das câmaras cardíacas e disfunção sistólica, muitas vezes levando à ICC e óbito (SIMPSON et al., 2015). Sem nenhuma causa conhecida, esta doença afeta principalmente raças grandes e gigantes, porém, também pode estar presente em raças menores. Dentre as raças mais predispostas encontram-se o Doberman Pinscher (WESS et al., 2017), mas já descrita nas raças Boxer, Dogue Alemão, São Bernardo, Deerhound Escocês, Cocker Spaniel, Wolfhound Irlandês, Labrador Retriever, Terra Nova e Buldogues (WARE, 2015).

Conforme a função de bomba sistólica e o débito cardíaco se agravam, e os mecanismos compensatórios são ativados, ocorre dilatação progressiva da câmara cardíaca (remodelamento). Esses mecanismos aumentam a FC, a resistência vascular periférica e a

retenção de volume. A perfusão coronariana pode ser comprometida pelo baixo fluxo sanguíneo anterógrado e pela pressão ventricular diastólica elevada. Além disso, a isquemia miocárdica compromete a função miocárdica e predispõe ao desenvolvimento de arritmias. Manifestações clínicas devido a diminuição no débito cardíaco e ICC direita ou esquerda são comuns em cães com a doença (BORGARELLI et al., 2001).

No ECG, pode se observar um aumento da duração da onda P e do complexo QRS, estas alterações são sugestivas de sobrecarga de AE e VE, respectivamente. A amplitude da onda R pode estar aumentada, normal ou ainda apresentar-se reduzida (WARE, 2015). Uma onda R maior que 3,0 mV na derivação II é um indicativo de sobrecarga do VE, contudo, se apresentar baixa voltagem pode ser sugestiva de efusão pleural (TILLEY; SMITH, 2008). Esta baixa voltagem das ondas R em consequência de uma degeneração miocárdica global pode ocorrer nos estágios mais avançados da doença (FILIPPI, 2011). A depressão no segmento ST pode estar associada a isquemia miocárdica ou a insuficiência cardíaca (WARE, 2015).

Apesar da CMD ser pouco descrita em raças de pequeno e médio porte, em cães da raça Cocker Spaniels já foram descritos aumento da amplitude de onda R, infradesnível do segmento ST, maior profundidade de onda Q e aumento de duração do complexo QRS (PEREIRA et al., 2004). O traçado eletrocardiográfico pode também apresentar padrão de bloqueio de ramo ou outro distúrbio de condução intraventricular (FILIPPI, 2011; WARE, 2015).

Pode-se encontrar uma taquicardia sinusal devido ao elevado nível de catecolaminas circulantes que aumentam a condutividade do nodo atrioventricular. Em cães com CMD, verificou-se uma FC média de 175 batimentos por minuto (bpm), sendo que em animais que já estavam em um estágio avançado de insuficiência cardíaca, esse valor foi ainda mais elevado (MARTIN; STAFFORD JOHNSON; CELONA, 2009).

A FA é identificada com frequência em cães com CMD e geralmente surge repentinamente com os sintomas clínicos, acredita-se que isto ocorra pelo fato de que os animais se encontram em uma fase compensada da doença, também conhecida como fase oculta, e o desenvolvimento da FA desencadeia uma descompensação e aparecimento dos sinais clínicos. Contudo, esta alteração pode permanecer no animal afetado como uma arritmia subclínica, sendo tolerada de meses a anos antes do desenvolvimento da ICC (BORGARELLI et al., 2001; O'GRADY; O'SULLIVAN, 2004).

Os CVPs são comumente documentados em animais com CMD. Para esta alteração, assume-se que o monitoramento por Holter de 24 horas torna-se útil no registro de CVPs frequentes e vem sendo empregado principalmente como ferramenta de rastreamento da doença

em Doberman Pinschers, já que esta raça apresenta uma forma mais grave da doença e provável caráter hereditário. Acredita-se que para esta raça, valores menores que 50 CVPs isolados em 24 horas são considerados normais e os valores entre 50 e 300 CVPs por 24 horas é uma evidência para desenvolvimento de CMD oculta (WESS et al., 2017).

2.3 CARDIOMIOPATIA HIPERTRÓFICA EM GATOS

A CMH caracteriza-se pela hipertrofia ventricular esquerda, sem dilatação. É considerada a cardiopatia mais comum dos felinos e geralmente está associada ao desenvolvimento de insuficiência cardíaca, tromboembolismo e morte súbita (ROMITO et al., 2018).

É uma doença idiopática, sem predisposição racial nos felinos, sendo os machos os mais acometidos. Em gatos da raça Maine Coon, a afecção pode estar associada à mutação autossômica dominante em genes que codificam as proteínas do sarcômero (HAGGSTRÖM; FUENTES; WESS, 2015; MEURS et al., 2005). Na maioria dos gatos, a hipertrofia ocorre de forma simétrica, porém alguns podem desenvolver um espessamento assimétrico septal e outros poucos tem hipertrofia restrita à parede livre ou músculos papilares (WARE, 2015).

A hipertrofia concêntrica diminui o tamanho das câmaras cardíacas, além de restringir a capacidade de dilatação ventricular durante a diástole, causando redução do enchimento ventricular e limitando o volume ejetado. Dessa forma, pressões diastólicas aumentadas são necessárias devido à rigidez e à menor distensibilidade ventricular (CHETBOUL; BUSSADORI; MADRON, 2015).

Consequente ao aumento de pressão de enchimento do VE, há aumento do AE e subsequente ICC. A estase sanguínea no interior do átrio pode resultar na formação de trombos que embora possam permanecer no apêndice atrial, alguns podem causar uma tromboembolia arterial sistêmica, sendo uma das principais complicações da doença nos gatos (PAYNE et al., 2015; SILVA et al., 2009). Com o avanço da doença, ocorre aumento da pressão venosa pulmonar e edema pulmonar. (KANESHIGE et al., 2006).

Gatos com essa doença miocárdica, podem apresentar diminuição da luz das artérias coronarianas caracterizada pelo remodelamento devido à hipertrofia miocárdica favorecendo a formação de isquemia. Esta prejudica o relaxamento ventricular ativo e causa aumento da pressão de enchimento ventricular, predispondo à fibroses e arritmias (WARE, 2015).

Pode-se observar um traçado eletrocardiográfico sem alterações. No entanto, alterações eletrocardiográficas como presença de onda P *mitrale*, indicando um aumento atrial esquerdo; complexos QRS com duração aumentada na derivação II, amplitude de onda R elevada nas derivações II, CV6LL e CV6LU, são achados sugestivos de sobrecarga ventricular esquerda (SVE) e foram documentados em felinos com a doença (PELLEGRINO et al., 2016). O aumento de duração de onda P e do complexo QRS também já foram descritos em outros estudos (BRIGHT; GOLDEN; DANIEL, 1992; KANESHIGE et al., 2006).

O ECG pode apresentar sinais de isquemia miocárdica, bradicardia sinusal, taquicardia sinusal, distúrbios de condução, como bloqueio atrioventricular de 1º grau, padrão de bloqueio fascicular anterior esquerdo, arritmias ventriculares e supraventriculares como relatado em um estudo avaliando gatos com CMH (BRIGHT; GOLDEN; DANIEL, 1992). Resultado semelhante foi descrito em outro estudo que comparou gatos saudáveis e gatos acometidos pela doença por meio de avaliação com Holter 24 horas, observando uma média de arritmias ventriculares e supraventriculares muito mais elevada nos gatos com CMH do que nos gatos sem a doença (JACKSON et al., 2014). O bloqueio atrioventricular de 1º grau também foi documentado em um estudo que avaliou o ECG de felinos com a doença (KANESHIGE et al., 2006). A literatura descreve ainda achados eletrocardiográficos compatíveis com o desvio de eixo cardíaco médio para a esquerda e síndrome de Wolff-Parkinson-White (pré-excitação ventricular) (FILIPPI, 2011; HAGGSTRÖM; FUENTES; WESS, 2015).

Em humanos com CMH, alguns parâmetros eletrocardiográficos têm sido estudados como marcadores precoces da doença. O prolongamento e a dispersão do intervalo QT estão sendo utilizados como preditores de arritmias ventriculares em uma variedade de populações de pacientes com esta doença (BADRAN et al., 2011; DEBONNAIRE et al., 2015; HAGHJOO et al., 2009; OSTMAN-SMITH et al., 2009). A depressão do segmento ST, aumento na duração e alteração na voltagem do complexo QRS, ondas T aumentadas e invertidas, alterações de onda Q e anormalidades de repolarização (QST) também são parâmetros preditores do prognóstico da doença (BIAGINI et al., 2016; HAGHJOO et al., 2009; LAKDAWALA et al., 2011; OSTMAN-SMITH et al., 2009).

2.4 CARDIOMIOPATIA ARRITMOGÊNICA DO VENTRÍCULO DIREITO EM CÃES

A CMAVD consiste em um processo degenerativo do miocárdio, caracterizado pela infiltração fibroadiposa no miocárdio do ventrículo direito (VD), gerando áreas propensas à formação de arritmias ventriculares. O diagnóstico ocorre geralmente em animais adultos, podendo ser assintomáticos ou desenvolver síncope, intolerância ao exercício, arritmias ventriculares, ICC, morte súbita ou disfunção miocárdica (CORRADO; LINK; CALKINS, 2017; MEURS et al., 2014; MEURS, 2017).

A doença nos cães da raça Boxer geralmente tem alterações mais extensas do que em outras raças. A doença nestes animais pode estar associada a uma deleção no gene da estriatina, localizada no cromossomo 17 que foi observada em 94% dos cães com a doença, embora também estava presente em 24% dos animais saudáveis (MEURS et al., 2010; MEURS et al., 2014). Desta forma, ainda não está claramente definido se a mutação é a causa ou apenas um marcador da doença (CATTANACH et al., 2015).

Pessoas e cães afetados pela CMAVD são altamente predispostos à morte súbita, e em alguns casos, como a primeira manifestação da doença (CORRADO; LINK; CALKINS, 2017; MEURS et al., 2014). Pesquisas demonstram fortes semelhanças clínicas e patológicas da enfermidade em pessoas e Boxers, o que torna essa raça um modelo animal natural para o estudo da CMAVD (BASSO et al., 2004; MEURS, 2004).

Em Boxers, o diagnóstico é baseado na presença de taquiarritmias no ECG, histórico de síncope ou intolerância ao exercício, histórico familiar da doença e confirmação histopatológica *post mortem* de infiltração fibroadiposa no miocárdio (MEURS, 2004). Geralmente os achados eletrocardiográficos mais comuns são CVPs originados no VD e possuem morfologia de bloqueio de ramo esquerdo (KRAUS et al., 2002), podem estar presentes de forma isolada, em pares ou trios, taquicardia ventricular (maior que 3 CVPs sequencialmente) paroxística ou ainda sustentada (MEURS, 2004; MEURS, 2017). Ocasionalmente podem ocorrer taquiarritmias supraventriculares como a fibrilação atrial (HARPSTER, 1991). Contudo, em razão das arritmias poderem se apresentar de forma intermitente ou mesmo isolada, o ECG pode apresentar-se sem alterações, assim, um Holter 24 horas torna-se parte importante na triagem, diagnóstico e monitoramento da CMAVD (MEURS, 2017; WARE, 2015).

Uma vez que a doença nos Boxers pode ser assintomática (categoria I ou forma oculta) em muitos animais acometidos, além do histórico familiar da doença nem sempre ser conhecido em cães, o diagnóstico clínico da CMAVD muitas vezes passa a ser baseado na quantidade e complexidade dos CVP no Holter de 24 horas (MEURS, 2004). Atualmente não há consenso sobre o número de CVP em 24 horas como ponto de corte para o diagnóstico da CMAVD em

Boxers (WARE, 2015). Alguns autores baseiam-se em guidelines do *American College of Veterinary Internal Medicine Forum* (2009), e consideram que Boxers com mais de 300 CVP por 24 horas tem predisposição para o desenvolvimento da CMAVD, enquanto entre 50 e 300 CVP por 24 horas a doença não pode ser descartada, sugestivo de CMAVD na forma oculta (MEURS et al., 2014). Outros estudos sugerem que mais de 100 CVP por 24 horas no Boxer adulto pode classificá-lo como provavelmente afetado, principalmente nos animais com taquicardia ventricular sustentada ou maior complexidade (bigeminismo, trigeminismo) (MEURS, 2004; MEURS, 2017).

Em humanos, diversos marcadores eletrocardiográficos têm sido estudados como ferramenta diagnóstica e na estratificação de risco em indivíduos com arritmias ventriculares. Dentre tais marcadores, destacam-se a dispersão e duração do complexo QRS que avaliam a fase de despolarização ventricular; a dispersão do intervalo QT, o JT_{pico}/JT, T_{pico}-T_{final} que avaliam a fase de repolarização ventricular (CORONEL et al., 2009; KIM et al., 2014; PETERS; PETERS; THIERFELDER, 1999; TSE et al., 2016). Além destes, marcadores como o intervalo de acoplamento e índice de prematuridade demonstraram forte correlação com o desenvolvimento de arritmias ventriculares, como taquicardia ventricular e fibrilação ventricular em pessoas (IGARASHI et al., 2011; KUROSAKI et al., 2013; VISKIN et al., 2005).

2.5 EFUSÃO PERICÁRDICA

A EP é definida como o acúmulo anormal de líquido no saco pericárdico e constitui a alteração pericárdica mais comum em cães (WARE, 2015). Essa doença pode ser classificada quanto sua etiologia neoplásica, compostas principalmente pelos hemangiossarcoma, quimiodectoma e mesotelioma, e não neoplásica, como ocorre na efusão idiopática, processos infecciosos, traumas, insuficiência cardíaca direita, dentre outras. Contudo, as neoplasias e EP idiopática são as causas mais comuns dessa alteração em cães (SHAW; RUSH, 2007).

O acúmulo de fluido no saco pericárdico resulta em aumento da pressão intra-pericárdica, impedindo o adequado relaxamento do coração durante a diástole. Com o relaxamento inadequado ocorre prejuízo no enchimento do VD causando tamponamento cardíaco e consequentemente, sinais de ICC resultantes da diminuição do retorno venoso. O

volume sistólico também diminui, culminando na diminuição transitória do débito cardíaco e da pressão arterial sistêmica (GUNASEKARAN et al., 2019).

Em um estudo realizado em cães com EP, notou-se que as anormalidades mais comuns foram a redução da amplitude do complexo QRS (onda R menor que 1 mV na derivação II), alternância elétrica, taquicardia sinusal (decorrente do baixo débito cardíaco devido a falha no enchimento ventricular) e arritmias ventriculares (MACDONALD; CAGNEY; MAGNE, 2009). Além destas alterações, a literatura descreve um supradesnivelamento do segmento ST, como resultado da compressão do líquido na musculatura subepicárdica adjacente; infradesnivelamento do segmento PR nas derivações I, II, III e aVF (principalmente quando o átrio subepicárdico já foi acometido). Apesar disso, as alterações eletrocardiográficas na doença são consideradas inespecíficas e variáveis, sendo que um ECG com parâmetros dentro do valor de normalidade para a espécie não descarta a presença de EP (FILIPPI, 2011; WARE, 2015).

3 REFERÊNCIAS

BADRAN, H. M. et al. Relationship of mechanical dyssynchrony to QT interval prolongation in hypertrophic cardiomyopathy. **European Heart Journal Cardiovascular Imaging**, v. 13, n. 5, p. 423-432, 2011.

BASSO, C. et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy causing sudden cardiac death in boxer dogs a new animal model of human disease. **Circulation**, v. 109, n. 9, p. 1180–1186, 2004.

BAUMGARTNER, C.; GLAUS, T. M. Erworbene herzerkrankungen beim hund: eine retrospektive analyse. **Schweiz Arch Tierheilkd**, v. 146, n. 9, p. 423-430, 2004.

BIAGINI, E. et al. usefulness of electrocardiographic patterns at presentation to predict long-term risk of cardiac death in patients with hypertrophic cardiomyopathy. **American Journal of Cardiology**, v. 118, n. 3, p. 432-439, 2016.

BICHARA, V. M. et al. Manejo contemporâneo de la insuficiência mitral severa. **Insuficiência Cardíaca**, v. 4, n. 3, p. 114-122, 2009.

BOLDT, A. et al. ACE-inhibitor treatment attenuates atrial structural remodeling in patients with lone chronic atrial fibrillation. **Basic Research in Cardiology**, v. 101, p. 261-267, 2006.

BORGARELLI, M. et al. Canine idiopathic dilated cardiomyopathy . Part II: Pathophysiology and therapy. **The Veterinary Journal**, v. 162, p. 182-195, 2001.

BRIGHT, J. M.; GOLDEN, A. L.; DANIEL, G. B. Feline hypertrophic cardiomyopathy: variations on a theme. **Journal of Small Animal Practice**, v. 33, p. 266-274, 1992.

- BRÜLER, B. C. et al. QT instability, an indicator of augmented arrhythmogenesis, increases with the progression of myxomatous mitral valve disease in dogs. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 20, n. 4, p. 254-266, 2018.
- CARVALHO, C. F. et al. Eletrocardiografia pré-operatória em 474 cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 3, p. 590-597, 2009.
- CATTANACH, B. M. et al. A pedigree-based genetic appraisal of boxer ARVC and the role of the Striatin mutation. **The Veterinary Record**, v. 176, n. 19, p. 492-492, 2015.
- CHETBOUL, V.; BUSSADORI, C.; MADRON, E. **Clinical echocardiography of the dog and cat**. 1. ed. Amsterdã: Elsevier, 2015, 348 p.
- CORONEL, R. et al. Dispersion of repolarization and arrhythmogenesis. **Heart Rhythm**, v. 6, p. 537-543, 2009.
- CORRADO, D.; LINK, M. S.; CALKINS, H. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. **The New England Journal of Medicine**, v. 376, n. 1, p. 61-72, 2017.
- DEBONNAIRE, P. et al. QRS fragmentation and QTc duration relate to malignant ventricular tachyarrhythmias and sudden cardiac death in patients with hypertrophic cardiomyopathy. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, v. 26, n. 5, p. 547-555, 2015.
- DITTRICH, G. P wave dispersion in obese dogs with and without mitral valve disease. **Ciência Rural**, v. 48, p. 1-8, 2018.
- FILIPPI, L. H. Traçado eletrocardiográfico normal. In: FILIPPI, L. H. **O eletrocardiograma na Medicina Veterinária**. ed. São Paulo: Roca, 2011. p. 69-88.
- FURTADO, F. N. Sobrecargas de câmaras cardíacas. In: CARVALHO, A. C. et al. **Guia de eletrocardiografia com exercícios comentados**. ed. São Paulo: Manole, 2012. p. 61-68.
- GUNASEKARAN, T. et al. Pericardial effusion in a dog with pericardial hemangiosarcoma. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 23, p. 81-87, 2019.
- HAGGSTRÖM, J. et al. Effect of pimobendan or benazepril hydrochloride on survival times in dogs with congestive heart failure caused by naturally occurring myxomatous mitral valve disease: the QUEST study. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, p. 1124-1135, 2008.
- HAGGSTRÖM, J.; FUENTES, V. L.; WESS, G.; Screening for hypertrophic cardiomyopathy in cats. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 17, p. 134-149, 2015.
- HAGHJOO, M. et al. ST-segment depression as a risk factor in hypertrophic cardiomyopathy. **Europace**, v. 11, n. 5, p. 643-649, 2009.
- HARPSTER, N. K. Boxer cardiomyopathy. **The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 21, p. 989-1004, 1991.
- IGARASHI, M. et al. Electrocardiographic determinants of the polymorphic QRS

morphology in idiopathic right ventricular outflow tract tachycardia. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, v. 23, n. 5, p. 521-526, 2011.

JACKSON, B. L. Heart rate and arrhythmia frequency of normal cats compared to cats compared to cats with asymptomatic hypertrophic cardiomyopathy. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 16, p. 215-225, 2014.

KANESHIGE, T. et al. The anatomical basis of complete atrioventricular block in cats with hypertrophic cardiomyopathy. **Journal of Comparative Pathology**, v. 135, p. 25-31, 2006.

KEENE, B. W. et al. ACVIM consensus guidelines for the diagnosis and treatment of myxomatous mitral valve disease in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 33, p. 1127-1140, 2019.

KIM, Y. R. et al. Second coupling interval of nonsustained ventricular tachycardia to distinguish malignant from benign outflow tract ventricular tachycardias. **Heart Rhythm**, v. 11, p. 2222-2230, 2014.

KRAUS, M. S. et al. Morphology of ventricular arrhythmias in the boxer as measured by 12-lead electrocardiography with pace-mapping comparison. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, n. 2, p. 153–158, 2002.

KUROSAKI, K. et al. Positive QRS complex in lead i as a malignant sign in right ventricular outflow tract tachycardia: comparison between polymorphic and monomorphic ventricular tachycardia. **Circulation Journal**, v. 77, n. 4, p. 968-974, 2013.

LAKDAWALA, N. K. et al. Electrocardiographic features of sarcomere mutation carriers with or without clinically overt hypertrophic cardiomyopathy. **American Journal of Cardiology**, v. 108, n. 1, p. 1606-1613, 2011.

LEOMIL NETO, M.; LARSSON, M. H. M. A.; Eletrocardiograma. In: JERICÓ, M. M.; ANDRADE-NETO, J. P.; KOGIKA, M. M. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2015. p. 3232-3261.

MACDONALD, K. A.; CAGNEY, O.; MAGNE, M. L. Echocardiographic and clinicopathologic characterization of pericardial effusion in dogs: 107 cases (1985–2006). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 235, n. 12, p.1456-1461, 2009.

MARTIN, M. W. S.; STAFFORD JOHNSON, M. J.; CELONA, B. Canine dilated cardiomyopathy: a retrospective study of signalment, presentation and clinical findings in 369 cases. **Journal of Small Animal Practice**, v. 50, n. 1, p. 23-29, 2009.

MEURS, K. M. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in the boxer dog: an update. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 47, n. 5, p. 1103-1111, 2017.

_____. Boxer dog cardiomyopathy: an update. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 34, n. 5, p. 1235–1244, 2004.

MEURS, K. M. et al. A cardiac myosin binding protein C mutation in the maine coon cat with

familial hypertrophic cardiomyopathy. **Human Molecular Genetics**, v. 14, n. 23, p. 3587-3593, 2005.

MEURS, K. M. et al. Genome-wide association identifies a mutation in the 3' untranslated region of striatin, a desmosomal gene, in a canine arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy model of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. **Human Genetics**, v. 20, p. 315-324, 2010.

MEURS, K. M. et al. Natural history of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in the boxer dog: a prospective study. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, p. 1214-1220, 2014.

MEURS, K. M. et al. Use of ambulatory electrocardiography for detection of ventricular premature complexes in healthy dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 218, n. 8, p. 1291-1292, 2001.

NOSZCZYK-NOWAK, A. et al. Comparison of P-wave dispersion in healthy dogs, dogs with chronic valvular disease and dogs with disturbances of supraventricular conduction. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 53, n. 18, p. 01-06, 2011.

O'GRADY, M. R.; O'SULLIVAN, M. L. Dilated cardiomyopathy: an update. **Veterinary clinics of North America: Small animal Practice**, v. 34, n. 5, p. 1187-1207, 2004.

OSTMAN-SMITH, I. et al. Electrocardiographic amplitudes: a new risk factor for sudden death in hypertrophic cardiomyopathy. **European Heart Journal**, v. 31, n. 4, p. 439-449, 2009.

PAYNE, J. R. et al. Risk factors associated with sudden death vs. congestive heart failure or arterial thromboembolism in cats with hypertrophic cardiomyopathy. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 17, p. 318-328, 2015.

PELLEGRINO, A. et al. Sensibilidade e especificidade do exame eletrocardiográfico na detecção de sobrecargas atriais e/ou ventriculares em gatos da raça Persa com cardiomiopatia hipertrófica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 3, p. 187-196, 2016.

PEREIRA, L. et al. Cardiomyopathy of the English Cocker Spaniel: clinical, electrocardiographic, radiographic and echocardiographic aspect. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 419-424, 2004.

PETERS, S.; PETERS, H.; THIERFELDER, L. Risk stratification of sudden cardiac death and malignant ventricular arrhythmias in right ventricular dysplasia-cardiomyopathy. **International Journal of Cardiology**, v. 71, n. 3, p. 243-250, 1999.

RASMUSSEN, C. E. et al. Heart Rate and heart rate variability in dog with different degrees mixomatous mitral valve disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, n. 13, p. 658, 2011.

RASMUSSEN, C. E. et al. Heart rate, heart rate variability, and arrhythmias in dogs with myxomatous mitral valve disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 26, n. 1, p. 76-84, 2012.

- ROMITO, G. et al. Diagnostic and prognostic utility of surface electrocardiography in cats with left ventricular hypertrophy. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 20, n. 5, p. 364-375, 2018.
- SHAW, S. P.; RUSH, J. E. Canine pericardial effusion: pathophysiology and cause. **Compendium**, v. 29, n. 7, p. 400-404, 2007.
- SILVA, C. E. V. et al. Cardiomiopatia hipertrófica em um gato doméstico (*Felis catus*) associada a infarto miocárdico agudo. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 335-341, 2009.
- SIMPSON et al. A predictive model for canine dilated cardiomyopathy. A meta-analysis of doberman pinscher data. **PeerJ**, p. 1-16, 2015.
- SOARES, E. C.; LARSSON, M. H. M. A.; YAMATO, R. J. Chronic valvular disease: correlation between clinical, electrocardiographic, radiographic and echocardiographic aspects in dogs. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, p. 436-441, 2005.
- SOTO-BUSTOS, Á. et al. Diagnostic accuracy of electrocardiographic P wave related parameters in the assessment of left atrial size in dogs with degenerative mitral valve disease. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 79, n. 10, p. 1682-1689, 2017.
- STERN, J. A et al. Ambulatory electrocardiographic evaluation of clinically normal adult boxers. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 236, n. 4, p. 1-4, 2010.
- TILLEY, L. P.; SMITH, F. Electrocardiography. In: TILLEY, L. P. et al. **Manual of canine and feline cardiology**. 4 ed. Missouri: Saunders, 2008. p. 49-77.
- TSE, G.; YAN, B. P. Traditional and novel electrocardiographic conduction and repolarization markers of sudden cardiac death. **Europace**, v. 19, n. 5, p. 712-721, 2016.
- VISKIN, S. et al. The “short-coupled” variant of right ventricular outflow ventricular tachycardia: A not-so-benign form of benign ventricular tachycardia? **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, v. 16, n. 8, p. 912-916, 2005.
- WARE, W. A. et al. Sudden death associated with QT interval prolongation and KCNQ1 gene mutation in a family of English springer spaniels. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 29, n. 2, p. 561-568, 2015.
- WESS, G et al. European society of veterinary cardiology screening guidelines for dilated cardiomyopathy in doberman pinschers. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 19, p.405-415, 2017.
- WINTER, R. L.; BATES, R. M. Retrospective evaluation of notched QRS complexes in dogs: 85 cases. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 20, n. 1, p. 13-19, 2018.



Capítulo

9

Caracterização de metodologias aplicadas no estudo bioquímico e sistemático de *Pseudosuccinea columela* (Mollusca: Gastropoda) (Say, 1817)

Maria Larissa Bitencourt Vidal ¹
Natania do Carmo Sperandio ²
Ygor Henrique da Silva ³
Mitsue Ito ⁴
Victor Menezes Tunholi Alves ⁵
Isabella Vilhena Freire Martins ⁶

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

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

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: ygorhenrique97@hotmail.com

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

⁵ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e-mail: victortunholi@yahoo.com.br

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

1 INTRODUÇÃO

Dentre os parâmetros utilizados na classificação taxonômica de moluscos gastrópodes, a caracterização dos aspectos anatomomorfológicos se destaca, com a análise das características conquiliológicas considerada um dos critérios mais utilizados no estudo sistemático desse grupo. Nesse contexto, a diferenciação entre as espécies demonstra-se de extrema importância, uma vez que *Pseudosuccinea columella* (*Lymnaea columella*) enquadra como principal espécie que atua como hospedeiro intermediário de *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) no Brasil (FERNANDEZ et al., 2012). Sendo assim, para um correto diagnóstico entre as espécies de limnédeos é importante atentar não apenas, na avaliação morfológica da concha, mas também nas estruturas como: órgão renal, sistema genital e a rádula. (CARVALHO, 2014; PARAENSE, 1983).

Morfologicamente, os limnédeos caracterizam por apresentar concha cônica alongada, apresentando voltas convexas, com suturas raras ou profundas, giros para a direita (dextrógira) e com abertura tendendo à oval-alongada ou arredondada-ovóide que pode ocupar de metade à $\frac{3}{4}$ do comprimento total da concha (Figura 1). A massa cefalopodal, possui a região do pé oblonga, com superfície ventral lisa e extremidades anteriores e posteriores arredondadas, e na região cefálica, apresenta-se com os olhos situados na base interna dos tentáculos, que se caracterizam por serem achatados e triangulares. A abertura genital masculina e feminina, se encontram ventralmente ao tentáculo direito e ao colar do manto, respectivamente, e a abertura renal na região da pseudobrânquia (CARVALHO, 2014).

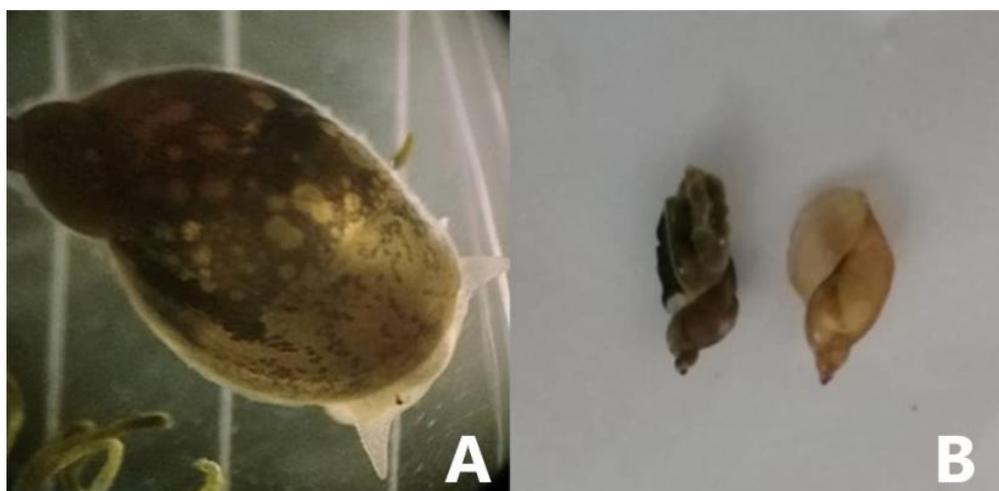


Figura 1: (A) Morfologia externa de *Pseudosuccinea columella*. (B) Conjunto anatômico dos órgãos de *P. columella* e a concha que recobria os tecidos, da esquerda para a direita.
Fonte: Os autores.

Além da análise morfológica externa, há a caracterização anatômica dos órgãos internos desses gastópodos, em especial: a massa cefalopodal, estrutura muscular externa à cocha, com coloração cinza difusamente pálida com pontos branco; o manto, estrutura interna a concha, de coloração acinzentada; e glândula albumen, apresentando como um órgão volumoso que se encontra em íntimo contato com o oviduto e a glândula nidamental (PARAENSE, 1983), sendo esta, encontrada no interior da concha, dorso-caudal a glândula digestiva (Figura 2).

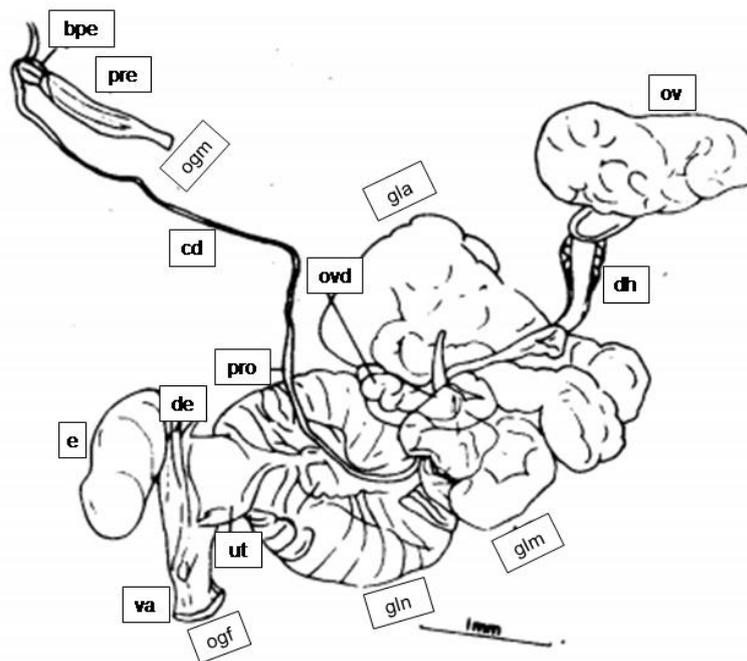


Figura 2: Morfologia interna reprodutiva de *Pseudosuccinea columella*, com a glândula de albúmen evidenciada pela sigla gla, e estruturas anexas dos órgãos reprodutores do molusco.
Fonte: UETA, 1977.

Segundo Medeiros et al. (2014), a identificação de limneídeos ainda é muito controversa na maioria das espécies e faltam artigos sobre o tema, mas os autores ressaltam que em relação a *P. columella*, essa espécie pode ser facilmente identificada usando o conjunto de caracteres morfológicos e os dados da literatura. Entretanto, para estudos de comportamento desses moluscos, faz-se necessário o uso de técnicas relacionadas a coleta, fixação e processamento dos tecidos, que garantam melhor conservação e integridade desses, mostram-se como ferramentas imprescindíveis no estudo taxonômico dos limneídeos.

2 METODOLOGIA

2.1 DESCRIÇÃO DAS TÉCNICAS

A validação de ferramentas e métodos que garantam a preservação de tecidos orgânicos e inorgânicos de moluscos gastrópodes é importantíssima para as análises sistemáticas e bioquímicas da relação parasito-hospedeiro. A mesma é iniciada com a avaliação estrutural da concha do molusco, a viabilidade e as características dos tecidos biológicos de análise.

2.1.2 Técnicas para coleta e fixação dos moluscos

Durante todo o processamento das amostras biológicas faz-se necessário a utilização dos equipamentos de proteção individual (EPIs), como luvas, jalecos, gorros e óculos, a fim de prevenir possíveis riscos de infecção.

A obtenção das amostras biológicas para análises bioquímicas é iniciada a partir da coleta do tecido hemolinfático. Para isto, a localização da cavidade pericárdica torna-se necessária. A mesma é realizada mediante a exposição a luz, onde é possível verificar os batimentos cardíacos na porção latero-dorsal direita da concha. Após a localização da cavidade, realiza a perfuração da mesma com auxílio de agulha de insulina, possibilitando o efluxo de um líquido viscoso e transparente a azulado, denominado hemolinfa. Em seguida, procede a coleta da hemolinfa com auxílio de um microcapilar, colocado perpendicularmente sobre o acesso estabelecido diretamente na cavidade. Após a coleta do material, o mesmo é acondicionado em tubo tipo eppendorf e mantido sob refrigeração. Posteriormente, a remoção mecânica da concha ocorre pela transferência do molusco para uma placa de Petri e com auxílio de pinças e lâmina de bisturi, tracionando as estruturas corporais e caso necessário, quebrar algumas partes da concha para que consiga retirar sem danificar nenhuma estrutura interna do molusco observando a massa visceral. A figura 3 caracteriza a sintopia anatômica dos principais órgãos utilizados nos estudos bioquímicos e sistemáticos de moluscos gastrópodes.

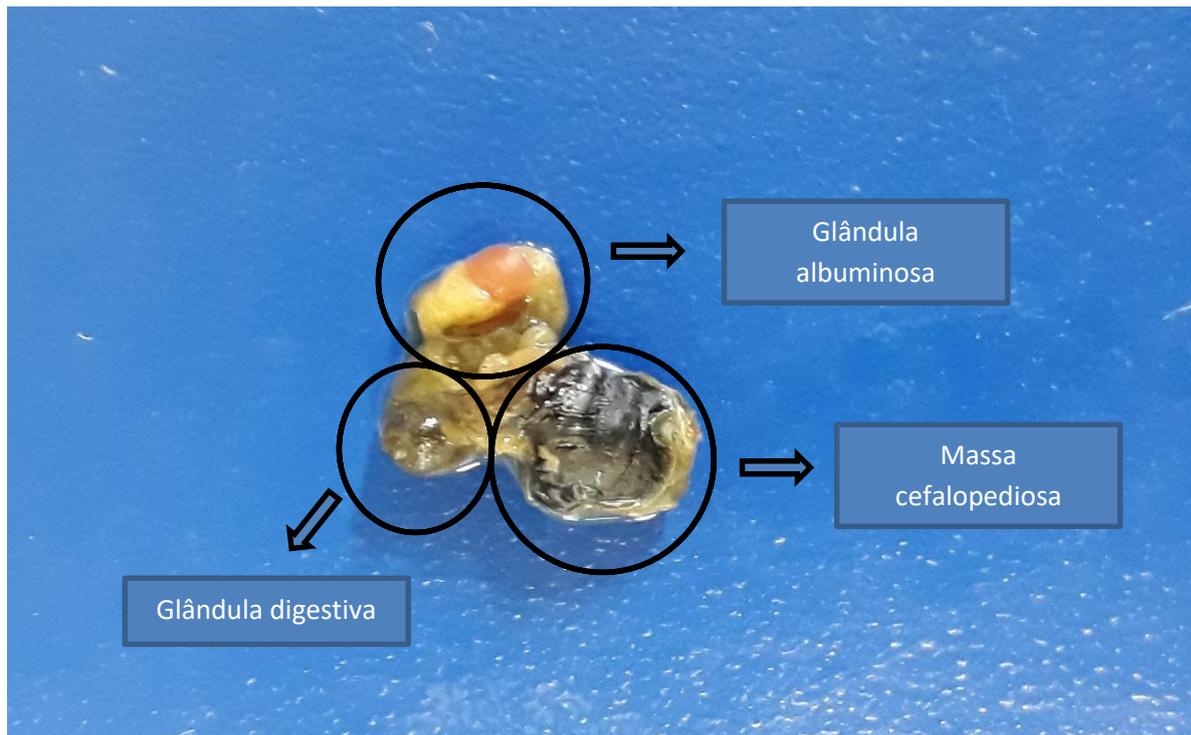


Figura 3: Fotografia de macroconjunto dos órgãos de *Pseudosuccinea columella*, com esquemas diferenciando as principais estruturas encontradas.

Fonte: Os autores.

Assim, a diferenciação das estruturas é determinante para os processamentos dos respectivos tecidos.

2.1.3 Técnicas de processamento de tecidos orgânicos de gastrópodes

2.1.3.1 Análise Bioquímica

A quantificação espectrofotométrica de substratos energéticos (glicogênio, glicose, proteínas totais, ácidos graxos e triacilglicerol), produtos de degradação (ureia e ácidos úrico) e das atividades enzimáticas (aspartato/alanina aminotransferases e lactato desidrogenase) são realizadas a partir de hemolinfa, quanto de órgãos musculares e parenquimatosos, tais como a massa cefalopediosa (MC), glândula digestiva (GD) e glândula de albúmen (GA) do molusco em questão.

Os conteúdos de glicogênio e galactogênio estocados nas MC, GD e GA respectivamente, são determinados através do método 3,5 dinitro salicilato (DNS), tendo seus resultados expressos em mg de glicose/g de tecido, peso fresco. A concentração hemolinfática

de glicose livre é estabelecida a partir da utilização de kits para diagnóstico laboratorial, para isto, faz necessário a obtenção de uma alíquota de 10µl de hemolinfa, relativo a cada grupo experimental. Adiciona-se ao volume inicial, 1 ml do reagente de cor, composto por: solução tampão de fosfato 0,05M, pH 7,45±0,1; aminoantipirina (0,03mM) e 15mM de p-hidroxibenzoato de sódio; um mínimo de 12kU de glicose oxidase e 0,8 kU de peroxidase por litro, sequencialmente, a determinação sérica de glicose é medida por meio da leitura em espectrofotômetro, com absorvância máxima em 510 nm, utilizando uma solução aquosa de 100mg/dl (PINHEIRO; GOMES, 1994).

A mensuração da atividade da lactato desidrogenase na hemolinfa de moluscos hospedeiros, é estabelecida por meio de uma sequência de reações químicas que resultam em um complexo corado. Para a ocorrência destas reações, mistura-se 1ml de solução de substrato (solução 0,1M de lactato, 0,005M de o-fenantrolina em Tris 0,2M pH 8,8) adicionados a uma gota de solução 0,012M de sulfato de ferro amoniacal (alúmen férrico) e 25µl de amostra. A solução resultante é submetida a 37°C por 2 minutos, em seguida acrescenta uma gota de solução contendo NAD (15,82 mmol de nicotinamida adenina dinucleotídeo) e FMS (3,73mmol de fazina metassulfato). A solução final será novamente homogeneizada e incubada por 5 minutos a 37°C, onde a absorvância será lida em espectrofotômetro em 510nm, padronizada por uma solução de LDH 350 U./l (BISHOP; ELLIS; BURCHAM, 1983).

Já a determinação das concentrações séricas de ácido úrico se fará a partir de uma alíquota de 50 µl da amostra (hemolinfa), esta deve adicionada a 2ml da solução do reagente de cor, composta por tampão fosfato de sódio 100mmol/l (pH 7,8) contendo 4mmol/l diclorofenol-sulfonato, 4- aminoantipirina 0,5 mmol/l, 120U≤ uricase, 4,980U≤ ascorbato oxidase, 1.080U≤ peroxidase. Em seguida, procede a homogeneização e incubação da solução resultante a 37°C durante 5 minutos. Por sua vez, a concentração hemolinfática de ureia é estabelecida pela adição de 2 ml de solução composta por 60 mmol de salicilato de sódio, nitroprussiato de sódio, 34 mmol, mais EDTA dissódico 1,35 mmol, em 2 µl de urease e 20 µl de hemolinfa. As leituras são a partir de espectrofotômetro a 520 nm e 600nm de absorvância, respectivamente tendo os resultados expressos em mg/dl (BISHOP; ELLIS; BURCHAM, 1983; CONNERTY; BRIGGS; EATON, 1955).

As atividade enzimática da alanina e aspartato aminotransferases (ALT e AST) serão obtidas a partir da incubação prévia a 37°C durante 5 minutos da solução reagente composta por L-alanina a 0,2M ou L-aspartato a 0,2M, mais α-cetoglutarato e tampão fosfato de sódio a 0,1M pH 7,4, em seguida, 100µl (para ALT) e 200µL (para AST) de hemolinfa são

homogeneizados e novamente incubados a 37°C por 30 minutos e posteriormente, 50µl de 2,4 dinitrofenilhidrazina 0,001M adicionados e mantidos a 25°C por 20 minutos, finalizando com a adição de 5mL de NaOH 0,4M, seguida da leitura em espectrofotômetro em 505 nm, tendo os resultados expressos em URF/ml (KAPLAN; PESCE, 1996).

E por fim a dosagem de proteínas totais é estabelecida, de acordo com a técnica do Biureto descrita por Weichselbaum (1946), que é um método de quantificação, faz-se necessário 50 µl da amostra, a qual é misturada a 2,5 ml do reagente Biureto (citrato trisódico 0,114M, carbonato de sódio 0,21M e sulfato de cobre 0,01M), homogeneizados e deixados em temperatura ambiente por 5 minutos, seguido pela leitura realizada em espectrofotômetro em 550 nm e os resultados expressos em g/dl.

Vários estudos têm demonstrado alterações no metabolismo de moluscos infectados por larvas de trematódeos e nematóides, que acabam obtendo da hemolinfa do hospedeiro nutrientes essenciais para o seu desenvolvimento, bem como, a excreção de metabólitos, e desta maneira alterando a composição normal da hemolinfa. Nestas circunstâncias, o molusco entra em balanço energético negativo mobilizando suas reservas de glicogênio, principalmente da glândula digestiva e massa cefalopediosa para a sua sobrevivência (PINHEIRO et al., 2009; de SOUZA et al., 2000; TUNHOLI et al., 2017).

Thompson e Lee (1985) verificaram que *Biomphalaria glabrata* submetidas a períodos de jejum, bem como infectadas por *Schistosoma mansoni* mantiveram os níveis de glicose constantes na hemolinfa. Assim é notável a presença de mecanismos homeostáticos voltados à manutenção da glicemia, seja a partir da mobilização de reservas (glicogênio) ou por intermédio das interações de vias bioquímicas (TUNHOLI et al., 2011). A capacidade de gastrópodes em restabelecer a normoglicemia quando submetidos a períodos de estresse fisiológico foi inicialmente caracterizada por Moore e Halton (1973). Segundo tais autores, à intensa atividade das enzimas lisossomais verificada na glândula digestiva de *Lymnaea truncatula* (Muller, 1774) infectada por *Fasciola hepatica* favoreceu a hidrólise do glicogênio, condição necessária para a manutenção da glicemia nestes hospedeiros.

Assim, o desequilíbrio causado na composição glicídica da hemolinfa leva o molusco a dispor de suas reservas de carboidratos, o que causa a depleção dos seus estoques de glicogênio e galactogênio, apresentando muitas das vezes a ativação do catabolismo protéico e lipídico como mecanismos fisiológicos compensatórios (BECKER, 1980; TUNHOLI-ALVES et al., 2011; TUNHOLI et al., 2011).

2.1.3.2 Histologia

Para as análises histopatológicas, recomenda-se inicialmente a avaliação das estruturas externas do molusco. Em seguida, a retirada total da concha e de seus fragmentos é preconizada, sendo recomendada a fixação do material até no máximo 2 horas, evitando a ocorrência de processos *post-mortem* relacionados a degradações lipossomais dos tecidos, por isso a realização da fixação é necessária para interromper o metabolismo celular e estabilizar as estruturas e componentes teciduais. A mesma é realizada pela imersão os tecidos em solução de Duboscq Brasil (FERNANDES, 1949). Para o preparo de 1L da solução fixadora é recomendado a diluição de 1,5g de ácido pícrico em 150 mL de álcool 80%, 60 mL de formol a 37 a 40% de formaldeído e 15 mL de ácido acético glacial. Tal solução mostra-se fotossensível, devendo ser armazenada em ambiente escuro e acondicionada em vidro âmbar. Segundo Tunholi e colaboradores (2017), o tempo necessário para a fixação dos tecidos é de 24 horas, também manipulando em ambiente escuro. Uma vez fixados, os tecidos deverão ser transferidos para tubos tipo falcon de 15 mL, preenchidos previamente com álcool 70%, imergindo os moluscos, até o processamento histológico.

Os procedimentos para histologia são a partir das amostras de tecido retirados de um organismo para exame microscópico, onde a partir da fixação, realiza-se o processamento, inclusão, microtomia (corte) e coloração (CAPUTO; GITIRANA; MANSO, 2010).

O processamento acontece mediante a difusão de reagentes no interior dos tecidos, os quais induzirão a perda de líquido intersticial, após fixação, tornando os fragmentos mais rígidos para o seccionamento das estruturas em pequenas proporções, facilitando com isso a visualização em microscópio óptico. Realiza-se, em seguida, a desidratação em uma bateria de álcool (80, 90 e 95%), clarificação ou diafanização, com a utilização de xilol, processo que garantirá a remoção do álcool residual, e a impregnação, que se fará a partir de parafina líquida a 60°C, iniciando a etapa de inclusão do material. Findada o processo de inclusão do material, segue-se a microtomia, que consistirá no seccionamento dos tecidos, possibilitando a fragmentação dos mesmos a partir de cortes ultrafinos, apresentando espessura de aproximadamente 4 a 6 micrometros. Os fragmentos teciduais obtidos após a microtomia serão distendidos em banho-maria, sendo pescados com lâmina de vidro, para que inicie o processo de fixação do material em lâmina e retirada dos resíduos de parafina em estufa aquecida a 60°C por 12 horas. Após a inclusão do material, tem-se a etapa de coloração para a diferenciação das estruturas celulares, apresentando uma visão geral dos elementos teciduais. Vários são os

métodos de coloração tecidual que poderão ser utilizados para o estudo histopatológico em moluscos gastrópodes, dentre os quais destacam-se: o método da hematoxilina e eosina (Figura 4), tricrômico de Masson, tricromo de Gomori, coloração especial com o ácido Periódico de Schiff (PAS) e método de Von Kossa.

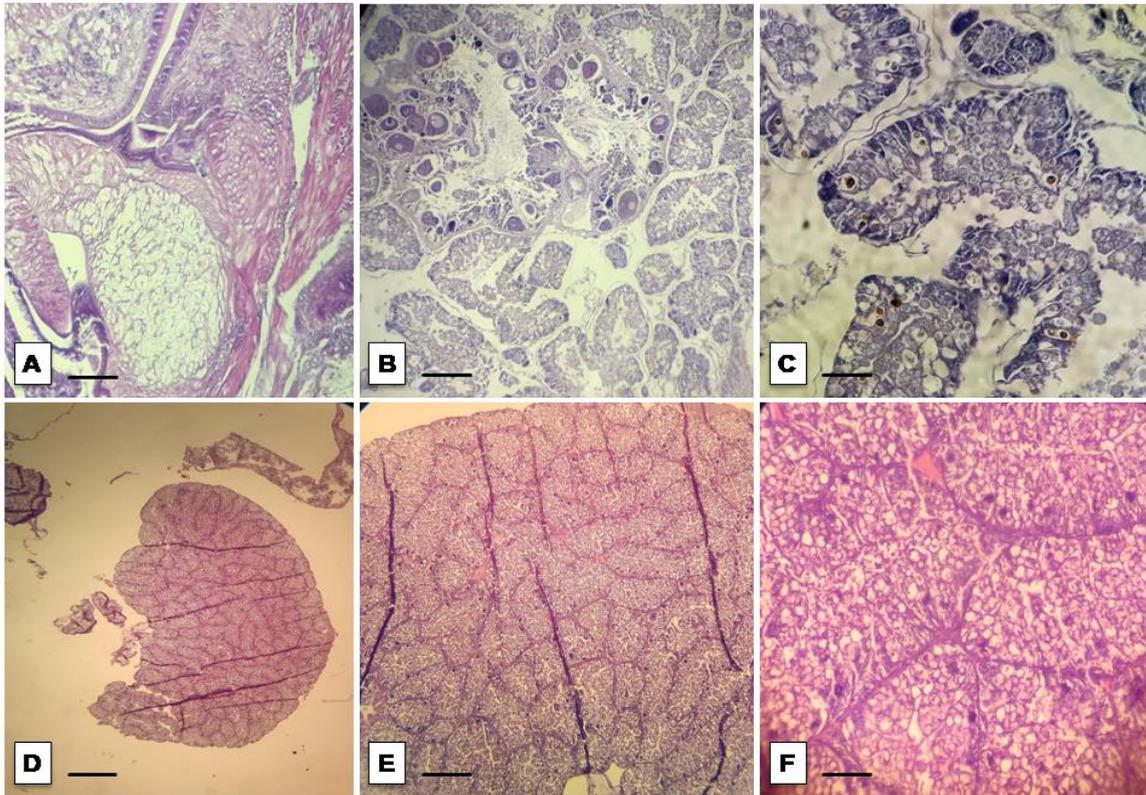


Figura 4: Fotomicrografia de histologia dos tecidos de *Pseudosuccinea columella* com coloração HE, evidenciando a glândula de albúmen (GA), glândula digestiva (GD) e suas respectivas medições nas imagens, A- Barra 460.53 μm ; B- Barra 162.79 μm C- Barra 40.70 μm , para GA e D- Barra 388.89 μm ; E- Barra 162.79 μm ; F- Barra 40.70 μm , para GD.

Fonte: Os autores.

Vários autores têm utilizado de ferramentas histopatológicas para verificar a susceptibilidade de moluscos a diferentes espécies de helmintos (TUNHOLI-ALVES et al., 2014, 2015). De acordo com estes autores, a infecção induz intensa desorganização celular caracterizada pela proliferação de amebócitos e expansão de matriz extracelular, favorecendo o processo de fibrosamento e de calcificação metastática no tecido afetado. Tunholi et al. (2017) demonstraram, sob condições experimentais, que a infecção por *Heterorhabditis baujardi* LPP7 induziu severas alterações histopatológicas em *P. columella*, tais como produção de um infiltrado hemocitário seguido pela formação de nódulos fibrosos. Para tais autores, estas reações comprometem a função do órgão afetado (complexo gônada-glândula digestiva), contribuindo para a perda da homeostase e morte dos moluscos em questão.

2.1.2.3 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)

Em relação as análises ultraestruturais dos tecidos coletados, a microscopia eletrônica de varredura (MEV) oferece valiosa contribuição, por oferecer uma série de informações na estrutura externa dos órgãos, cobrindo um intervalo de informações que estão entre a microscopia de luz e a de transmissão. Trata-se de uma ferramenta movida a vácuo, processando elétrons secundários de baixa energia que vão produzir imagens tri-dimensionais de grande efeito, com notável e profundo foco, onde a formação das imagens ocorre a medida que feixes primários de elétrons, por meio de sondas que se deslocam sobre a amostra, gerando sinais - elétrons secundários (SILVEIRA, 2007).

Mediante a realização da Microscopia Eletronica de Varredura, uma solução fixadora faz-se necessária, sendo que para produzir 1L da solução baseada em Karnovsky (1965) modificada, se dá a partir de 100 mL de glutaraldeído 2,5%, 500 mL de PBS 0,1 M e 200 mL de paraformaldeído 2% e os 200 mL restantes são completados com água destilada, armazenando em geladeira para estabilidade da solução, retirando-se duas horas antes da utilização.

A MEV é baseada em Silveira (2007), inicia-se pela retirada da concha com o monobloco dos órgãos inteiro, já descrita anteriormente, procedendo a imersão dos tecidos em solução fixadora por no mínimo 24 horas, podendo ficar na solução por até 40 dias armazenada em geladeira, sem interferir em resultados posteriores. Uma vez fixados, ocorre a lavagem dos tecidos para retirada do excesso de solução fixadora, em cacodilato 0,1 M (pH 7,2-7,4) por três vezes de 30 minutos cada vez, após isso, os tecidos serão submetidos a etapa de pós-fixação em tetraóxido de ósmio (OsO₄ 1%) em cacodilato 0,1M adicionando ferrocianeto de potássio 1,25%, embrulhando o recipiente com papel laminado e deixar por 1 hora à temperatura ambiente em capela e no escuro. Feito isso, ocorre outro processo de lavagem com tampão cacodilato uma vez por 30 minutos, seguida pela desidratação do tecido, que ocorre por meio de banhos em etanol ou acetona à temperatura ambiente, com o seguinte passo: 30% - 30 minutos; 50% - 30 minutos; 70% - overnight (geladeira); 90% - 30 minutos; 100% - por 3 vezes de 30 minutos cada.

A segunda fase de secagem ocorre em uma câmara de gás, após a desidratação por álcool ou acetona à temperatura ambiente, denominando ponto crítico, que é uma secagem em câmara pressurizada, usando gás carbônico como fluido de transição. Uma vez secos, os tecidos serão destinados a montagem em suporte porta-amostra para MEV, ou “stub”, ajustando sua

orientação em relação aos feixes de elétrons e ao coletor de imagens. Subsequentemente, uma cobertura de ouro para promover e aumentar a condutividade da superfície da amostra, bem como aumentar a emissão de elétrons. Partindo para o estudo topográfico em varredura para que tenham boas imagens do material, é necessário um conhecimento prévio do aparelho com as especificações escolhidas e adaptadas pelo operador, que ocorre a partir da distância, ângulo, profundidade do foco e outros fatores relacionados, a partir daí são produzidos elétrons secundários por meio de ionização na amostra e na camada metálica que a reveste, sendo o objeto explorado observado em várias ampliações e a imagem é processada eletronicamente com recursos do monitor do aparelho, os registros são feitos em negativo (Figura 5), onde estes são digitais favorecendo o acesso a esses dados.

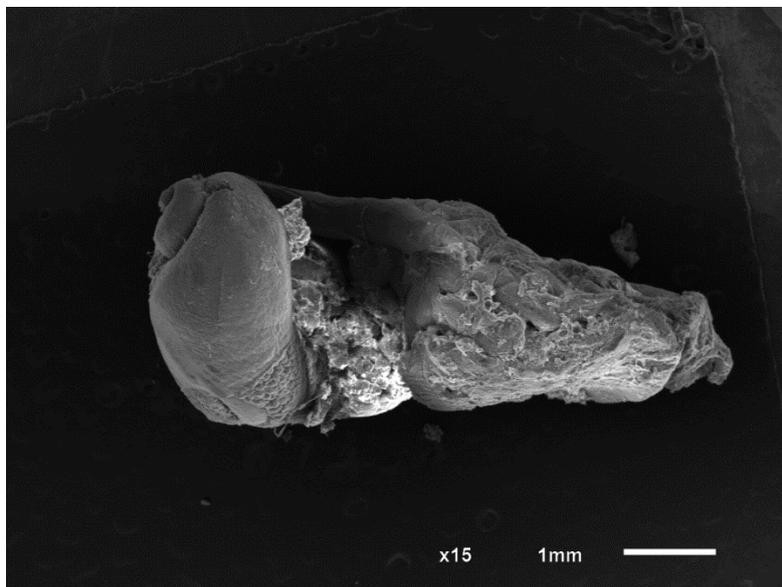


Figura 5: Fotografia retirada em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) evidenciando a ultraestrutura corporal superficial dos conjuntos dos órgãos de *Pseudosuccinea columella*. Aumento de 15x. Barra: 1 mm. Fonte: Os autores.

Não foram encontrados na literatura pesquisada trabalhos que usam microscopia eletrônica de varredura e transmissão em moluscos gastrópodes, mas vale ressaltar a importância de novas ferramentas que auxiliem na comprovação da susceptibilidade de moluscos a diferentes agentes ou mesmo a ação de produtos.

3 CONCLUSÃO

A caracterização anatomorfológica e biológica dos lymneídeos, apresenta grande relevância não somente para estudos taxonômicos, epidemiológicos, mas também da relação parasito-hospedeiro. Ademais, a caracterização de uma metodologia que garanta a melhor coleta, conservação e integridade dos tecidos orgânicos para os estudos bioquímicos e sistemáticos em moluscos gastrópodes, mostra-se notória implicação na malacologia, uma vez que a ação de possíveis fatores poderá interferir ou influenciar nos resultados, oferecendo uma avaliação morfológica e bioquímica mais fidedigna possível.

4 REFERÊNCIAS

BECKER, W. Metabolic interrelationship of parasitic trematodes and molluscs, especially *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria glabrata*. **Zeitschrift fur Parasitenkunde**, v. 63, p. 101–111, 1980.

BISHOP, S. H.; ELLIS, L. L.; BURCHAM, J. M. Amino acid metabolismo on molluscs. In The Mollusca. **Metabolic Biochemistry and Molecular Biomechanics**, v. 1, p. 237-243, 1983.

CAPUTO, L. F. G.; GITIRANA, L. B, de; MANSO, P. P. A, de. **Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde**. Técnicas histológicas. In: MOLINARO, E; CAPUTO, L; AMENDOEIRA, R. v. 2, Rio de Janeiro: Fiocruz, 2010.

CARVALHO, C. M. **Revisão taxonômica e elaboração de mapas de distribuição geográfica de espécies brasileiras da família Lymnaeidea Rafinesque, 1815 (Gastropoda, Basomatophora)**. 2014. 135f. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Pesquisa René Rachou, Fundação Osvaldo Cruz, Belo Horizonte-MG, 2014.

CONNERTY, J. V.; BRIGGS, A. R.; EATON, E. H. Determination of blood urea nitrogen using a simple stabilizing reagent. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 25, n. 11, p. 1321-1325, 1995.

DE SOUZA, R. M. et al. The influence of starvation and *Eurytrema coelomaticum* infection on the nitrogenous products of degradation in the hemolymph of *Bradybaena similaris*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 43, p. 365–371, 2000.

FERNANDES, M. C. **Métodos escolhidos de técnicas microscópicas**, 2 ed. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1949.

FERNANDEZ, M. A. et al. **Moluscos límnicos invasores no Brasil: biologia, prevenção, controle**, Chapter: Gastrópodes límnicos invasores: morfologia comparada, Publisher: Redes Editora, 2012. p.125-136

KAPLAN, L. A.; PESCE, A. J. **Clinical chemistry**, Thirdth ed. Mosby, St. Lous, 1996.

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cellular Biology**, v. 27, p. 137-138, 1965.

LUNA, L. G. **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3.ed. New York: McGraw-Hill. 1968. 258p.

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 Sao Paulo**, v. 56, n. 3, p. 235-52, 2014.

MOORE, M. N.; HALTON, D. W. Histochemical change in the digestive gland of *Lymnaea truncatula* infected with *Fasciola hepatica*. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, v. 43, p. 1–16, 1973.

PARAENSE, L. W. *Lymanea columella* no norte do Brasil. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, v. 78, n. 4, p. 477-482, 1983.

PINHEIRO, J.; GOMES, E. M. A method for glycogen determination in molluscs. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 37, p. 569–576, 1994.

PINHEIRO, J.; MALDONADO Jr., A.; LANFREDI, R. M. Physiological changes in *Lymnaea columella* (Say, 1817) (Mollusca, Gastropoda) in response to *Echinostoma paraensei*. Lie and Basch, 1967 (Trematoda: Echinostomatidae) infection. **Parasitology Research**, v. 106, p. 55–59, 2009.

SILVEIRA, M. Preparo de amostras biológicas para Microscopia Eletronica de Varredura. **Tecnicas de Microscopia Eletronica Aplicadas às Ciências Biológicas**, In: SOUZA, W. 3. ed., Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microscopia, 2007.

THOMPSON, S. N.; LEE, R. K. W. Comparison of starvation and infection by *Schistosoma mansoni* on tissue viability and the 31P NMR spectrum of *Biomphalaria glabrata*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 72, p. 417–421, 1986.

TUNHOLI-ALVES, V. M. et al. Activation of anaerobic metabolism in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Gastropoda) experimentally infected by *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda, Metastrongylidae) by high-performance liquid chromatography. **Parasitology International**, v. 63, p. 64-68, 2014.

TUNHOLI-ALVES, V. M. et al. Biochemical profile of *Achatina fulica* (Mollusca: Gastropoda) after infection by different parasitic loads of *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda, Metastrongylidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 124, p. 1-5, 2015.

TUNHOLI-ALVES, V. M. et al. Lipid levels in *Biomphalaria glabrata* infected with different doses of *Echinostoma paraensei* miracidia. **Experimental Parasitology**, v. 128, p. 212–216, 2011.

TUNHOLI, V. M. et al. Biochemical profile of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Gastropoda) after infection by *Echinostoma paraensei* (Trematoda: Echinostomatidae). **Parasitology Research**, v. 109, p. 855–891, 2011.

TUNHOLI, V. M. et al. Molluscicidal potential of *Heterorhabditis baujardi* (Rhabditida: Heterorhabditidae), strain LPP7, on *Lymnaea columela* (Gastropoda: Pulmonata): An alternative for biological control of fasciolosis. **Journal Acta Trópica**, v. 173, p. 23- 29, 2017.

UETA, M. T. Variações anatômicas em *Lymnaea columella* (Mollusca, Gastropoda). **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 11, n. 6, 1977.

WEICHSELBAUM, T. E. An arate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood, serum and plasma. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 16, p. 40-49, 1946.



Capítulo

10

Palatabilidade e aceitabilidade de medicamentos de uso oral por cães e gatos

Thaís Martins da Silva¹

Priscila de Oliveira Lorenzoni²

Amanda Maria Miranda Rodrigues dos Santos³

Mitsue Ito⁴

Taysa Oliveira Martins⁵

Janaina Cecília Oliveira Villanova⁶

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

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

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

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

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo e-mail: taysa.oliveiramartins@hotmail.com

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: farmacotecnica@yahoo.com.br

1 INTRODUÇÃO

Devido ao ritmo diário intenso, principalmente nos centros urbanos, os animais de companhia vêm desempenhando papel importante na qualidade de vida de seus tutores, pois, além de oferecerem entretenimento, também podem auxiliar no tratamento de doenças, como a depressão, alívio da solidão e redução da ansiedade em crianças e idosos ou, até mesmo, em adultos. Por este motivo, é cada vez maior a população de cães e gatos de estimação no Brasil e no mundo (CRMV, 2019; PINTO, 2012; PIZZATO; DOMINGUES, 2008).

Segundo dados da Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação (ABINPET), existem no Brasil, cerca de 52,2 milhões de cães e 22,1 milhões de gatos domésticos, além de outros animais que também são considerados de companhia, como peixes e aves. O Brasil ocupa o 4º lugar no *ranking* mundial, com um total de 132 milhões de animais (ABINPET, 2019).

Em função deste panorama, a relação existente entre o homem e os PETs vem sofrendo uma profunda mudança e, a humanização desta população tem gerado hábitos no tratamento que os assemelha cada vez mais aos dos seus tutores, no que diz respeito à alimentação, embelezamento e saúde, que primam por lhes oferecer tratamentos personalizados. É inegável que os donos dos animais procuram cada vez mais melhorar as condições de vida dos PETs, o que resulta no aumento da média de vida dos mesmos (CARNEIRO, 2017; CRMV, 2019).

Neste cenário, a farmacoterapia individualizada vem ganhando cada vez mais espaço na terapêutica veterinária e, formas farmacêuticas alternativas têm sido idealizadas e preparadas para atender inúmeras demandas dos tutores, entre as quais, oferecer medicamentos com sabor, odor e textura agradáveis e, de livre aceitação pelos seus animais (VISSER et al., 2017). Entre as vias de administração disponíveis para medicar os PETs, a oral é a preferida tanto pelos animais como pelos tutores, por ser mais conveniente e confortável (YI, 2017). Assim, um número crescente de artigos relata o delineamento farmacotécnico de formulações alternativas para uso veterinário, tais como as pastas orais, géis transdérmicos, biscoitos, orabases e formulações orodispersíveis, como filmes, comprimidos e tabletes. Durante o delineamento farmacotécnico das preparações orais, um dos principais aspectos a ser avaliado é a aceitação dos medicamentos, o que está diretamente relacionado à palatabilidade das formulações (CARCIOFI; JEREMIAS, 2010; CARNEIRO, 2017).

O termo palatabilidade se refere à forma geral com a qual os animais percebem, sensorialmente, aquilo que é ingerido, se relacionando à aparência, cheiro, sabor e textura dos

alimentos ou medicamentos (HILL, 2007; PIZZATO; DOMINGUES, 2008). A palatabilidade pode ser correlacionada ainda, às características químicas e físicas do produto, como sua natureza química e temperatura e, a outras como a preferência e influência do ambiente no qual o animal se encontra. Dada a importância do tema, no presente capítulo será realizada uma revisão da literatura acerca da palatabilidade e da aceitabilidade dos medicamentos por cães e gatos, com vistas à contribuir com a literatura a ser consultada no Brasil, que é escassa.

2 ASPECTOS FISIOLÓGICOS E QUÍMICOS DA PERCEPÇÃO DO SABOR

O sistema sensorial dos animais os torna capazes de perceber alterações no ambiente. As mudanças físicas são percebidas pela visão, audição e tato. O paladar e o olfato, além do papel na alimentação, são responsáveis por captar alterações químicas no ambiente. O olfato também é responsável por perceber aromas, sabores e sinais químicos capazes de estimular respostas comportamentais, essenciais para sobrevivência e reprodução (BREER, 2003; RAWSON et al., 1990).

Cães e gatos domésticos apresentam anatomia e fisiologia dos animais pertencentes à ordem Carnívora. Entretanto, cada um possui preferências distintas de sabor. Este, por sua vez, pode ser definido como a combinação das percepções sentidas pela gustação, olfato e tato simultaneamente (JIANG et al., 2012; OGOSHI et al., 2015). A gustação é desenvolvida logo após o nascimento dos cães e gatos, que podem ser muito ou pouco seletivos com relação ao sabor (ZANATTA et al., 2016). A gustação é relacionada à presença das células gustativas (botões gustativos) e dos corpúsculos de Krause, distribuídos sobre a superfície da língua. A presença de substâncias que estimulam as terminações nervosas contribui para a experiência do sabor. Tal percepção é mais desenvolvida no homem do que nos animais em geral. Por este motivo, a escolha alimentar dos cães e gatos é grandemente afetada pelo olfato, sentido bastante desenvolvido nesses animais. No que diz respeito à presença das células gustativas, os gatos possuem até cinco vezes mais estas células que os cães (BRADSHAW, 1991; THOMBRE, 2004).

Tanto o sabor quanto o odor são sentidos quimicamente estimulados. Os sabores conhecidos como primários são o umami, o amargo, o salgado, o doce e o ácido. O sabor ácido (ou azedo), é correlacionado à presença de íons hidrogênio (H), característicos dos ácidos contidos nos componentes cítricos enquanto o sabor salgado é relacionado à presença de sais ionizados, especialmente, do cátion sódio (Na⁺). Por outro lado, o sabor doce, se relaciona à

presença de grupamentos hidroxila (OH) nos açúcares, glicóis, álcoois, aldeídos, cetonas, amidas e ésteres, principalmente. Alguns aminoácidos, pequenas proteínas, ácidos sulfônicos, ácidos halogenados e sais inorgânicos de chumbo e berílio também produzem dulçor. Já os compostos orgânicos nitrogenados são os principais responsáveis pelo sabor amargo. Por fim, o sabor umami é relacionado à presença do aminoácido L-glutamato. O gosto metálico, alcalino, adstringente, refrescante e ardente são considerados sabores secundários (HUANG et al., 2006; STRAPASSON et al., 2011).

De maneira geral, cães e gatos não possuem preferência pelo sabor salgado em função do baixo número de receptores sensoriais para este gosto ao longo da língua. Os gatos possuem elevada capacidade de detectar a presença de aminoácidos, inclusive, L-glutamato, o que favorece a preferência dos sabores doce e umami. Já os cães têm uma preferência pelo sabor doce quando comparado aos demais. Ambas as espécies são sensíveis ao sabor amargo, sendo este preferido pelos gatos quando comparado ao sabor ácido. Cabe ressaltar que a percepção acentuada do amargor evita a ingestão de substâncias tóxicas presentes em determinadas plantas, uma vez que estas são frequentemente amargas (HUANG et al., 2006; HU; SHI, 2013; MOLYNEUX; RALPHS, 2007; SHANG et al., 2017; THOMPSON; DAVIDOW, 2013; WATSON, 2011). Estudos apontam que a presença de ácidos graxos também pode ser percebida quimicamente pelas células gustativas, desempenhando papel diferencial na palatabilidade (MIZUSHIGE; INOUE; FUSHIKI, 2007). Além dos fatores fisiológicos, o hábitos alimentar dos tutores pode influenciar na preferência e aceitação dos sabores (GOUVÊA et al., 2018).

A percepção olfativa é determinada por um período de latência, duração da passagem da molécula odorante pelo muco nasal até a sua ligação a receptores. Essa percepção é aumentada quando o animal está com fome e diminui quando está alimentado. A ingestão de alimentos está, dessa forma, diretamente ligada ao olfato, de tal forma que o gosto dos alimentos é captado também pela cavidade nasal (BARBIERI, 2019). Segundo Pizzato e Domingues (2008), o olfato de diferentes raças dos cães é variável conforme a raça, a superfície da mucosa olfativa, o número de receptores presentes e, a anatomia facial dos animais. A sensibilidade olfativa também está correlacionada com a pigmentação da mucosa olfativa, e com fatores como idade, sexo, ambiente e uso de medicação. A grande diferença entre o homem e os cães encontra-se no diâmetro interno do nariz, onde estão localizadas as células sensoriais do olfato. Estima-se que um homem adulto possua 5 milhões destas células, enquanto um cão da raça Pastor Alemão, tenha 220 milhões e um Cocker, 67 milhões (VADUREL; GOGNY, 1997).

3 PALATABILIDADE DOS MEDICAMENTOS

A administração de medicamentos em animais de companhia, na maioria das vezes, é feita por seus tutores e por esse motivo, aliado ao maior conforto para o animal, a via oral é a mais utilizada em relação as outras vias (YI, 2017). Os proprietários, em sua maioria, administram comprimidos e cápsulas orais empregando artifícios como colocá-los na base da língua do animal, encorajando-os a engolir, ou ocultando-os nos alimentos após esmagamento e polvilhamento destes sobre a comida ou bebida (GOSSELLIN; MAITLAND; CIVIL, 2010). Contudo, nem sempre essa estratégia é eficaz, pois, muitos medicamentos têm sabor e odor desagradáveis que são facilmente percebidos por esses animais (PAYNE-JOHNSON et al., 2007). Outras considerações são a necessidade de jejum para a administração de alguns medicamentos e a possibilidade do animal não comer todo o alimento, deixando de ingerir parte da dose e comprometendo o esquema posológico (PETRY; FOURIE; WOLKEN, 2014).

Cabe destacar que adequações dos produtos no que diz respeito à forma farmacêutica e dose, tais como partir e triturar comprimidos, abrir cápsulas, misturar os medicamentos com alimentos ou bebidas ou, diluir líquidos, com vistas a viabilizar a administração, se faz necessário, o que pode expor os pacientes à inúmeros riscos. A inexatidão de doses, ausência de informações sobre compatibilidade, riscos de contaminação microbiana, alteração na estabilidade e falhas na biodisponibilidade, são alguns dos possíveis problemas relacionados à adequação de medicamentos para uso animal e que contribuem para o insucesso da farmacoterapia (COSTA; REY; COELHO, 2009; MARINHO; CABRAL, 2014; SOUZA et al., 2018). Os laboratórios farmacêuticos que produzem medicamentos de uso veterinário bem como as farmácias magistrais têm buscado atender a esta demanda e, na atualidade, há uma gama de produtos no mercado para os animais com o apelo de “alta palatabilidade” ou “altamente palatável” (EMA, 2012).

A palatabilidade em animais, segundo Forbes (1995), é a impressão sensorial percebida por estes, após a ingestão de um alimento. O termo “palatabilidade” significa qualidade do que é palatável, ou seja, agradável ao paladar. No setor alimentício, os ingredientes destinados à melhorar o sabor e odor são ditos palatibilizantes, sendo classificados como aditivos utilizados para melhorar ou modificar as propriedades organolépticas e/ou as características visuais dos produtos. Em sua maioria, os palatibilizantes para os alimentos são fontes de proteína e gordura de origem animal.

Em farmacotécnica veterinária, a terminologia pode ser associada não somente ao sabor e odor mas, também, à preferência do animal e à aceitação espontânea da medicação

(CARCIOFI; JEREMIAS, 2010; CARNEIRO, 2017; PETRY; FOURIE; WOLKEN, 2014). Diferentes artifícios podem ser empregados para mascarar o sabor e o odor desagradáveis das formulações farmacêuticas, entre os quais se destacam, os métodos físicos, como o aumento da viscosidade de formas líquidas, a emulsificação e o uso de efervescência (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013). Outros métodos são: revestimento do fármaco ou da forma farmacêutica com polímeros adequados; complexação dos fármacos com ciclodextrinas; encapsulamento do fármaco em lipídios ou outros carreadores micro ou manométricos; inibição temporária das papilas gustativas pelo uso de excipientes especiais, tais como a cânfora e o mentol; e, diminuição temporária da sensibilidade das papilas gustativas pelo resfriamento (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013; SOHI; SULTANA; KHAR, 2004). Todavia, a alternativa mais simples para o desenvolvimento de uma formulação palatável é a adição dos excipientes denominados edulcorantes e de flavorizantes, capazes de mascarar o sabor e odor desagradáveis das formulações (HALOS et al., 2015; PETRY; FOURIE; WOLKEN, 2014; THOMBRE, 2004).

Edulcorante pode ser definido como o excipiente destinado a dar sabor doce para as preparações enquanto flavorizante, também chamado de aromatizante, é aquele que fornece sabor e odor característicos a determinado produto, fornecendo ou intensificando determinado sabor (LOCATELI et al., 2018; ROCHA, 2009; THOMBRE, 2004). Edulcorantes e flavorizantes naturais ou sintéticos de uso veterinário estão disponíveis comercialmente. No caso dos cães, os flavorizantes preferidos são os de carne - boi, frango, linguiça, bacon e fígado, chocolate, *marshmallow*, morango e caramelo. Já os gatos preferem os flavorizantes de carne - peixe, fígado e frango, azeitona, manteiga e queijo (ANFARMAG, 2019). A seleção de um flavorizante adequado torna a preparação do sabor mais agradável ao paladar, pois, permite a imediata identificação de um sabor aceito e uma curta duração de um sabor residual desagradável (*aftertaste*) (AHMED; KASRAIAN, 2002; SOHI; SULTANA; KHAR, 2004; THOMBRE, 2004). Existem, disponíveis na literatura, informações acerca das preferências de sabor conhecidas para muitas das inúmeras espécies de animais.

4 PREFERÊNCIA E ACEITABILIDADE DOS MEDICAMENTOS POR CÃES E GATOS

A palatabilidade das formulações farmacêuticas pode ser pesquisada, indiretamente, a partir da avaliação da preferência por determinados sabores, bem como da aceitação de medicamentos pelos animais, empregando testes de aceitabilidade e preferência. Para o teste de aceitabilidade, uma condição real do uso do medicamento pelo animal é realizado, mediante a oferta de uma formulação por vez, sendo verificado se o consumo é ou não voluntário. Já no teste de preferência, ou palatabilidade relativa, duas ou mais formulações são oferecidas simultaneamente ao animal, sendo observada qual é a de primeira escolha, considerada a preferida (CARCIOFI; JEREMIAS, 2010; MÜLLER; UDÉN, 2007).

Litster et al. (2007) avaliaram a palatabilidade de formulações contendo pradofloxacina, doxiciclina ou ácido amoxicilina-clavulânico, no tratamento de infecções bacterianas do trato urinário inferior em gatos. Os animais foram distribuídos em três grupos de tratamento, dependendo dos resultados de susceptibilidade bacteriana. Todos os antimicrobianos foram apresentados em formas líquidas, ditas palatáveis. De acordo com a percepção dos tutores, não houve adesão voluntária dos animais a nenhuma das preparações testadas, evidenciado que a otimização do sabor e odor das formulações pode favorecer, tanto a adesão dos animais ao tratamento como o conforto dos proprietários na administração.

Gosselin, Maitland, e Civil (2010), avaliaram a palatabilidade de cães por duas formulações de comprimidos comercialmente disponíveis contendo carprofeno (comprimidos palatáveis) e meloxicam (comprimidos mastigáveis), empregando testes de preferência e aceitação. Segundo os autores, o consumo voluntário de comprimidos palatáveis de carprofeno ocorreu em 97,8% das ocasiões nas quais estes foram oferecidos em comparação com a oferta de comprimidos mastigáveis de meloxicam (13%), sugerindo que melhores resultados terapêuticos podem ocorrer com o uso dos primeiros.

A palatabilidade de um suplemento nutricional líquido (*Liquid Nutritional Supplement* - LNS) para gatos e cães, destinados à adição em dietas para estimular o apetite, foi avaliada em animais saudáveis, mediante a realização de testes de aceitabilidade. Foram avaliadas três diferentes concentrações dos produtos, chamados LNScat e LNSdog. Os testes de aceitação mostraram que ocorreram variações de aceitação das dietas em função das diferentes concentrações adicionadas dos LNS. Os autores observaram que, para os cães, houve uma correlação positiva fraca entre aceitação e idade, enquanto em gatos, tal correlação não foi

observada. No entanto, de maneira geral, o estudo demonstrou que o LNS é altamente palatável para cães e gatos saudáveis (VERBRUGGHE; JANSSEN; HESTA, 2012).

A baixa adesão à antibioticoterapia é um dos fatores que contribui para os crescentes relatos de casos de resistência ao uso de antibióticos na população de felinos e, o aumento da palatabilidade de formulações veterinárias, pode melhorar a aderência ao tratamento. Cron et al. (2014), avaliaram a aceitabilidade de gatos por três diferentes apresentações da marbofloxacin: comprimidos, comprimidos palatáveis e comprimidos em fase desenvolvimento farmacotécnico (nomeado EFEX). Testes de aceitação foram realizados em 24 gatos para comparar a ingestão espontânea e o consumo total dos produtos farmacêuticos. Os resultados indicaram que o EFEX foi mais palatável que a apresentação comprimido palatável e igualmente palatável ao comprimido.

Halos et al. (2015) compararam a preferência de cães por duas formulações de ectoparasiticidas orais, disponíveis comercialmente na forma de comprimidos mastigáveis, contendo os fármacos afoxolaner (NexGard®) ou fluralaner (Bravecto®). Os autores realizaram dois experimentos empregando 225 cães, separados em dois grupos (110 e 115 animais), para os quais os comprimidos mastigáveis contendo afoxolaner ou fluralaner foram oferecidos. Todos os animais tiveram a oportunidade de sentir o cheiro dos dois produtos. Em seguida, os produtos foram oferecidos simultaneamente para cada cão, durante 4 dias consecutivos. O consumo individual e o comportamento relacionado foram avaliados. Um total de 573 comprimidos mastigáveis de afoxolaner (71,9%) e 224 de comprimidos mastigáveis de fluralaner (28,1%) foram consumidos voluntariamente. A razão geral de consumo foi de 2,56 NexGard® para 1 Bravecto®, sendo o primeiro considerado preferido. Em um estudo semelhante, Carithers et al. (2016), compararam a preferência de cachorros pelo afoxolaner (NexGard®) e o sarolaner (Simparic®). A relação entre ambos foi de 4,4 para 1, sendo o NexGard® considerado preferido.

Em um estudo realizado por Sivén et al. (2017), os autores relatam a aceitação voluntária de somente 35% dos medicamentos oferecidos à uma população de 90 gatos, evidenciando a necessidade de desenvolver medicamentos com palatabilidade apropriada e de livre aceitação pela população felina, destacando a disponibilidade de formas farmacêuticas de fácil administração.

Aleo et al. (2018), avaliaram a preferência e a aceitabilidade de formulações de comprimidos contendo flavorizantes denominados palatáveis em comparação com um comprimido placebo de açúcar, empregando dois grupos de cães: um contendo somente animais

da raça Beagle e outro contendo animais de diferentes raças. Quatro estudos foram delineados e os autores concluíram que houve grande variabilidade na preferência e aceitação dos animais pelas formas farmacêuticas, principalmente, em função do sabor e odor das preparações oferecidas, além da ocorrência de variação dos resultados em função dos grupos de animais estudados.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A adesão ao tratamento é essencial para o sucesso da farmacoterapia veterinária, inclusive para a redução de casos de resistência ao uso de antimicrobianos. Como um dos fatores que contribui para o sucesso da terapêutica veterinária, a adesão ao tratamento depende da aceitação espontânea dos medicamentos pelos animais, o que favorece a administração por seus tutores e/ou cuidadores. A aceitação espontânea pode, por sua vez, ser favorecida pelo desenvolvimento de formulações palatáveis, obtidas pela incorporação dos flavorizantes preferidos de cada animal. Apesar dos laboratórios farmacêuticos investirem, na atualidade, na pesquisa destas formulações, medicamentos personalizados, contendo flavorizantes de escolha dos tutores, podem ser preparados nas farmácias magistrais, contribuindo para a melhora da qualidade dos animais de estimação e dos anseios dos tutores em proporcionar o conforto aos seus PETs.

6 REFERÊNCIAS

ABINPET (Associação Brasileira da Indústria de Produtos de Animais de Estimação). **O setor e seus números**. Disponível em: <<http://abinpet.org.br/faq/>>. Acesso em: 14 jul. 2019.

AHMED, I.; KASRAIAN, K. Pharmaceutical challenges in veterinary product development. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n. 6, p. 871-882, 2002.

ALLEN, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 9 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

ALEO, M. et al. Palatability testing of oral chewables in veterinary medicine for dogs. **Open Journal of Veterinary Medicine**, v. 8, p. 107-118, 2018.

ANFARMAG (Associação Nacional dos Farmacêuticos Magistrais). **Mercado veterinário cresce e pede soluções especiais**. Disponível em:

<https://issuu.com/revistaanfarmac/docs/simples_anfarmag_ed108/34>. Acesso em: 24 jul. 2019.

BARBIERI, V. **O paladar**. Disponível em:

<<http://www.canaltortuga.com.br/amici/noticias/?acao=lm&tp=2&id=251>> Acesso em: 24 jul. 2019.

BREER, H. Sense of smell: recognition and transduction of olfactory signals. **Biochemical Society Transactions**, v. 31, p. 113-116, 2003.

BRADSHAW, J. W. S. Sensory and experiential factors in the design of foods for domestic dogs and cats. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 50, n. 1, p. 99-106, 1991.

CARCIOFI, A. C.; JEREMIAS, J. T. Progresso científico sobre nutrição de animais de companhia na primeira década do século XXI. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 35-41, 2010

CARITHERS, D. S. et al. Comparison of preference demonstrated by dogs when offered two commercially available oral ectoparasiticide products containing either afoxolaner (Nexgard®) or sarolaner (Simparica™). **The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v. 14, n. 3, p. 217-222, 2016.

CARNEIRO, A. D. S. **Desenvolvimento de petiscos para gatos: do produto ao mercado consumidor**. 2017. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga, Universidade de São Paulo, 2017.

COSTA, P. Q.; REY, L. C.; COELHO, H. L. L. Prescrição e preparo de medicamentos sem formulação adequada para crianças: um estudo de base hospitalar. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 45, n. 1, p. 57-66, 2009.

CRMV (Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo). **As razões e consequências da humanização dos pets**. Disponível em:

<<https://www.crmvsp.gov.br/informativos/Informativo%20-%2060%20-%20web.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2019.

CRON, M. et al. Palatability evaluation study of a new oral formulation of marbofloxacin in cats. **Veterinary Record**, v. 175, p. 88-96, 2014.

EMA (European Medicines Agency). **EMA/CVMP/EWP/206024/201**. Guideline on the Demonstration of Palatability of Veterinary Products. 2012. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-guideline-demonstration-palatability-veterinary-medicinal-products_en.pdf> Acesso em: 14 de julho de 2019.

FORBES, J. M. **Voluntary food intake and diet selection in farm animals**. 2. ed. United Kingdom: CAB International, 1995.

GOSSELIN, J.; MAITLAND, T. P.; CIVIL, J. Relative preference of dogs for two commercial oral tablet formulations of carprofen. **Revue de Medecine Veterinaire**, v. 161, n. 2, p. 67-71, 2010.

GOUVÊA, F. D. L. et al. Influência dos tutores no hábito ingestivo de cães. **Archives of Veterinary Science**, v. 23, n. 1, p. 05-06, 2018.

HALOS, L. et al. Preference of dogs between two commercially available oral formulations of ectoparasiticide containing isoxazolines, afoxolaner or fluralaner. **Open Journal of Veterinary Medicine**, v. 5, p. 25-29, 2015.

HILL, J. Impacts of nutritional technology on feeds offered to horses: A review of effects of processing on voluntary intake, digesta characteristic and feed utilisation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 138, n. 2, p. 92-117, 2007.

HUANG, A. L. et al. The cells and logic for mammalian sour taste detection. **Nature**, v. 442, n. 7105, p. 934-938, 2006.

HU, L. L.; SHI, P. Smallest bitter taste receptor (T2Rs) gene repertoire in carnivores. **Zoological Research**, v. 34, n. 3, p. 75-81, 2013.

JIANG, P. et al. Major taste loss in carnivorous mammals. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 13, p. 4956-4961, 2012.

LITSTER, A. et al. Clinical efficacy and palatability of pradofloxacin 2.5% oral suspension for the treatment of bacterial lower urinary tract infections in cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, p. 990-995, 2007.

LOCATELI, G. R. et al. **Medicamentos analgésicos e antitérmicos de uso pediátrico: flavorizantes, edulcorantes, corantes e suas origens como possíveis indutores de reações adversas.** In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA CIÊNCIAS E HUMANIDADES, 18, 2018, Palmas. Anais da Jornada Dde Iniciação Científica Ciências e Humanidades. Palmas: Centro Universitário Luterano de Palmas, 2018. p. 526-530.

MARINHO, R. N. A.; CABRAL, C. H. K. Estudo de adaptações de formulações farmacêuticas em um Hospital Universitário Pediátrico. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**, v. 5, n. 3, p. 12-21, 2014.

MIZUSHIGE, T.; INOUE, K.; FUSHIKI, T. Why is fat so tasty? Chemical reception of fatty acid on the tongue. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 53, n. 1, p. 1-4, 2007.

MOLYNEUX, R. J.; RALPHS, M. H. Plant toxins and palatability to herbivores. **Journal of Range Management**, v. 45, n. 1, p. 13-17, 2007.

MÜLLER, C. E.; UDÉN, P. Preference of horses for grass conserved as hay, haylage or silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 132, n. 1-2, p. 66-78, 2007.

OGOSHI, R. C. S. et al. Conceitos básicos sobre a nutrição e alimentação de cães e gatos. **Ciência Animal**, v. 25, n. 1, p. 64-75, 2015.

PAYNE-JOHNSON, M. et al. An evaluation of the relative palatability of two commercial oral tablet formulations of carprofen and meloxicam in dogs using acceptance and preference tests. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 158, n. 10, p. 519-524, 2007.

PETRY, G.; FOURIE, J.; WOLKEN, S. Comparison of the palatability of a new flavoured Drontal Plus tablet (Drontal[®] Plus Treat 10 kg) and Milbemax[®] chewable tablets when presented to privately owned dogs. **Open Journal of Veterinary Medicine**, v. 4, p. 163-169, 2014.

PINTO, A. F. R. **Panorama nacional de medicação de cães e gatos sem aconselhamento médico-veterinário**. 2012. 124 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2012.

PIZZATO, D. A.; DOMINGUES, J. L. Palatabilidade de alimentos para cães. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 5, n. 2, p. 504-511, 2008.

RAWSON, N. et al. **The neurobiology of taste and smell**. 2. ed. Wiley-Liss: New York, 1990.

ROCHA, L. O. **Suínos na fase de creche alimentados com rações extrusadas com ou sem flavorizantes: desempenho e degestibilidade**. 2009. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

SHANG, S. et al. The repertoire of bitter taste receptor genes in canids. **Aminoacids**, v. 49, n. 7, p. 1159-1167, 2017.

SIVÉN, M. et al. Difficulties in administration of oral medication formulations to pet cats: an e-survey of cat owners. **Veterinary Record**, v. 180, n. 10, p. 250-254, 2017.

SOHI, H.; SULTANA, Y; KHAR, R. K. Taste masking technologies in oral pharmaceuticals: recent developments and approaches. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 30, n. 5, p. 429-448, 2004.

SOUZA, B. D. et al. Preparo e avaliação da qualidade de pós medicamentosos divididos contendo captopril para o uso pediátrico. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**, v. 8, n. 4, p. 45-51, 2018.

STRAPASSON, G. C. et al. Percepção de sabor: uma revisão. **Visão Acadêmica**, v. 12, n. 1, p. 65-73, 2011.

THOMBRE, A. G. Oral delivery of medications to companion animals: Palatability considerations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 10, p. 1399-1413, 2004.

THOMPSON, J. E.; DAVIDOW, L. W. **A Prática farmacêutica na manipulação de medicamentos**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

VADUREL, A.; GOGNY, M. L. Odorat du chien, aspects physiologiques et facteurs de variation. **Point Vét**, v. 28, n. 181, p. 9-16, 1997.

VERBRUGGHE, A.; JANSSEN, G. P. J.; HESTA, M. Palatability of different concentrations of a liquid nutritional supplement in healthy cats and dogs of different ages and breeds. **Veterinari Medicina**, v. 57, n. 6, p. 300–307, 2012.

VISSER, J. C. et al. Personalized Medicine in pediatrics: The clinical potential of orodispersible films. **American Association of Pharmaceutical Scientist**, v. 18, n. 2, p. 267-272, 2017.

WATSON, T. Palatability: feline food preferences. **Veterinary Times**, v. 41, p. 1-8, 2011.

YI, T. The application prospects and development trends of orally disintegrating tablets to dogs. **Ciência Rural**, v. 47, n. 4, e20160614, 2017.

ZANATTA, C. P. et al. Fatores que regulam o consumo e a preferência alimentar em cães. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 15, n. 2, p. 109-114, 2016.



Capítulo

11

Sistemas de liberação de fármacos baseados em micro e nanopartículas

Nubya Nascimento Costa¹

Driéle Lutzke²

Gabriel do Nascimento Moulin³

Marcos Vinicius Gonçalves Viana⁴

Eduardo Vargas de Oliveira⁵

Janaina Cecília Oliveira Villanova⁶

Suzana Gonçalves Carvalho⁷

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, email: nubyacosta@hotmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo, email: drielelutzke@gmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo, email: gabriel.n.moulin@hotmail.com

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, email: marcos16viana@gmail.com

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, email: duvargass@hotmail.com

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo, email: farmacotecnica@yahoo.com.br

⁷ Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, email: suzana2994@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

Tanto os medicamentos disponíveis comercialmente quanto aqueles em fase de desenvolvimento podem ser classificados conforme o tipo de liberação do fármaco neles contidos. Medicamentos tradicionais, que exercem sua ação local ou sistemicamente, em um curto espaço de tempo após a administração, são ditos de liberação convencional (imediate). Nestes sistemas, a forma farmacêutica é um mero suporte para o fármaco, não exercendo qualquer efeito sobre sua cedência. Assim, a concentração do fármaco no organismo permanecerá dentro da janela terapêutica por um período curto, requerendo a administração de uma nova dose em intervalo de tempo menor, de modo a garantir a eficácia terapêutica do tratamento (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013; AULTON; TAYLOR, 2016).

Outros tipos de medicamentos, nos quais o tempo e o local de liberação do fármaco são diferentes dos convencionais, são conhecidos como sistemas de liberação modificada de fármacos (SLMFs). Estes são desenvolvidos para prolongar o tempo de liberação do fármaco, sustentar sua concentração plasmática e controlar a sua localização temporal e espacial *in vivo*, permitindo a administração de um número menor de doses ao longo do dia. Nos SLMFs, tanto a forma farmacêutica quanto os excipientes, desempenham funções específicas sobre o controle da liberação, modulando-a. Entre estes se destacam os comprimidos ou cápsulas de liberação controlada ou prolongada e de liberação retardada (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013; AULTON; TAYLOR, 2016). Os SLMFs têm, primariamente, o objetivo de aumentar a adesão ao tratamento e o conforto dos pacientes, uma vez que reduz o número de doses diárias, o que é desejável, especialmente em casos de tratamentos crônicos. Outro intuito é o de melhorar a absorção e otimizar a biodisponibilidade dos fármacos, permitindo reduções de doses e dos efeitos colaterais, sem prejuízo para o efeito terapêutico desejado (CANCINO; MARANGONI; ZUCOLOTTO, 2014).

Um tipo especial de SLMF compreende aqueles de desempenho terapêutico avançado, idealizados para, além de modular o local e o tempo de liberação dos fármacos, direcionar a liberação para que ela ocorra em sítios específicos do organismo, aumentando a seletividade e reduzindo a toxicidade, uma vez que a dose de fármaco pode ser direcionada para certos tecidos – terapia de *targeting* (direcionamento). Estes sistemas se baseiam em vetores micro e nanoparticulados, conhecidos como micropartículas e nanopartículas, respectivamente (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013; CANCINO; MARANGONI; ZUCOLOTTO, 2014; VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2010).

Partículas com diâmetro maior ou igual a 1 μm (1000 nm) são conhecidas como micropartículas, enquanto aquelas cujo diâmetro é menor que 1 μm são denominadas nanopartículas (DIMER et al., 2013). A ciência que estuda estas últimas é chamada nanotecnologia. Por definição, nanotecnologia se refere à pesquisa e desenvolvimento de materiais, estruturas, dispositivos e sistemas, nos níveis atômico, molecular e macromolecular, em escala de aproximadamente 1 - 100 nanômetros, com vistas a fornecer uma compreensão fundamental dos fenômenos que o fundamentam.

Estudos sobre as aplicações da nanotecnologia na medicina veterinária têm crescido nas últimas décadas, principalmente, no que diz respeito ao desenvolvimento de SLMFs para o tratamento e diagnóstico de doenças (SCOTT, 2007). No presente capítulo serão apresentados o conceito e os principais aspectos que caracterizam alguns dos SLMFs de desempenho terapêutico avançado nanoparticulados mais estudados na atualidade.

2 SISTEMAS NANOPARTICULADOS

2.1 LIPOSSOMAS

Lipossomas se caracterizam como vesículas compostas por uma ou mais camadas lipídicas, que se organizam na forma de bicamadas, após hidratação espontânea, em torno de um compartimento central aquoso. São compostos a partir de fosfolípidos naturais ou sintéticos, derivados da fosfatidilcolina (lecitina extraída da gema do ovo), podendo ser preparados por técnicas diversas. Os lipossomas assumem estruturas unilamelares (casca/núcleo) ou multilamelares (várias camadas casca/núcleo), conforme a composição e a técnica de preparo. Lipossomas possuem tamanho relatado entre 20 e 1000 nm. Nos lipossomas, fármacos hidrossolúveis ficam aprisionados nas camadas aquosas enquanto fármacos lipossolúveis permanecem solubilizados nas bicamadas lipídicas. Ainda, os fármacos podem permanecer ligados à superfície das vesículas (VIEIRA; REDIGUIERI; REDIGUIERI, 2013; VILLANOVA; CONSIGLIERI, 2000).

A superfície dos lipossomas pode ser modificada e/ou funcionalizada, conforme o objetivo terapêutico a ser atendido. Lipossomas química ou biologicamente marcados podem apresentar poder aumentado de direcionamento e seletividade dos SLMFs. Tais carreadores têm sido muito estudados e se apresentam como alternativa promissora para o tratamento de doenças infecciosas e parasitárias, principalmente de agentes intracelulares, visto que os lipossomas são

eficientemente internalizados por macrófagos, induzindo fagocitose e diminuição da carga bacteriana nos órgãos afetados (FLORENCE; ATTWOOD, 2003; GRECO et al., 2012; LABANA et al., 2002; VILLANOVA; CONSIGLIERI, 2000). Entre os sistemas nanoparticulados baseados em lipossomas já disponíveis comercialmente, se encontram a citarabina, a doxorubicina e a anfotericina B lipossomadas (DE NARDI; REIS FILHO; VIÉRA, 2016; HILAL-DANDAN; BRUNTON, 2015).

Lipossomas convencionais e lipossomas revestidos por polietilenoglicóis de longa circulação, contendo tartarato de antimônio e potássio, foram empregados no tratamento da esquistossomose induzida por *Schistosoma mansoni* em camundongos. Os autores observaram que lipossomas de longa circulação reduziram a toxicidade aguda relacionada ao fármaco e a efetividade do tratamento durante o estágio tardio da infecção (MELO et al., 2003).

2.2 MICELAS POLIMÉRICAS

Micelas poliméricas são partículas nanométricas que apresentam um núcleo hidrofóbico estabilizado por um envoltório hidrofílico, característica que permite sua utilização para a solubilização de fármacos poucos solúveis em água, uma vez que o interior hidrofóbico apresenta elevada capacidade para encapsular compostos lipofílicos. Simultaneamente, o exterior hidrofílico atua como interface estabilizante entre o núcleo e o ambiente externo aquoso (FIGUEIRAS, 2016; VIEIRA; REDIGUIERI; REDIGUIERI, 2013). Embora as micelas sejam comumente representadas como esferas, essas estruturas nem sempre apresentam este formato ou são sólidas (OWEN; CHAN; SHOICHET, 2012). Possuem tamanho relatado entre 5 e 200 nm (DIMER et al., 2013).

As micelas poliméricas têm capacidade de se auto-organizarem já que são preparadas a partir de polímeros anfifílicos de baixa massa molar, que se associam em água quando estão presentes em quantidade acima da concentração micelar crítica. A automontagem ou auto-organização é denominada também *self-assembly* (MORAES; CASELI, 2015; OWEN; CHAN; SHOICHET, 2012; VIEIRA; REDIGUIERI; REDIGUIERI, 2013). A localização do fármaco na micela dependerá de sua natureza. Fármacos apolares se ligarão ao núcleo hidrofóbico, enquanto aqueles polares se depositarão na superfície da micela (AULTON; TAYLOR, 2016). Desta forma, o fármaco permanece protegido da degradação ao longo do trato gastrointestinal, prolongando o seu tempo de permanência no TGI e facilitando a sua passagem através das barreiras epiteliais. Assim, a absorção pode ser melhorada e o fármaco pode ser direcionado ao

local onde exercerá a ação terapêutica (TOPETE; BARBOSA; TABOADA, 2015). Entre os fármacos comumente utilizados na farmacoterapia veterinária, há relatos de pesquisas envolvendo o preparo de micelas poliméricas contendo doxorubicina e ivermectina (HOUSHAYMI et al., 2019; LIN et al., 2016; SENEVIRATHNE et al., 2017; ZHOU et al., 2018).

2.3 DENDRÍMEROS

Os dendrímeros ou polímeros dendríticos são um tipo especial de polímeros, descritos pela primeira vez no início da década de 80 por Tomalia et al. (1985). Estas estruturas apresentam uma estrutura peculiar: compreendem nanoestruturas tridimensionais formadas por cadeias altamente ramificadas a partir do núcleo. Apresentam arquitetura globular bem definida, massa molar controlada, baixa polidispersividade, valências múltiplas e alto grau de ramificação e funcionalização (AULTON; TAYLOR, 2016). Os dendrímeros são construídos por meio de reações químicas controladas e sua estrutura se assemelha a várias estruturas biológicas (ÁLVAREZ; RODRÍGUEZ, 2010). Dendrímeros têm tamanho relatado entre 1 e 10 nm (ROSSI-BERGMANN, 2008).

Nos dendrímeros, o fármaco pode ser ligado na superfície funcionalizada da estrutura ou entre as cadeias poliméricas (FIGUEIRAS, 2016). Algumas vantagens dos dendrímeros em relação a outros nanocarreadores são, principalmente, sua elevada biocompatibilidade e estabilidade (CANCINO; MARANGONI; ZUCOLOTTO, 2014; ROSSI-BERGMANN, 2008). A nistatina e a terbinafina são antifúngicos utilizadas na medicina veterinária e para os quais existem relatos da incorporação em dendrímeros, com aumento da atividade antifúngica, quando comparados ao uso dissolvido em dimetilsulfóxido (DMSO) (KHAIRNAR et al., 2010).

2.4 NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS (NLSS)

As nanopartículas lipídicas sólidas (NLSs) são formadas pela dispersão de lipídeos com alto ponto de fusão em solução aquosa, não requerendo o uso de solventes orgânicos na sua produção. Assim como os demais sistemas nanoparticulados, as NLSs demonstram grande capacidade de encapsular fármacos hidrofílicos e lipofílicos em sua matriz lipídica (DIMER et

al., 2013; FIGUEIRAS, 2016; PARDEIKE; HOMMOSS; MÜLLER, 2009). As nanopartículas lipídicas apresentam tamanho superior a 50 nm e possuem estrutura semelhante à de nanoemulsões, porém, o núcleo lipídico se encontra em estado sólido à temperatura ambiente e corporal (AULTON; TAYLOR, 2016; BONILLA et al., 2016; VIEIRA; REDIGUIERI; REDIGUIERI, 2013).

Fármacos hidrofílicos e lipofílicos podem ser encapsulados nas NLSs e, no caso de fármacos pouco solúveis em água, as nanopartículas lipídicas oferecem, além do aumento da absorção e proteção contra a degradação *in vivo*, o direcionamento para sítios específicos, aumentando a seletividade e reduzindo a toxicidade relacionada. Desta forma, a biodisponibilidade é aumentada (SHAH et al., 2015).

Tem sido proposto o uso de NLSs preferencialmente, para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos de uso tópico. Suas principais vantagens são: compatibilidade biológica; controle eficiente da liberação transdérmica, em função do pequeno tamanho e da elevada área de contato, aumentando a quantidade de fármaco que penetra através da pele; e, alta capacidade de hidratação da pele em função das propriedades oclusivas, promovidas pelo alto conteúdo de lipídeos (DIMER et al., 2013). NLSs têm sido empregadas em estudos contendo fármacos pentamidina e própolis, destinados ao tratamento da leishmaniose tegumentar e da mastite bovina, respectivamente (MACHADO et al., 2017; SILVA, 2016).

2.5 NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS (NPS)

Nanopartículas poliméricas são sistemas transportadores coloidais, denominados nanocápsulas ou nanoesferas, sendo os primeiros preparados na forma de vesículas (casca/núcleo) e, os segundos, como matrizes compactas (DIMER et al., 2013). Nas NPs, o fármaco pode se encontrar dissolvido ou retido nos polímeros da matriz polimérica, ou ainda, incorporado no núcleo. Em outras palavras, as nanocápsulas funcionam como reservatório do fármaco, contido em um núcleo que pode ser líquido ou sólido, isolado do meio externo por um polímero. Já nas nanoesferas, o fármaco se apresenta homogeneamente disperso ou solubilizado na matriz polimérica, que é compacta (DIMER et al., 2013).

Ao contrário das NLSs, preparadas a partir de lipídeos, as NPs são obtidas a partir de polímeros naturais como gelatina, quitosanas, alginatos e outros polissacarídeos ou, polímeros sintéticos, como poliésteres alifáticos, derivados dos ácidos acrílico e metacrílico ou derivados de cianoacrilato de alquila. Diferentes técnicas podem ser empregadas no preparo das NPs. Um

exemplo de produto comercialmente disponível baseado nas NPs é o Abraxane[®], do laboratório farmacêutico Abraxis, que contém paclitaxel. O medicamento é empregado no tratamento do câncer de mama, de pulmão e de ovário (DIMER et al., 2013). Dentre as vantagens do uso de NPs poliméricas baseadas em polímeros naturais como carreadores de fármacos, o baixo custo dos materiais de partida; a baixa toxicidade; boa compatibilidade biológica; a capacidade de estabelecer interações químicas que permitem a funcionalização das NPs; e, a possibilidade de obtenção de propriedades diferenciadas, como a mucoadesão, são as principais (AZUMA et al., 2015; BONI et al., 2018; WANG; DONG, 2015).

Um tipo especial de NPs, preparadas a partir de alguns metais magnéticos, são denominadas nanopartículas magnéticas, idealizadas para o preparo de biossensores, como marcadores de imagens em sistemas diagnósticos e, para o desenvolvimento de SLMFs (MISHIMA et al., 2007). As NPs magnéticas atuam a partir da aplicação de campos magnéticos que propiciam o movimento e o aquecimentos das mesmas, causando danos às células com as quais estão interagindo (TOMA; SILVA; CONDOMITTI, 2016; VALADARES; ALVES; CHAVES, 2005). Dentre os materiais magnéticos, o óxido de ferro destaca-se por seu baixo custo, disponibilidade, estabilidade e facilidade de preparo (TOMA; SILVA; CONDOMITTI, 2016). Nanopartículas de prata também são amplamente estudadas, uma vez que apresentam atividade bactericida e bacteriostática comprovadas. No entanto, estas NPs também exibem propriedades citotóxicas principalmente para os macrófagos, o que pode desencadear respostas inflamatórias (MARTÍNEZ-GUTIERREZ et al., 2012).

2.6 NANOTUBOS DE CARBONO E FULERENOS

Nanotubos se constituem a partir de uma sequência de átomos de carbono, dispostos em uma estrutura cilíndrica longa e fina, sendo relacionados a outras duas formas de cristal de carbono: o grafite e o diamante. Já os fulerenos são moléculas de carbono puro compostas por pelo menos 60 átomos de carbono, que apresentam formato semelhante ao de uma bola de futebol ou de uma cúpula geodésica. Assim como os nanotubos, os fulerenos são inertes, não tóxicos e por causa de seu tamanho, podem interagir facilmente com células, proteínas e vírus, podendo ser utilizados no preparo de biossensores com finalidade diagnóstica e/ou terapêutica, atuando como sistema de liberação controlada de fármacos (MACHADO et al., 2014; SOUZA FILHO; FAGAN, 2007).

2.7 NANOCRISTAIS

Nanocristais (NCs) é o termo utilizado para descrever os fármacos que se apresentam como partículas sólidas de dimensões nanométricas, produzidas mediante moagem sob alta energia. Os NCs assim obtidos podem ser incluídos em diferentes formas farmacêuticas líquidas ou sólidas, de uso oral ou parenteral, na presença de estabilizantes - tensoativos ou polímeros ramificados. A nanocristalização de fármacos é uma técnica simples e eficaz, que vem sendo considerada promissora e viável por apresentar alta reprodutibilidade (DIMER et al., 2013; DURÁN et al., 2010; FANGUEIRO et al., 2012). Os NCs apresentam, usualmente, dimensões inferiores a 100 nm e seu uso pode ser útil em diferentes formulações para uso terapêutico e diagnóstico (FANGUEIRO et al., 2012).

Os NCs por si só, não se constituem como SLMFs mas, podem ser incorporados à estes. Uma vez que apresentam tamanho muito reduzido, os NCs apresentam elevada solubilidade e velocidade de dissolução aumentada, o que melhora a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água. Há relatos do preparo de nanossuspensões, cápsulas e comprimidos preparados a partir de fármacos obtidos na forma de NCs (DURÁN et al., 2010; SHAH, 2006). O medicamento Rapamune[®], do laboratório farmacêutico Wyeth (USA), foi o primeiro comercializado a conter um fármaco obtido por esta tecnologia – o imunossupressor sirolimus, nas doses de 1 e 2 mg (DURÁN et al., 2010). Atualmente, medicamentos contendo fármacos antieméticos, hipercolesterolêmicos, antiarrítmicos, antiparasitários, antibióticos e anti-inflamatórios, se encontram em fase de desenvolvimento e de testes clínicos com vistas à comercialização.

Na Figura 1 se encontram representadas, esquematicamente, as estruturas dos lipossomas, dendrímeros, nanopartículas lipídicas sólidas, nanopartículas poliméricas, nanotubos de carbono e nanocristais.

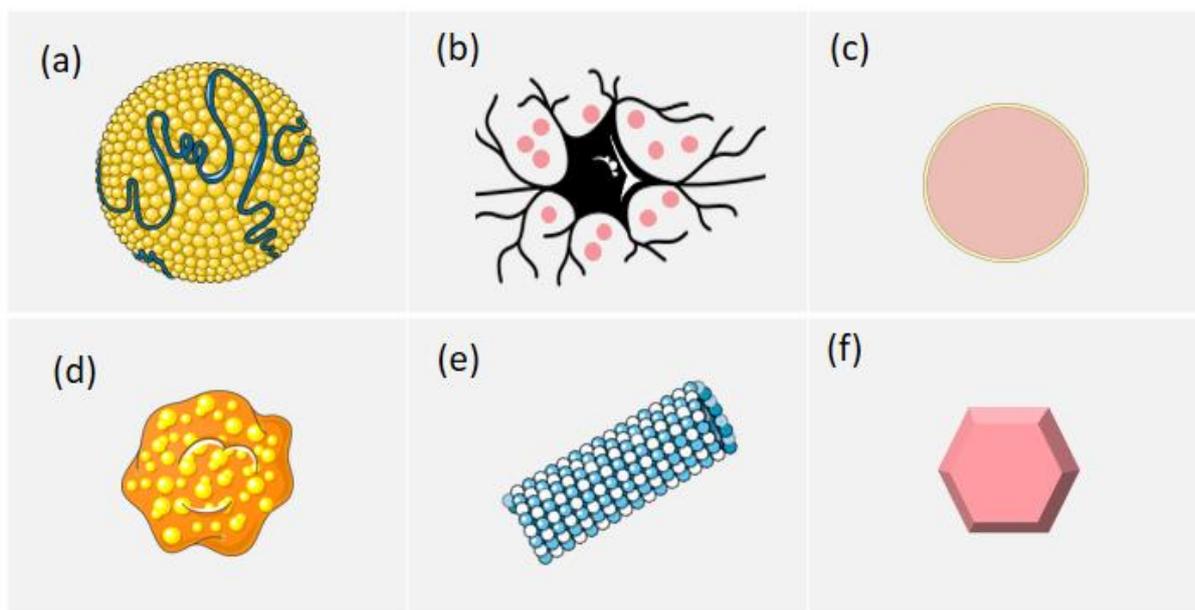


Figura 1: Representação esquemática de sistemas nanoestruturados: a) lipossomas; b) dendrímeros; c) nanopartículas lipídicas sólidas; d) nanopartículas poliméricas; e) nanotubos de carbono e f) nanocristais. Fonte: os autores.

3 APLICAÇÃO DOS SISTEMAS NANOPARTICULADOS NA MEDICINA VETERINÁRIA

A utilização de sistemas nanoparticulados é proposta, na clínica veterinária, tanto para diagnósticos como para a farmacoterapia, inclusive de imunização (vacinas), apresentando inúmeras vantagens relacionadas ao bem-estar dos animais e dos seus proprietários e tutores (BASTOS et al., 2016; DOLFINE; MATHEUS; DIETZE, 2018; OLSSON et al., 2011). Diversos estudos que comparam o desempenho de fármacos administrados na forma pura e incorporados em carreadores nanoparticulados, relatam que o uso desses últimos é capaz de reduzir o número de doses administradas durante o dia e/ou promover o direcionamento para sítios específicos no organismo, com diminuição da toxicidade, melhora da biodisponibilidade e maximização do efeito terapêutico. O Quadro 1 traz exemplos de sistemas de liberação de desempenho terapêutico avançados, baseados em nanopartículas, que têm sido desenvolvidos para uso na prática clínica veterinária, em diferentes espécies animais. Cabe ressaltar que tais sistemas se encontram em desenvolvimento ou nas fases pré-clínicas e clínicas de testes.

Quadro 1 - Exemplos de sistemas nanoparticulados e suas aplicações na medicina veterinária

Sistema nanoparticulado	Exemplos de fármacos estudados	Aplicações	Espécies estudadas
Dendrímeros	Imunoglobulina A	Vacina	Suíños
Micelas poliméricas	Ivermectina Propofol	Sistema de liberação de fármacos	Ovinos e equinos
Lipossomas	Vitamina E Doxorrubicina Antimoniato de meglumina Butorfanol Ribavarina Estreptomicina Gentamicina Diclofenaco Anfotericina B	Sistema de liberação de fármacos; Suplementação; Vacinas	Caninos, felinos, equinos, ovinos, suínos, bovinos e aves
Nanopartículas	Própolis Iodo e derivados Prata e derivados Cobre Ouro Antígenos	Suplementação; Sistema de liberação de fármacos; Vacinas	Aves, ovinos e bovinos
Nanopartículas magnéticas	Fatores estimulantes (IL2 e INF- γ)	Diagnóstico; Sistema de liberação de fármacos	Felinos

Fonte: Adaptado de: Underwood e van Eps (2012) e Mohanty et al. (2014).

Bontempo et al. (2000), administraram vitamina E incorporadas em lipossomas, em novilhas e observaram que a vitamina encapsulada teve biodisponibilidade aumentada, podendo ser considerada uma estratégia útil para a suplementação desta vitamina em bovinos, especialmente nas fases iniciais da vida, que requerem maior aporte da mesma.

Park e Han (2002), prepararam nanoesferas biodegradáveis de poli(ácido láctico-glicólico) (PLGA) contendo iodo-povidine para uso como desinfetante intramamário, visando o uso na profilaxia da mastite bovina. Em pesquisas semelhantes realizadas no Brasil, pesquisadores da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), desenvolveram NPs poliméricas contendo iodo para aplicação intramamária em ruminantes, como alternativa para o tratamento de mastite. As nanopartículas foram desenvolvidas com vistas a direcionar o iodo para a superfície do epitélio

glandular e para o interior de células polimorfonucleares, aumentando, a concentração disponível do fármaco. Nanocápsulas contendo própolis, visando o mesmo uso, também foram desenvolvidas pelo mesmo grupo. Ambos os sistemas se encontram sob segredo de patente e em fase clínicas de estudo em animais (BRANDÃO et al., 2012; MOSQUEIRA et al., 2010).

Hauck et al. (2006) prepararam lipossomas sensíveis à mudança de temperatura contendo doxorubicina para avaliação da dose tolerada e da dose mínima tóxica em cães, quando testados no tratamento de tumores sólidos de origem espontânea. Os autores concluíram que o tratamento foi bem tolerado pelos animais estudados.

Marques et al. (2008) preparam lipossomas contendo trifluralina para uso no tratamento da leishmaniose em cães e avaliaram a redução na carga parasitária alcançada após administração em 5 cães Beagle, fêmeas. Após o tratamento, ocorreu remissão geral dos sinais clínicos relacionados com a redução da carga parasitária e expressão de mRNA de citocina Th1.

Ribeiro et al. (2008) prepararam lipossomas contendo antimoniato de meglumina e avaliaram a efetividade da formulação para uso na redução da carga parasitária em cães infectados naturalmente por *Leishmania chagasi*. Os animais foram divididos em diferentes grupos que receberam o tratamento com lipossomas contendo o fármaco, lipossomas puros (sem o fármaco) e solução salina. A avaliação parasitológica da medula óssea esternal realizada 4 dias após a última dose mostrou a ocorrência de redução significativa da carga parasitária no grupo que recebeu os lipossomas contendo o fármaco, em comparação com os demais grupos. Avaliações imunocitoquímicas da pele, medula óssea, linfonodos cervicais, fígados e baços, 150 dias após o tratamento, indicaram supressão significativa da carga parasitária (maior que 95,7%) nos gânglios linfáticos, fígado e baço dos animais que receberam lipossomas com o fármaco. Silva et al. (2012) avaliaram a eficácia de lipossomas contendo uma associação entre o antimoniato de meglumina e alopurinol no tratamento da leishmaniose visceral canina. Animais naturalmente infectados por *Leishmania infantum* foram tratados e foi observada redução parasitária significativa na medula óssea e no baço dos cães infectados. Baseado nos resultados, 50% dos animais foram considerados curados ao fim do tratamento.

Lipossomas de doxorubicina foram desenvolvidos visando o tratamento de cães com mixossarcoma esplênico e uma redução significativa na toxicidade foi observada quando o sistema foi empregado, em comparação com o uso do fármaco sozinho (TESKE et al., 2011).

Raposo et al. (2017) desenvolveram NPs de ouro funcionalizadas com Co (II) e Zn (II) visando a utilização no tratamento do câncer de mama canino. As NPS exibiram valores de IC₅₀ menores que aqueles encontrados para o fármaco livre, quando estudados em células FR37-CMT, TS262 e TS265.

Calderon-Nieva et al. (2017), relacionam no artigo de revisão intitulado “Nanotecnologia de vacinas veterinárias: entrega pulmonar e nasal em animais de criação”, além dos objetivos e vantagens das vacinas veiculadas em nanocarreadores, uma série de trabalhos que relatam o preparo de vacinas para administração nasal e pulmonar em animais destinados à produção de alimentos, como gado, aves e suínos. Atualmente, diferentes fármacos já se encontram comercialmente disponíveis para administração pulmonar em gatos, cavalos e cães (AeroKat[®], AeroHippus[®] e AeroDowg[®], respectivamente) sem, no entanto, se apresentarem na forma nanoparticulada, o que pode agregar mais vantagens aos medicamentos e vacinas, de maneira geral.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Hoje em dia, o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos de desempenho terapêutico avançado, nomeadamente, de sistemas baseados na nanotecnologia, é de grande relevância. Produtos farmacêuticos veterinários com finalidade terapêutica, profilática e de diagnóstico, tem sido objeto de inúmeros estudos. Contudo, apesar dos avanços nas pesquisas, uma barreira à disponibilização dos produtos de nanotecnologia no mercado é o interesse das indústrias farmacêuticas em produzi-los, em decorrência dos altos custos envolvidos não somente na etapa de pesquisa, mas, também, na instalação de plantas fabris adequadas à produção em grande escala dos sistemas micro e nanoestruturados, bem como no controle de qualidade e em processo destes produtos. Atualmente, os produtos baseados em lipossomas, por exemplo, são comercializados por um alto valor, o que restringe o mercado consumidor. Neste contexto, para além da idealização de novos sistemas e do aperfeiçoamento daqueles já existentes, faz-se necessário desenvolver novas tecnologias voltadas para a produção e o controle de qualidade destes sistemas, permitindo a disponibilização de produtos com valores acessíveis.

5. REFERÊNCIAS

ALLEN, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 9 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013

ÁLVAREZ, A. M. R.; RODRIGUEZ, M. L. G. Formas farmacêuticas inovadoras y formas de

liberación sostenida. *In*: HERRERO, G. H. et al. **Tratado de Medicina Farmacéutica**. Madrid: Médica Panamericana, 2010.

AULTON, M. E.; TAYLOR, K. M. G. **Aulton - Delineamento de formas farmacêuticas**. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

AZUMA, K. et al. Anticancer and anti-inflammatory properties of chitin and chitosan oligosaccharides. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 6, n. 1, p. 33-49, 2015.

BASTOS, S. R. L. et al. Emulsão e microemulsão: novos sistemas de liberação controlada de fármacos no tratamento veterinário. **Medicina Veterinária**, v. 10, n. 1-4, p. 25-33, 2016.

BONI, F. I. Mucoadhesive nanostructured polyelectrolytes complexes modulate the intestinal permeability of methotrexate. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 111, p. 73-82, 2018.

BONILLA, J. C. et al. Applications of quantum dots in food science and biology. **Trends in Food Science & Technology**, v. 53, p. 75-89, 2016.

BONTEMPO, V. et al. Kinetic behavior of three preparations of alpha-tocopherol after oral administration to postpubertal heifers. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, p. 589-593, 2000.

BRANDÃO, H. M. et al. Compositions based on propolis nanocapsules which can be used as carriers for substances of interest, methods for producing same and use thereof. 2012. WO2012054999.

CALDERON-NIEVA, D. et al. Veterinary vaccine nanotechnology: pulmonary and nasal delivery in livestock animals. **Drug Deliv Translational Research**, v. 7, n. 4, p. 558-570, 2017.

CANCINO, J.; MARANGONI, V. S.; ZUCOLOTTO, V. Nanotecnologia em medicina: Aspectos fundamentais e principais preocupações. **Química Nova**, v. 37, n. 3, p.521- 526, 2014.

DE NARDI, A. B.; REIS FILHO, N. P.; VIÉRA, R. B. Quimioterapia antineoplásica. *In*: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B. **Oncologia em cães e gatos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016.

DIMER, F. A. et al. Impactos da nanotecnologia na saúde: produção de medicamentos. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1520-1526, 2013.

DOLFINI, T. F.; MATHEUS, J. P.; DIETZE, W. Nanotecnologia na terapia antálgica. **Veterinária em Foco**, v. 16, n. 1, p. 3-10 2018.

DURÁN, N. et al. Tecnologia de nanocristais em fármacos. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 151-158, 2010.

FANGUEIRO, J. F. et al. Desenvolvimento, produção e caracterização de nanocristais de fármacos pouco solúveis. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1848-1853, 2012.

- FIGUEIRAS, A. R. Aplicações terapêuticas de sistemas micelares poliméricos. **Boletim Informativo Geum**, v. 7, n. 2, p. 48-62, 2016.
- FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. **Princípios físico-químicos em farmácia**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2003.
- GRECO, et al. Janus-faced liposomes enhance antimicrobial innate immune response in *Mycobacterium tuberculosis* infection. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 21, p. 1360-1368, 2012.
- HAUCK, M. L. et al. Phase I trial of doxorubicin-containing low temperature sensitive liposomes in spontaneous canine tumors. **Clinical Cancer Research**, v. 12, p. 4004-4010, 2006.
- HILAL-DANDAN, R.; BRUNTON, L. L. **Manual de farmacologia e terapêutica de Goodman & Gilman**. Porto Alegre: AMGH, 2015.
- HOUSHAYMI, B. et al. Oleic acid increases uptake and decreases the P-GP-mediated efflux of the veterinary anthelmintic ivermectin. **Drug Research**, v. 69, n. 3, p. 173-180, 2019.
- KHAIRNAR, G. A. et al. Dendrimers: potential tool for enhancement of antifungal activity. **International Journal of PharmTech Research**, v. 2, n. 1, p. 736-739, 2010.
- LABANA, S. et al. Chemotherapeutic activity against murine tuberculosis of once weekly administered drugs (isoniazid and rifampicin) encapsulated in liposomes. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 20, n. 4, p. 301-304, 2002
- LIN, S. et al. Acute toxicity test of ivermectin injection mixed micelles. **Journal of Sichuan Agricultural University**, 2016.
- MACHADO, G. T. B. P. **Desenvolvimento e avaliação *in vitro* das atividades antimicrobiana e citotóxica de nanopartículas de própolis para potencial uso intramamário**. 2017. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.
- MACHADO, I. R. L. et al. Nanotubos de carbono: potencial de uso em medicina veterinária. **Ciência Rural**, v. 44, n. 10, p. 1823-1829, 2014.
- MARTÍNEZ-GUTIERREZ, F. et al. Antibacterial activity, inflammatory response, coagulation and cytotoxicity effects of silver nanoparticles. **Nanomedicine**, v. 8, n. 3, p. 328-336, 2012.
- MARQUES, C. et al. Efficacy of the liposome trifluralin in the treatment of experimental canine leishmaniosis. **The Veterinary Journal**, v. 178, p. 133-137, 2008.
- MELO, A. L. et al. Enhanced schistosomicidal efficacy of tartar emetic encapsulated in pegylated liposomes. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 255, n. 1-2, p. 227-230, 2003.

- MISHIMA, F. T. S.; IZUMI, Y; NISHIJIMA, S. Development of magnetic field control for magnetically targeted drug delivery system using a superconducting magnet. **IEEE Transactions on Applied Superconductivity**, v.17, n. 2, p. 2303- 2306, 2007.
- MOHANTY, N. N. et al. An overview of nanomedicine in veterinary science. **Veterinary Research International**, v. 2, n. 4, p. 90-95, 2014.
- MORAES, M. L.; CASELI, L. Sistemas supramoleculares. In: FERREIRA, M.; LEITE, F. L.; OLIVEIRA JR, O.; ROZ, A. L. **Nanoestruturas**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
- MOSQUEIRA, V. C. F. et al. Composição nanoparticulada contendo antibióticos para administração intramamária de uso animal. BR PI 1002601-0. 2010.
- OLSSON, D. C. et al. Marcadores fluorescentes coloidais: conceitos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 41, n. 6, p. 1043-1050, 2011.
- OWEN, S. C.; CHAN, D. P. Y.; SHOICHET, M. S. Polymeric micelle stability. **Nano Today**, v. 7, n. 1, p. 53-65, 2012.
- PARK, H.; HAN, H. Production and characterization of biodegradable povidine-iodine as intramamary disinfectant. **Journal of Veterinary Sciences**, v. 64, n. 8, p. 739-741, 2002.
- PARDEIKE, J.; HOMMOSS, A.; MÜLLER, R. H. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 366, n. 1-2, p. 170-184, 2009.
- RAPOSO, L. R. et al. Targeting canine mammary tumours via gold nanoparticles functionalized with promising Co (II) and Zn (II) compounds. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 25, n. 4, p.1537-1542, 2017.
- RIBEIRO, R. R. et al. Reduced tissue parasitic load and infectivity to sand flies in dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi* following treatment with a liposome formulation of meglumine antimoniate. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, p. 2564-2572, 2008.
- ROSSI-BERGMANN, B. A nanotecnologia: da saúde para além do determinismo tecnológico. **Ciência Cultura**, v. 60, n. 2, p. 54-57, 2008.
- SCOTT, N. R. Nanoscience in veterinary medicine. **Veterinary Research Communications**, v. 31, n. 1.1, p. 139-144, 2007.
- SENEVIRATHNE, S. A. et al. HDAC inhibitor conjugated polymeric prodrug micelles for doxorubicin delivery. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 5, n. 11, p. 2106-2114, 2017.
- SHAH, P. Use of nanotechnologies for drug delivery. **MRS Bulletin**, v. 31, n. 11, p. 894-899, 2006.
- SHAH, R. et al. **Lipid nanoparticles: production, characterization and stability**. New York: Springer, 2015.

SILVA, H. M. **Nanopartículas lipídicas contendo pentamidina para tratamento da Leishmaniose Tegumentar: obtenção e avaliação da liberação *in vitro***. 2016. 19 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão, 2016.

SILVA, S. M. S. et al. Efficacy of combined therapy with liposome-encapsulated meglumine antimoniate and allopurinol in treatment of canine visceral leishmaniasis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n. 6, p. 2858-2867, 2012.

SOUZA FILHO, A. G.; FAGAN, S.B. Funcionalização de nanotubos de Carbono. **Química Nova**, v. 30, n. 7, p. 1695-1703, 2007.

TESKE, E. et al. A randomized controlled study into the efficacy and toxicity of pegylated liposome encapsulated doxorubicin as an adjuvant therapy in dogs with splenic haemangiosarcoma. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 9, n. 4, p. 283-289, 2011.

TOMA, H. E.; SILVA, D. G.; CONDOMITTI, U. **Nanotecnologia experimental**. São Paulo: Edgard Blücher, 2016.

TOMALIA, D. A. et al. A new class of polymers: Starburst-dendritic macromolecules. **Polymer Journal**, v. 17, n. 1, p. 117-132, 1985.

TOPETE, A.; BARBOSA, S.; TABOADA, P. Intelligent micellar polymeric nanocarriers for therapeutics and diagnosis. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 41, p. 1-18, 2015.

UNDERWOOD, C.; van EPS, A.W. Nanomedicine and veterinary science: the reality and the practicality. **Veterinary Journals**, v. 193, n. 1, p. 12-23, 2012.

VALADARES, E. C.; ALVES, E. G.; CHAVES, A. S. **Aplicações da física quântica: do transistor à nanotecnologia**. São Paulo: Editora Livraria da Física, 2005.

VIEIRA, F. P.; REDIGUIERI, C. F.; REDIGUIERI, C. F. **A regulação de medicamentos no Brasil**. Porto Alegre: Artmed, 2013

VILLANOVA, J. C. O.; CONSIGLIERI, V. O. Aspectos farmacotécnicos dos lipossomas: produção, caracterização e estabilidade. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 36, n. 2, p. 179-200, 2000.

VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S. Aplicações Farmacêuticas de polímeros. **Polímeros**, v. 20, n. 1, p. 51-64, 2010.

WANG, C.; HO, P. C.; LIM, L. Y. Wheat germ agglutinin-conjugated PLGA nanoparticles for enhanced intracellular delivery of paclitaxel to colon cancer cells. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 40, n. 1-2, p. 201-10, 2010.

ZHOU, X. X. et al. pH-responsive polymeric micelles self-assembled from amphiphilic copolymer modified with lipid used as doxorubicin delivery carriers. **Royal Society of Chemistry**, v. 5, n. 3, p. 1-13, 2018.



Capítulo
12

Abordagem terapêutica no controle da dor em aves

Marieta Cristina Couto Kuster¹
Amanda Maria Miranda Rodrigues dos Santos²
Leonardo Oliveira Trivilin³

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

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

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

1 INTRODUÇÃO

Nos vertebrados em geral, a dor é um importante mecanismo de proteção responsável pela integridade dos tecidos e pela manutenção da vida do indivíduo. Porém, a partir do momento que a dor se torna patológica, ou seja, quando alguma injúria ou processo patológico está instalado, o paciente deve ser tratado, a fim de promover o bem-estar e qualidade de vida ao animal (HUEZA, 2008).

As aves possuem características evolutivas, principalmente por serem consideradas presas na natureza, que as fazem apresentar comportamentos diferenciados, principalmente quando se trata da demonstração de dor, visto que isso as deixariam mais vulneráveis no habitat em que vivem, tornando-as alvo fácil para predadores. Isso implica em maior dificuldade na precisão do diagnóstico da dor nesses pacientes, que geralmente apresentam sinais quando o estado geral está muito comprometido, o que na clínica aviária torna-se um desafio, pois dificulta o diagnóstico precoce e, conseqüentemente, melhores prognósticos (HAWKINS; PAUL-MURPHY, 2014).

Além do comportamento das aves, os estudos a respeito da farmacocinética e farmacodinâmica da maioria dos analgésicos nesses animais são escassos e isso reflete, na maioria das vezes na clínica aviária, no uso empírico de fármacos baseado em dosagens de espécies semelhantes. Porém, devido as particularidades fisiológicas e anatômicas de cada indivíduo a eficácia pode ser diferente, o que faz ser posto em questão se os resultados são realmente fidedignos (SINGH, 2010).

Diante do exposto, objetiva-se ao longo deste capítulo compilar informações sobre quais os principais analgésicos utilizados na clínica aviária, bem como o mecanismo de ação dos mesmos, vias de administração e as limitações do uso para o controle da dor aguda ou crônica.

2 RECONHECIMENTO E AVALIAÇÃO DA DOR EM AVES

Na avaliação da dor deve-se levar em conta a espécie, o ambiente, o sexo, idade e presença de doenças, visto que a mesma interfere na fisiologia e no comportamento do animal. O fator emocional da dor nas aves é de difícil tradução para os seres humanos, pois a maioria das espécies não apresenta diferenças na expressão facial e, evidentemente, não são capazes de se comunicar verbalmente. Na espécie humana a dor é uma sensação que pode sobretudo ser

expressa pela verbalização, mas nas aves o reconhecimento da dor é determinado apenas pela interpretação do comportamento exercido por elas (HAWKINS; PAUL-MURPHY, 2014).

A manifestação da dor pode variar de acordo com a espécie, pois a sensibilidade também varia, seja na resposta consciente ou na resposta aos métodos analgésicos empregados. É importante também atentar-se aos hábitos da espécie em questão, por exemplo, aves noturnas devem ser observadas a noite onde apresentam maior atividade e onde possivelmente será notado alteração comportamental. Saber o comportamento normal da espécie também é fundamental para poder reconhecer um comportamento atípico (HAWKINS; PAUL-MURPHY, 2014; LE MAHO et al., 1992).

No geral alguns comportamentos das aves evoluíram para a sobrevivência das espécies, isso inclui por exemplo, posição estática quando observadas no intuito também de demonstrar menor fragilidade perante os predadores, o que dificulta a avaliação da dor (MATHEWS, 2000).

Dentre as alterações de comportamento que levam a associação com dor aguda ou crônica está o mau cuidado com as penas. As aves têm o hábito frequente de limpeza e impermeabilização das penas (OLIVEIRA; SOUZA; SILVA, 2014). A falta desse cuidado pode estar relacionada com a dor, porém, a limpeza obsessiva e exagerada pode indicar presença de dor crônica. Alterações no comportamento social das aves como o isolamento de uma ave em relação aos demais do bando também podem indicar que este indivíduo está com dor (LE MAHO, et al., 1992).

A confiabilidade nos métodos para avaliação de dor nas aves ainda é muito subjetiva. Uma forma de conseguir melhor avaliação, inclusive da resposta terapêutica em relação a dor é criar critérios baseados em um repertório de comportamentos apresentados pelo animal que pode sugerir a presença ou não de dor. O uso de etogramas pode ser válido para criação de escalas para observação da dor, visto que, conhecendo comportamentos normais da espécie é mais fácil pressupor alterações de comportamento como manifestação dolorosa no paciente. A garantia de que a dor de uma ave foi eficientemente tratada depende de observações antes e depois da intervenção terapêutica (HAWKINS; PAUL-MURPHY, 2014).

3 ANALGESIA PREVENTIVA

Foi demonstrado em seres humanos, que procedimentos cirúrgicos ou dolorosos causadores de dano ao tecido podem levar a uma sensibilização prolongada no sistema nervoso, induzindo o desconforto pós-operatório pela presença da dor. Assim, a analgesia preventiva

surge com o intuito de prevenir essa sensibilidade administrando-se analgésicos antes que o estímulo nocivo seja realizado, além de melhorar a recuperação e diminuir potencialmente a dosagem de anestésicos empregados no protocolo cirúrgico (HAWKINS; PAUL-MURPHY, 2014; LONGLEY, 2008; WALL, 1994).

A analgesia preventiva tem sido cada vez mais implementada na medicina veterinária, sendo que o uso de opióides, anti-inflamatórios não esteroides (AINE) e/ou anestésicos locais podem impedir a transmissão de estímulos dolorosos para o sistema nervoso central, podendo diminuir o desconforto no pós-operatório pela diminuição da inflamação e da dor, contribuindo para recuperação mais rápida do paciente (HAWKINS; PAUL-MURPHY, 2014).

3.1 OPIÓIDES

O termo *opioide* passou a ser empregado aos derivados advindos da purificação do ópio. São amplamente utilizados no tratamento de dores intensas, principalmente em pós-cirúrgicos ou traumatismos. Após a sua absorção, o fármaco opioide é rapidamente distribuído aos tecidos dependendo do grau de lipofilia do agente, chegando assim, ao cérebro e impedindo que estímulos nocivos cheguem ao sistema nervoso central. Podem ser classificados como agonistas, agonistas parciais, agonistas/antagonistas mistos ou antagonistas, dependendo à qual receptor específico se ligará (LAMONT; MATHEWS, 2014; WELCH; MARTIN, 1997).

Existem três receptores principais de ligação dos opióides: os tipo μ , responsáveis pela analgesia, depressão respiratória, sedação, dependência física e euforia; os tipo κ também relacionados à analgesia e em menor grau com sedação e depressão respiratória; e os receptores tipo δ responsáveis primeiramente pela analgesia, mas com influência também na modulação de funções cognitivas e dependência física (BENNET, 1994; MARTINS et al., 2012). Existe uma escassez de dados sobre a distribuição, densidade e função dos receptores opióides nas aves, porém estudos mostraram que os receptores *kappa* e *delta* de pombos são mais proeminentes no proencéfalo e mesencéfalo quando comparados aos receptores *mu* e que, 76% dos receptores do proencéfalo são do tipo *kappa*, cujas funções analgésicas nas aves ainda precisam ser melhor investigadas. Isso poderia explicar o motivo de algumas espécies de aves não responderem tão bem aos agonistas de *mu* como os mamíferos (HAWKINS; PAUL-MURPHY, 2014; MANSOUR, et al., 1988).

3.1.1 Butorfanol

O butorfanol é um agonista/antagonista amplamente utilizado na medicina veterinária. Possui baixa interação com receptores *mu* e forte interação agonista com receptores tipo *kappa*, isso implica em ser o opioide mais indicado para uso em aves devido a maior concentração desses receptores nesses animais (HAWKINS; PAUL-MURPHY, 2014).

A utilização do butorfanol no pré-operatório contribui para menores alterações cardiopulmonares durante a anestesia, atua como analgesia preventiva, além de diminuir a concentração anestésica em procedimentos, como os relatados em algumas espécies de psitacíformes (CURRO, 1994; CURRO; BRUNSON; PAULMURPHY, 1994;).

Com base em estudos, 1 a 4 mg/kg é o intervalo de dose sugerido para aves, porém, como a meia vida plasmática do butorfanol é baixa, o intervalo de aplicação varia de 2 a 24h, o que pode ser um problema em pacientes sensíveis ao estresse devido a necessidade de manipulação excessiva para administração a cada 2 horas por exemplo, sendo esta a principal desvantagem do uso deste fármaco (PAUL-MURPHY; BRUNSON; MILETIC, 1999).

Uma molécula recentemente testada (tartarato de butorfanol encapsulado em lipossomas) mostrou efeito prolongado de até 5 dias quando administrados via subcutânea em papagaios-de-hispaniola (*Amazona ventralis*). Estudos como esse são promissores, pois a elaboração de uma fórmula de butorfanol com meia vida prolongada reduziria o intervalo de aplicações, sanando problemas com manejo e excesso de contenção do paciente como mencionado anteriormente (SLADKY et al., 2006).

3.1.2 Morfina

A morfina é um agonista de receptor *mu*, seu uso é incomum na medicina de aves pelos efeitos analgésicos encontrados em estudos serem controversos, como pouca analgesia ou hiperalgesia nas aves, além de poder provocar incoordenação e sedação no paciente (HUGHES, 1990a, 1990b). A dose mínima em aves deve ser de 2 mg/kg a cada 2 horas para manter a mesma concentração plasmática a nível terapêutico preconizado para seres humanos (SINGH et al, 2010).

3.1.3 Fentanil

O fentanil também é um agonista dos receptores tipo *mu* e, assim como a morfina, pouco utilizado em aves. Visto que estudos prévios relacionados ao padrão de receptores opioides realizados com a morfina (que é o padrão para estudo de opióides *mu*) trouxeram dados clínicos conflitantes ou inconclusivos a respeito da dosagem utilizada em aves de produção com diferenças bruscas nos valores utilizados (HAWKINS; PAUL-MURPHY, 2014; HUGHES, 1990a; SCHNEIDER, 1961). A dose de 0,02mg/kg intramuscular em cacatuas-brancas (*Cacatua alba*) não foi suficiente para promover a analgesia, apenas com o aumento da dose para 0,2mg/kg SC observou-se efeitos analgésicos, porém, com efeito de hiperatividade em algumas aves (HOPPES, et al., 2003).

3.1.4 Tramadol

O cloridrato de tramadol é um analgésico muito utilizado em medicina veterinária apesar de controvérsias sobre sua eficácia nas diversas espécies de animais. Tem ação fraca nos receptores tipo *mu*, porém seu metabólito O-desmetil (M1) tem forte ação agonista nesses receptores, sendo o maior responsável pela promoção de analgesia (HAWKINS; PAUL-MURPHY, 2014). A produção do metabólito M1 é discutido em algumas espécies, mas sabe-se que é produzido nas espécies de Papagaio-de-hispaniola (*Amazona ventralis*), por exemplo (SOUZA; GERHARDT; COX, 2013).

As apresentações disponíveis são as de uso oral e injetável. Estudos mostraram diferença na farmacocinética em diferentes espécies de aves. A biodisponibilidade após dose de 11 mg/kg VO do tramadol em águias-de-cabeça-branca (*Haliaeetus leucocephalus*) foi superior a observada em cães e humanos. Em pavões-azuis (*Pavo cristatus*) uma aplicação de 7,5 mg/kg VO manteve as concentrações plasmáticas do metabólito M1 dentro dos limites terapêuticos estipulados para humanos por 12 a 24 horas, mostrando que essa via é eficaz nessas espécies (BLACK et al., 2010; SOUZA et al., 2009).

Ainda são necessários mais estudos para definir concentrações plasmáticas específicas que garantam analgesia com tramadol em aves, avaliando assim, o real potencial analgésico do fármaco nessas espécies. Deve-se analisar a dose e eficácia no uso em diferentes espécies, visto que a possibilidade de administração via oral do fármaco facilitaria o manejo clínico de animais

altamente sensíveis ao estresse por contenção para aplicação IV ou IM (HAWKINS; MURPHY, 2011).

3.2 ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDES (AINE's)

Os AINE's são os fármacos mais comumente utilizados para analgesia na medicina veterinária, sobretudo na clínica de pequenos animais. Atuam em dores musculoesquelética e viscerais, além de serem eficazes tanto na dor aguda quanto na dor crônica, como as relacionadas a patologias articulares, por exemplo (HAWKINS; PAUL-MURPHY, 2014). Apesar das evidências na literatura não considerarem o uso em aves, são medicamentos usados na medicina aviária e sugere-se que tenham o mecanismo de ação semelhante ao observado nas outras classes de animais (BERGH; BUDSBERG, 2005; PAPICH, 2008).

Estes fármacos atuam na inibição das enzimas ciclo-oxigenases COX-1 e COX-2 impedindo a ligação ao ácido aracdônico, evitando assim, a produção de prostaglandinas inflamatórias envolvidas no processo da dor e inflamação dos tecidos. Porém, é importante lembrar que a COX-1 tem papel fisiológico na constituição de tecidos e produção de prostaglandinas para proteção de órgãos, como os do trato gastrointestinal, participando do muco protetor que impede a ulceração da mucosa gástrica pela produção do suco gástrico, e no sistema renal, promovendo a vasodilatação da arteríola aferente ajudando a manter uma taxa de filtração glomerular adequada (DUNN; HOOD, 1977; WOLFE; LICHTENSTEIN; SINGH, 1999). Sendo assim, existe uma subdivisão entre os AINE's: os não seletivos (que agem sobre as COX-1 e COX-2) e os COX-2 seletivos, que são cada vez explorados pela indústria farmacêutica, pois agem apenas sobre a COX-2 levando a menores efeitos indesejados e/ou toxicidade (HUEZA, 2008).

Os AINE's mais utilizados em aves até o momento são o carprofeno, cetoprofeno, piroxicam, meloxicam, celecoxibe, com diferentes modos de ação com COX-1 e COX-2, possuindo também respostas distintas quando ao nível de eficácia nas aves. As formulações trazem apresentações para uso via oral, intramuscular e subcutâneo e após absorção, apresentam alta taxa de ligação com proteínas, justificando a longa ação anti-inflamatória e analgésica nos tecidos (HAWKINS, 2006).

3.2.1 Meloxicam

É um AINE seletivo para COX-2 muito utilizado na medicina veterinária devido à alta potência analgésica e anti-inflamatória, além de poucos relatos de efeitos adversos e a possibilidade do uso contínuo por maiores períodos. É indicado para dores musculoesqueléticas e pós-operatório de diversas espécies (PAUL-MURPHY; LUDDERS, 2001). Atualmente, existem formulações em comprimidos e para uso injetável. Estudos mostraram que a dose de 1mg/kg em psitacídeos, via intramuscular a cada 12 horas, foi suficiente para promover analgesia, sendo que a mesma dose ministrada via oral apresentou menor biodisponibilidade (COLE et al., 2009; MOLTER et al., 2009).

3.2.2 Piroxicam

É um AINE não seletivo, porém com maior ação sobre a inibição da COX-1 do que na COX-2. Além de ação anti-inflamatória também possui ação antitumoral. Em mamíferos apresenta boa biodisponibilidade quando administrado por via oral, no entanto, estudos a respeito da farmacocinética não foram realizados em aves, apesar de até o momento também não haver relatos de toxicidade nas aves (HAWKINS; PAUL-MURPHY, 2014). Geralmente é utilizado para tratamento por período prolongado de patologias articulares em aves da ordem Gruiformes (HANLEY, 2005).

3.2.3 Carprofeno

O mecanismo de ação deste fármaco não está completamente esclarecido, mas ele é um fraco inibidor das enzimas ciclo-oxigenases, porém ainda assim possui efeito anti-inflamatório considerável, o que o torna mais seguro em relação aos outros AINEs. Seu mecanismo terapêutico está relacionado também a inibição da fosfolipase A2. A administração do carprofeno pode ser feita por via oral ou parenteral (intramuscular ou subcutânea) nas doses de 5-10 mg/kg com intervalo de 12 horas (HAWKINS et al., 2018).

3.2.4 Cetoprofeno

O cetoprofeno é um potencial inibidor de COX-1 e amplamente utilizado na clínica de pequenos animais. Possui ótima biodisponibilidade via oral em mamíferos, porém a via parenteral é descrita como melhor opção para aves devido à limitação de dados farmacocinéticos sobre o uso por via oral nestas espécies, além da dificuldade de dosagem nas formulações existentes para aves de pequeno porte. Além disso estudos mostraram que em codornas-japonesas (*Coturnix japonica*) houve maior biodisponibilidade após a administração via intramuscular quando comparado a via oral (GRAHAM et al., 2005). As doses recomendadas para aves são de 1-5 mg/kg, via intramuscular, com repetições a cada 12 horas (HAWKINS et al., 2018).

3.2.5 Celecoxibe

É um AINE COX-2 seletivo, muito utilizado para tratamento de doenças osteoarticulares, além de ser eficiente também no uso em psitacídeos com Síndrome da Dilatação Proventricular, na dose de 10-20 mg/kg a cada 24 horas, podendo ser usado até 24 semanas. Porém, deve ser usado com cautela em aves com problemas hepáticos, uma vez que a sua biotransformação ocorre no fígado (HAWKINS et al., 2018; HUEZA, 2008).

3.2.6 Dipirona

É um AINE que inibe a enzima COX-3, que é uma variante da COX-1, sendo esta encontrada principalmente no sistema nervoso, gerando uma ação central, podendo diminuir a dor e a febre (CHANDRASEKHARAN, 2002). Pode ser utilizado como monoterapia, porém o uso concomitante com outros analgésicos promove boa analgesia e menor propensão a efeitos colaterais como sangramentos e alterações gastrointestinais. (DE ABAJO, 2011). A dipirona é comumente usada em aves, sendo preconizada a dose de 20-25 mg/kg a cada 8 horas por via oral, intramuscular, subcutânea ou intravenosa (HAWKINS et al., 2018; VIANA, 2007).

3.3 ANESTESIA LOCAL

Os anestésicos locais atuam ligando-se aos canais de sódio e bloqueando a condução do impulso nervoso ao longo das fibras nervosas, diminuindo assim, a nocicepção e impedindo a sensação dolorosa. Pode diminuir a necessidade de maiores quantidades de anestésicos gerais, além de permitir analgesia prolongada quando utilizado anestésicos de maior duração (SKARDA; TRANQUILLI, 2014). A absorção ocorre pelas mucosas ou pelos capilares da área a ser insensibilizada logo após a aplicação. A pele das aves é fina e o espaço subcutâneo não é extenso, portanto, preconiza-se o uso de agulhas de baixo calibre e aplicação em diferentes pontos do local a ser operado. A injeção acidental via endovenosa pode levar a efeitos colaterais indesejados de toxicidade nas aves como tremores, convulsões, decúbito, alterações cardiovasculares, entre outros (HAWKINS; PAUL-MURPHY, 2014).

3.3.1 Lidocaína

A formulação comercial da lidocaína é em solução injetável a 2%, e para o uso em aves recomenda-se a diluição de 1:10 ou mais para obtenção de volume adequado a fim de realizar o bloqueio local, embora não há comprovação que tal diluição forneça uma concentração adequada e se a analgesia será a esperada. A dosagem empírica utilizada é de 2 a 3mg/kg, sendo recomendado a formulação sem vasoconstritor (HAWKINS; PAUL-MURPHY, 2014).

3.3.2 Bupivacaína

A bupivacaína é um fármaco que promove anestesia local por longos períodos e por isso, é de escolha para cirurgias em mamíferos. São apresentadas nas formulações de 0,25%, 0,5% e 0,75%, fato que pode possibilitar o uso sem diluição para aves (HAWKINS; PAUL-MURPHY, 2014). A dosagem máxima para mamíferos é de 2 mg/kg, mas o uso da bupivacaína em patos-reais (*Anas platyrhynchos*) com a mesma dose mostrou menor duração no tempo de anestesia (MACHIN; LIVINGSTON, 2001). Em galos domésticos (*Gallus gallus*) a bupivacaína na dose de 4 mg/kg foi eficiente para anestesia de plexo braquial, sem sinais de toxicidade (MELO et al., 2004). O mesmo foi demonstrado em patos, porém com doses mais

elevadas (8 mg/kg) mostrando que o limiar de toxicidade em aves é menor do que em mamíferos, possivelmente pelo metabolismo mais acelerado nas aves (BRENNER et al., 2010).

4 VIAS DE ADMINISTRAÇÃO DOS FÁRMACOS EM AVES

4.1 VIA ORAL

Das formulações medicamentosas utilizadas em aves cerca de 90% é fornecida pela via oral (VERMEULEN; DE BACKER; REMON, 2002). Entretanto, é importante ressaltar que algumas características anatômicas e fisiológicas das aves podem interferir na biodisponibilidade do fármaco, como por exemplo, a presença do inglúvio, que é uma dilatação do esôfago onde o conteúdo ingerido fica armazenado por longos períodos, impedindo uma resposta terapêutica rápida esperada de alguns medicamentos como os AINE's. Outra característica importante é que no estômago mecânico (moela), algumas aves tem a tendência a acumular pedrinhas para ajudar na trituração do alimento, tais materiais muitas vezes em meio a secreção estomacal, podem liberar íons que são capazes de interagir quelando ou precipitando alguns princípios ativos e interferindo na sua eficácia. Sendo assim, é importante conhecer a fisiologia e anatomia do paciente para melhor eficiência no tratamento (HUEZA, 2008).

Na administração por via oral é preferível o uso de fármacos sob forma de suspensão ou solução. Existe a opção de fornecimento na água de bebida, o que as vezes não é aconselhado, pois alguns medicamentos hidrolisam facilmente na água, além do fato que fatores que levam a menor ingestão hídrica, como alteração de sabor, dor, doenças previamente instaladas, interferirão na biodisponibilidade do fármaco para a ave. Logo, o fornecimento diretamente no bico ou por sonda esofágica (gavagem) é o mais aconselhado, ou o fornecimento em frutas no casos de aves que aceitam e estão se alimentando normalmente (CARDOSO et al., 2009; HUEZA, 2008).

4.2 VIA PARENTERAL

Quando se trata de administração por via parenteral em aves, geralmente a via intramuscular é a mais utilizada. As injeções geralmente são realizadas no músculo peitoral maior (RITCHIE et al., 1994). Todavia, isso varia de acordo com as espécies, pois as ratitas

(aves que não voam: avestruzes, emas e emus), por exemplo, possuem um esterno sem quilha e com pouca massa muscular, inviabilizando injeções no músculo peitoral. A musculatura da coxa é bem desenvolvida, porém injeções em membros pélvicos nestas e em outras espécies de aves não são indicadas devido a possibilidade de rápida excreção do fármaco pelo sistema porta-renal, interferindo na sua eficácia, sendo preferível nestas espécies outras vias de administração. (LOVATO; SANTOS, 2014).

A via endovenosa tem uso restrito em aves muito pequenas e somente empregada em casos emergenciais, e geralmente em medicamentos de dose única para evitar hematomas. As veias utilizadas são as jugulares, facilmente visualizada na maioria das espécies, até em aves menores; a veia braquial localizada sobre a ulna; e a veia metatársica usada em aves com mais de 300g, sendo mais fácil a punção em espécies que possuem o metatarso longo como no caso das ratitas e aves da ordem Galliformes, por exemplo. A via intraóssea supera a via intravenosa, principalmente por possibilitar o acesso em aves menores e geralmente são utilizados a porção distal da ulna ou porção proximal do tibiotarso (GONÇALVES, 2016).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mesmo com o desafio de se avaliar e diagnosticar com precisão a dor em aves e a necessidade de estudos a respeito da farmacocinética dos analgésicos nas diversas espécies de aves, a analgesia é fundamental e deve ser empregada de forma adequada no paciente. Sempre observando às particularidades, sejam elas fisiológicas ou anatômicas, de cada espécie para escolha correta do protocolo com princípios ativos que sejam eficazes no tratamento e que possuam menores efeitos colaterais.

6 REFERÊNCIAS

BENNET, R. A. Surgical considerations. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. K.; HARRISON, L. R. (eds) **Avian medicine: principles and application**. Flórida: Wingers Publishing, 1994. p.1081-1095.

BERGH, M. S.; BUDSBERG, S. C. The coxib NSAIDs: potential clinical and pharmacologic importance in veterinary medicine. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 19, n. 5, p. 633-643, 2005.

BLACK, P. A et al. Pharmacokinetics of tramadol hydrochloride and its metabolite odesmethyltramadol in peafowl (*Pavo cristatus*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 41, n. 4, p. 671-676, 2010.

BRENNER, D. J et al. Development of an avian brachial plexus nerve block technique for perioperative analgesia in mallard ducks (*Anas platyrhynchos*). **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 24, n. 1, p. 24-34, 2010.

CARDOSO, V. S. et al. Administração oral de piperina em frangos de corte. **Ciencia Rural**, v. 39, n. 5, p. 1521-1526, 2009.

CHANDRASEKHARAN, N. V. COX-3, a cyclooxygenase 1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic antipyretic drugs: cloning, structure and expression. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 99, n. 21, p. 13926-31, 2002.

COLE, G. A et al. Analgesic effects of intramuscular administration of meloxicam in hispaniolan parrots (*Amazona ventralis*) with experimentally induced arthritis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 70, n. 12, p. 1471-1476, 2009.

CURRO, T. G.; BRUNSON, D. B.; PAULMURPHY, J. Determination of the ED50 of isoflurane and evaluation of the isofluranesparing effect of butorphanol in cockatoos (*Cacatua* spp.). **Veterinary Surgery**, v. 23, n.5, p. 429-433, 1994.

CURRO, T. G. Evaluation of the isofluranesparing effects of butorphanol and flunixin in psittaciformes. **Proceedings Association of Avian Veterinarians**, v. 35, n. 3, p. 1719, 1994.

DE ABAJO, F. J. Effects of selective serotonin reuptake inhibitors on platelet function: mechanisms, clinical outcomes and implications for use in elderly patients. **Drugs Aging**, v. 28, n. 5, p. 345-367, 2011.

DUNN, M. J; HOOD, V. L. Prostaglandins and the kidney. **American Journal Physiology-Renal Physiology**, v. 233, n.3, p. 169-184, 1977.

GOLÇALVES, G. A. M. **Manual de emergências aviárias**. 2. ed. São Paulo: Editora MedVet, 2016.

GRAHAM, J. E et al. Pharmacokinetics of ketoprofen in Japanese quail (*Coturnix japonica*). **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 28, n. 24, p. 399-402, 2005.

HANLEY, C. S et al. Exertional myopathy in whooping cranes (*Grus americana*) with prognostic guidelines. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 36, n. 3, p. 489-497, 2005.

HAWKINS, M. G. et al. **Exotic animal formulary**. 5^a ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2018.

HAWKINS, M. G.; MURPHY, J. P. Avian analgesia veterinary clinics of North America: **Exotic Animal Practice**, v. 14, n. 1, p. 61-80, 2011.

HAWKINS, M. G. The use of analgesics in birds, reptiles, and small exotic mammals. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 15, n. 3, p. 177-192, 2006.

- HAWKINS, M; PAUL-MURPHY, J. Analgesia em aves. In: CUBAS, Z. S; SILVA, J. C; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens**. 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Roca Ltda. 2014, p.1806-1817.
- HOPPE, S. et al. Disposition and analgesic effects of fentanyl in white cockatoos (*Cacatua alba*). **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 17, n. 3, p. 124-130, 2003.
- HUEZA, I. M. Farmacologia das aves: o uso de medicamentos antiinflamatórios em aves silvestres. **Ars Veterinária**, v. 24, n. 1, p. 15-24, 2008.
- HUGHES, R. A. Codeine analgesia and morphine hyperalgesia effects on thermal nociception in domestic fowl. **Pharmacology Biochemistry Behavior**, v. 35, n. 3, p. 567-570, 1990a.
- HUGHES, R. A. Straindependent morphineinduced analgesic and hyperalgesic effects on thermal nociception in domestic fowl (*Gallus gallus*). **Behavior Neuroscience**, v. 104, n. 4, p. 619-624, 1990b.
- LAMONT, L. A; MATHEWS, K. A. Opióides, anti-inflamatórios não esteroidais e analgésicos adjuvantes. In: TRANQUILLI, W. L; THURMON, J. C; GRIMM, K. A. **Lumb & Jones Anestesia e analgesia Veterinária**. 4. ed. São Paulo: Editora Roca Ltda. 2014. p. 270-304.
- LE MAHO, Y. et al. Stress in birds due to routine handling and a technique to avoid it. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 263, n. 4, p. 775-781, 1992.
- LONGLEY, L.A. **Anaesthesia of exotic pets**. 1. ed. Philadelphia: Elsevier saunders, 2008.
- LOVATO, M; SANTOS, E. O. Rheiformes (Ema) e Struthioniformes (Avestruz, Meu e Casuar). In: CUBAS, Z. S; SILVA, J. C; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens**. 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Roca Ltda. 2014. p. 272-302.
- MACHIN, K. L.; LIVINGSTON, A. Plasma bupivacaine levels in mallard ducks (*Anas platyrhynchos*) following a single subcutaneous dose. **Proceedings American Association of Zoo Veterinarians**, v. 14, p. 159-163, 2001.
- MANSOUR, A. et al. Anatomy of CNS opioid receptors. **Trends in Neurosciences**, v. 11, n. 7, p. 308-314, 1988.
- MARTINS, R. T et al. Opioid receptors to date. **Revista Dor**, v. 13, n. 1, p. 75-79, 2012.
- MATHEWS, K. A. Pain assessment and general approach to management. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 30, n. 4, p. 729-755, 2000.
- MELO, M. S. et al. Uso da bupivacaína 0,3% no bloqueio do plexo braquial de *Gallus gallus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 4, p. 38-39, 2004.
- MOLTER, C. et al. Pharmacokinetics of parenteral and oral meloxicam in hispaniolan parrots (*Amazona ventralis*). **Proceedings Association Avian Veterinarians**, p. 317, 2009.

OLIVEIRA, H. S.; SOUZA, D. R. A; SILVA, M. N. Etograma do carcará (*Caracara Plancus*, Miller, 1777) (Aves, Falconidae), em cativo. **Revista de Etologia**, v. 13, n. 2, p. 1-9. 2014.

PAPICH, M. G. An update on nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) in small animals. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 38, n. 6, p. 1243-1266, 2008.

PAUL-MURPHY, J.; LUDDERS, J. W. Avian analgesia. **Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice**, v. 4, n. 1, p. 35-45, 2001.

PAUL-MURPHY, J.; BRUNSON, D. B.; MILETIC, V. Analgesic effects of butorphanol and buprenorphine in conscious African grey parrots (*Psittacus erithacus erithacus* and *Psittacus erithacus timneh*). **American Journal Veterinary Research**, v. 60, n. 10, p. 1218-1221, 1999.

RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. K.; HARRISON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. Flórida: Wingers, Publishing, 1994.

SINGH, P. M. et al. Pharmacokinetics of morphine after intravenous administration in broiler chickens. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutic**, v. 33, n.5, p. 515-518, 2010.

SCHNEIDER, C. Effects of morphinelike drugs in chicks. **Nature**, v. 191, n. 5, p. 607- 608, 1961.

SKARDA, R. T; TRANQUILLI, W. J. Anestésicos locais. In: TRANQUILLI, W. L; THURMON, J. C; GRIMM, K. A. **Lumb & Jones anestesia e analgesia veterinária**. 4. ed, São Paulo: Editora Roca Ltda. 2014. p. 428-454.

SLADKY, K. K. et al. Serum concentrations and analgesic effects of liposomeencapsulated and standard butorphanol tartrate in parrots. **American Journal Veterinary Research**, v. 67, n. 5, p. 775-781, 2006.

SOUZA, M. J. et al. Pharmacokinetics of intravenous and oral tramadol in the bald eagle (*Haliaeetus leucocephalus*). **Journal Avian Medicine and Surgery**, v. 23, n. 4, p. 247-252, 2009.

SOUZA, M. J; GERHARDT, L.; COX, S. Pharmacokinetics of repeated oral administration of tramadol hydrochloride in hispaniolan amazon parrots (*Amazona ventralis*). **American Journal Veterinary Research**, v. 74, n. 7, p. 957-62, 2013.

VERMEULEN, B.; DE BACKER, P.; REMON, J. P. Drug administration to poultry. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n. 6, p. 795-803, 2002.

VIANA, F. A. B. **Guia terapêutico veterinário**. 2. ed. Lagoa Santa: Editora Cem, 2007.

WALL, P. D. Defining “pain in animals”. In: SHORT, C. E; POZNAK, A. V. **Animal pain**. New York: Churchill Livingstone, 1994, p.63-79.

WELCH, S. P; MARTIN, R. B. Opioid and nonopioid analgesics. In: STITZEL C. R; CRAIG, R. E. **Modern pharmacology with clinical application**. 5. ed. Boston: Little & Brown, 1997, p. 310-329.

WOLFE, M. M; LICHTENSTEIN, D. R; SINGH, G. Gastrointestinal toxicity of nonsteroidal antiinflammatory drugs. **New England Journal of Medicine**, v. 340, n. 24, p. 1888-1899, 1999.



Capítulo

13

**Aspectos gerais e terapêutica das principais dermatopatias
fúngicas na rotina de cães e gatos**

Amanda Maria Miranda Rodrigues dos Santos ¹

Marieta Cristina Couto Kuster ²

Leandro André Milholli ³

Leonardo Oliveira Trivilin ⁴

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, amanda_mmrs@hotmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo, marieta.kuster@hotmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo, andremilholli@gmail.com

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, leotrivilin@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

No Brasil e, em animais de companhia, estão cada vez mais frequentes relatos de atendimentos clínicos e dermatológicos que envolvam doenças fúngicas. Grande parte dessa casuística está relacionada a três principais doenças: malasseziose, tanto localizada (otológica) como generalizada; esporotricose e dermatofitose. Coincidentemente as três doenças tratam-se de zoonoses, sendo que a esporotricose apresenta maiores riscos aos seres humanos.

Devido a casuística e importância dessas doenças, principalmente como zoonoses, o capítulo a seguir tratará sobre os aspectos gerais dessas dermatopatias, frisando, sobretudo, as alternativas de tratamentos e particularidades no uso de cada medicação. Além disso, torna-se importante ao médico veterinário conhecer os protocolos terapêuticos, a fim de estimular o tratamento dos animais e instruir os tutores no manejo dos pacientes buscando evitar a disseminação das doenças.

2 MALASSEZIOSE

É uma dermatopatia fúngica causada por leveduras do gênero *Malassezia*, caracterizada como uma micose superficial proveniente de reações inflamatórias e/ou de hipersensibilidade a antígenos ou produtos fúngicos (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013). Na clínica de cães e gatos a maior ocorrência é a espécie *Malassezia pachydermatis*, frequentemente isolada em cães e gatos saudáveis ou com lesões dermatológicas, sendo a única, das treze espécies de leveduras isoladas, com características lipofílicas distintas (BRITO et al., 2009).

Naturalmente a levedura faz parte da microbiota da pele saudável, podendo ser encontrada em pequena quantidade (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013), entretanto, quando há mudanças no microambiente cutâneo, as leveduras passam a agir como patógenos oportunistas, proliferando de forma excessiva e levando à disbiose (GUILLOT; BOND, 1999; PRADO, 2007). No Brasil, cerca de 15% dos casos de dermatopatias diversas em cães são correspondentes a ocorrência de *M. pachydermatis* (NEGRE; BENSIGNOR; GUILLOT, 2009). Porém, no âmbito das dermatopatias fúngicas, as infecções por malasseziose correspondem a maioria dos casos (GOMES, 2012).

A forma cutânea da doença pode ocorrer em cães e gatos sem predisposição de idade ou sexo, porém filhotes, por apresentarem a barreira cutânea em formação, costumam apresentar

maior ocorrência de infecções secundárias por esta levedura, sobretudo até a décima semana de vida (NAGLE, 2006).

A malasseziose é observada maioritariamente nos casos de otite. É sabido que condutos auditivos que apresentam naturalmente produção exagerada de cerúmen, seja por características conformacionais do canal ou excesso de pelos, por exemplo, representam grande parte dos casos da forma otológica da doença (GOMES, 2012; LEITE; ABREU; COSTA, 2003).

2.1 SINAIS CLÍNICOS

Na otite externa por malasseziose observa-se, principalmente, cerúmen espesso e escuro, geralmente marrom, com forte odor acético. Esse cerúmen em "borra de café" é sugestivo da doença, entretanto, não é um achado patognomônico. Observam-se diferentes graus de eritema, prurido e dor. Em casos mais graves e crônicos, pode haver erosão, pontos de hemorragia, pólipos, estenose parcial ou total do conduto auditivo e meneios cefálicos constantes, podendo, em manifestação grave da doença, levar a sinais neurológicos, sendo o mais comum o *head tilt* (GOMES, 2012; OLIVEIRA et al., 2006).

As otites podem ser uni ou bilaterais, sendo conhecido, principalmente quando otite externa, de serem poli microbianas (causadas por fungos e bactérias, concomitantemente). Os ouvidos devem ser examinados separadamente, pois os microrganismos presentes em um lado podem ser distintos do outro (OLIVEIRA et al., 2008).

Nas dermatites por *Malassezia* as manifestações clínicas são diversas, entretanto, alopecia, prurido em vários graus e eritema são as mais observadas. Com a cronificação do quadro pode-se observar sinais clínicos secundários, incluindo liquenificação, hiperpigmentação, descamação e exsudato oleoso, sendo comum o forte odor rançoso, bem característico de infecções por *Malassezia* (MAZZEI, 2016). As lesões podem ser caracterizadas como localizadas ou generalizadas, sendo observadas com maior frequência na região abdominal, principalmente na parte ventral, na face, em patas e na região perineal. Também há grande ocorrência em regiões que apresentam dobras cutâneas e nos condutos auditivos (MAZZEI, 2016; NEGRE; BENSIGNOR; GUILLOT, 2009).

Na espécie felina a ocorrência por *M. pachydermatis* é baixa quando comparada com a espécie canina, todavia, as alterações clínicas são similares (MAZZEI, 2016; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

2.2 TERAPÊUTICA DA MALASSEZIOSE

Para se obter sucesso na terapia antifúngica envolvendo *Malassezia sp.* é primordial que se investigue e controle a causa primária que levou à disbiose da microbiota da pele e elevou o número de fungos, haja vista que os mesmos estão presentes normalmente na pele de cães e gatos, tornando-se problema apenas quando há crescimento excessivo (MAZZEI, 2016; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

A terapia tópica tem papel fundamental no controle da malasseziose, pois, além de agir no fungo é possível controlar a oleosidade da pele, bem como reinstaurar fatores queratoplásticos, amenizando e por vezes até cessando, a descamação observada na maioria dos casos. Abaixo, a Tabela 1 apresenta os princípios ativos utilizados nas formulações em forma de xampu (principal forma farmacêutica utilizada no tratamento tópico, que não otológico, da malasseziose), com as suas respectivas concentrações recomendadas, bem como o efeito que terão sobre a pele dos animais (MAZZEI, 2016; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

Tabela 1- Princípios ativos presentes em formulações de xampu para o tratamento tópico da malasseziose cutânea generalizada (continua).

Forma Farmacêutica	Princípio ativo e concentração recomendada	Modo de ação	Efeitos reparadores na pele
Xampu	Ácido salicílico (mínimo 2%)	Bactericida e levemente antifúngico	queratoplástico e queratolítico
Xampu	Enxofre (mínimo 2%)	Bactericida e levemente antifúngico	queratoplástico e queratolítico
Xampu	Alcatrão (mínimo 2%)	Bactericida e levemente antifúngico	queratoplástico e queratolítico
Xampu	Peroxido de benzoliza (1-2,5%)	Altamente antifúngico e moderadamente anti-inflamatório	queratolítico
Forma Farmacêutica	Princípio ativo e concentração recomendada	Modo de ação	Efeitos reparadores na pele
Xampu	Miconazol (ideal 2%)	Antifúngico potente e levemente bactericida	Não descrito

Tabela 1- Princípios ativos presentes em formulações de xampu para o tratamento tópico da malasseiose cutânea generalizada (conclusão).

Xampu	Clorexidine (2-4.5%)	Antifúngico leve e potente bactericida	Não descrito
-------	----------------------	--	--------------

Fonte: MAZZEI, 2016; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013.

Na terapia sistêmica os antifúngicos utilizados pertencem a classe dos azólicos, incluindo: cetoconazol, itraconazol, fluconazol, econazol, clotrimazol e miconazol (MAZZEI, 2016; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

O Itraconazol pertence à classe dos triazólicos e é mais eficaz no tratamento da malasseiose do que o cetoconazol. Quando administrado em cães, não apresenta efeitos tóxicos. Em felinos, por sua vez, observou-se, em alguns casos, anorexia, apatia e hepatotoxicidade, principalmente em doses elevadas, todavia, com a interrupção do tratamento, os efeitos adversos cessa. A posologia utilizada usualmente é de 5 a 10 mg/kg uma vez ao dia, tanto em cães quanto em gatos (IHRKE, 1996; MAZZEI, 2016). A pulsoterapia com doses de 5mg/kg a cada 48 ou 72 horas, durante 21 dias, mostrou-se tão eficaz quanto a mesma dose administrada a cada 24 horas, no mesmo período de tempo, observada por Pinchbeck e colaboradores (2002).

Outro fármaco comumente empregado no tratamento sistêmico de infecções por *Malassezia* sp. é o Cetoconazol. O medicamento tem ação sobre o citocromo P450 fúngico, interrompendo a síntese de ergosterol das células fúngicas, levando a morte celular. Os gatos são mais sensíveis aos efeitos colaterais do cetoconazol, apresentando com facilidade anorexia, êmese, perda de peso, diarreia, hepatotoxicidade e em casos mais graves, alterações neurológicas. (MAZZEI, 2016; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

A dose recomendada de cetoconazol é de 5 a 10 mg/kg a cada 24 horas, sendo o tempo de tratamento de 21 a 30 dias. É sabido que quando a droga é administrada após a alimentação, sua absorção é melhorada, pois a acidez gástrica liberada no processo de digestão dos alimentos favorece absorção da droga (MAZZEI, 2016; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013). Negre, Besignor e Guillot (2009) observaram que doses diárias de 5mg/kg a cada 24 horas são igualmente eficazes no tratamento da malasseiose cutânea e que os efeitos colaterais são minimizados em cães.

Estudo comparativo que avaliou o uso da terbinafina e cetoconazol associados a cefalexina e empregada como terapia única demonstrou que a associação de terbinafina e cefalexina tem uma maior eficácia no controle de prurido e na diminuição do número de leveduras. Utiliza-se a terbinafina na dose de 30 mg/kg a cada 24 horas, sendo essa uma ótima

alternativa para animais que estão muito debilitados e/ou possuem respostas fracas aos derivados azólicos, pois, na dose supracitada a mesma não provoca efeitos colaterais (ROSALES et al., 2005). Gimmler et al. (2015) corroboram a ideia que a terbinafina é uma opção para o tratamento oral dos cães, provando em seu estudo que, quando utilizada por meio tópico, o princípio ativo não alcançou uma concentração tão eficaz no tratamento da malasseziose, sendo recomendada a utilização em associação com a forma oral da droga.

Fluconazol é um antifúngico que possui ampla distribuição pelos tecidos, podendo atingir o sistema nervoso central e leva os animais a sérios efeitos colaterais. Por esse motivo, opta-se por utilizá-lo somente quando o fungo não consegue ser controlado por outros azólicos (MAZZEI, 2016). A dose recomenda é de 2,5 a 5,0 mg/kg a cada 12 ou 24 horas em cães e de 5 a 10mg/kg a cada 12 ou 24 horas em gatos, até o desaparecimento dos sinais clínicos e controle da quantidade de leveduras na pele (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

É importante salientar que estudos mais recentes demonstraram que, quando azois, sobretudo o itraconazol, são utilizados por um longo período de tempo, pode ocorrer resistência fúngica ao fármaco, tornando o tratamento ineficaz. Por isso, não é comum tratamentos prolongados na prática clínica (ANGILERI et al., 2019)

Nas otites causadas por *Malassezia* os antifúngicos mais indicados são clotrimazol a 1% (LOBELL; WEINGARTEN; SIMMONS, 1995), nistidina a 3% e tiabendazol a 4%, que podem ser em soluções, pomadas e géis e são utilizados a cada 12 ou 24 horas, por um período mínimo de 14 dias (GROOTERS; TABOADA, 2003).

Antes da aplicação otológica de antifúngicos, é recomendada a limpeza do ouvido externo com ceruminolíticos e/ou a lavagem otológica (MAZZEI, 2016).

As apresentações para uso otológico se tornam mais potentes quando associadas a glicorticoides, tanto no controle do prurido, da quantidade produzida de cerúmen e no eritema local. Raramente é necessária a associação de terapia sistêmica no tratamento de otites levedúricas (MAZZEI, 2016).

3 DERMATOFITOSE

Dermatopatia fúngica caracterizada por ocorrer em tecidos queratinizados, como unhas, garras, pelos e estrato córneo da pele (LUND; DEBOER, 2008). Na clínica de cães e gatos as espécies *Microsporum canis* e *M. gypseum* apresentam, respectivamente, a maioria das

ocorrências (GOMES, 2012; MORIELLO et al., 2017), sendo responsáveis pelas infecções em humanos. A ocorrência da dermatopatia é principalmente relatada em animais jovens, relacionando-se ao fato do sistema imunológico estar em desenvolvimento (GOMES, 2012). Alguns animais, sobretudo felinos, podem se apresentar como portadores assintomáticos da doença, exercendo importante papel como reservatórios do fungo (FERREIRO et al., 2007; PRADO et al., 2008).

3.1 SINAIS CLÍNICOS

A maioria das lesões observadas estão presentes nas camadas mais superficiais da pele (DEGREEF, 2008). As diferenças entre elas se atribuem às características pontuais como espécie fúngica causadora da doença e ao estado imunológico do paciente, pois é sabido que quanto mais imunocomprometido está o animal, piores e em maior número estarão as lesões (BALDA, 2016; DEGREEF, 2008; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013). A lesão clássica inicialmente se dá por pequenas crostas na base de tufo de pelos. Esses tufo irão cair voluntariamente ou serão de fácil epilação, formando uma área alopecica focal ou disseminada, descamativa, podendo ou não apresentar eritema e de evolução centrífuga lenta, com diâmetro variando de 1 a 8 cm, podendo apresentar prurido (BALDA, 2016; BRUNE, 2009). As lesões são localizadas principalmente na face, ao redor dos olhos, lábios, orelhas, pescoço, extremidades e plano nasal, porém sem alterações sobre o nariz (CARLOTTI, 2008; CORNEGLIANI; PERSICO; COLOMBO, 2009).

Nos felinos é comum ocorrer dermatite miliar decorrente da dermatofitose. As lesões são observadas frequentemente em região dorsal, de cabeça e pescoço. Na espécie também é comum que esse padrão lesional ocorra em animais com dermatite alérgica a picada de pulga ou atopia. A extensão das lesões está correlacionada a fatores como: cronicidade da doença, pois já é sabido que na dermatofitose crônica as lesões são maiores e mais evidentes, bem como quando o animal se encontra imunossuprimido ou devido ao uso excessivo e/ou inadequado de medicações (BALDA, 2016; MORIELLO et al., 2017).

O pseudomicetoma ou granuloma dermatofítico é uma forma atípica e rara de dermatofitose, e quando observada ocorre principalmente nos gatos persas. Essas lesões são nódulos firmes, irregulares e/ou ulcerados que drenam (NOBRE et al., 2010). O tratamento é difícil e desfavorável, sendo indicada a remoção cirúrgica, todavia há grande número de casos

que apresentam recidivas frequentes e essas lesões apresentam baixa resposta aos antifúngicos (KANO et al., 2009; NUTTALL et al., 2008).

Uma outra forma pouco observada de manifestação clínica é dermatofitose nodular ou quérion, de ocorrência quase exclusiva na espécie canina (CORNEGLIANI; PERSICO; COLOMBO, 2009). Essa lesão é caracterizada como um nódulo edematoso, circunscrito e alopecico, podendo ser exsudativo, doloroso e pruriginoso. Na maioria dos casos é observado em regiões de cabeça, face e pescoço, bem como nos membros distais, podendo ocorrer como nódulos solitários ou múltiplos (BRUNE, 2009; CARLOTTI; PIN, 2002). Vale ressaltar que, ao contrário das lesões de apresentação mais comuns da doença, o quérion quando ocorre, geralmente é observado em cães adultos à idosos (CARLOTTI; PIN, 2002; CORNEGLIANI; PERSICO; COLOMBO, 2009).

Em relação a apresentações dermatofitóticas, ainda é possível se observar e caracterizar a onicomiose e perionicomicose, sendo incomuns na espécie felina, estando mais presente em cães. Essas lesões se manifestam como regiões alopecicas nas bordas das unhas, podendo apresentar manchas esbranquiçadas, tornando as unhas quebradiças e com deformações, sendo difíceis de detectar e de tratar (BRUNE, 2009; CHERMETTE; FERREIRO; GUILLOT, 2008).

3.2 TERAPÊUTICA DA DERMATOFITOSE

O tratamento de dermatofitose conta com três princípios e objetivos básicos (CARLOTTI; ENSIGNOR, 1999; MORIELLO; DEBOER, 1995):

1. Aumentar a capacidade do paciente em responder a infecção por dermatófitos, principalmente corrigindo desequilíbrios nutricionais, sobretudo em pacientes anoréxicos ou caquéticos, bem como tratar qualquer doença concomitante, a fim de estimular o sistema imunológico do animal. Terapias com anti-inflamatórios e imunoestimuladores (principalmente em felinos) devem ser retiradas, gradativamente, da rotina terapêutica do animal;
2. Minimizar o contato dos animais com o meio ambiente (principalmente solos e árvores), outros animais e ser humano a fim de evitar o contágio;
3. Acelerar a redução da infecção.

Um grande desafio no tratamento da dermatofitose é que todos os contactantes diretos do animal, bem como o meio ambiente, precisam ser tratados (BALDA, 2016; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

3.2.1 Terapia tópica

Na dermatofitose, o ponto de partida do tratamento consiste na tosa dos pelos, principalmente em animais de pelagem longa, com o principal objetivo de aumentar a eficácia das medicações tópicas. É recomendado que antes da tosa seja feito banho com solução de cal sulfurada, diminuindo o número de esporos de dermatófitos presentes, minimizando a contaminação ambiental (BALDA, 2016; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

Na terapia tópica é recomendado o uso das medicações a cada 72 horas em banhos com xampus ou sabonetes e, quando se opta por pomadas de uso somente local, a cada 12 horas, embora preconiza-se a utilização em toda a pele do animal. Para que ocorra a suspensão dos banhos é fundamental que o resultado de no mínimo três culturas fúngicas, com intervalos de uma ou duas semanas, sejam negativas para dermatófitos (CHERMETTE; FERREIRO; GUILLOT, 2008).

Os princípios ativos utilizados nas formulações de sabonetes e xampus são ácido salicílico e enxofre, enilconazol 0,2%, nitrato de miconazol 2%, clorexidine e miconazol a 2%, a cada 72 horas, deixando agir em contato pele e pelos por, pelo menos 10 minutos sem enxague (MORIELLO et al., 2017).

Tratamentos em filhotes com lesões localizadas incluem cremes ou loções de clotrimazol a 1% e miconazol a 2%, ou associação de ambos, a cada 12 horas. (NAGLE, 2006; NOBRE et al., 2002a).

3.2.2 Terapia sistêmica

Os cães e gatos que apresentam lesões multifocais, lesões localizadas, mas que vivem com outros contactantes ou tem baixa resposta a terapia tópica após quatro semanas de tratamento e ou refratariedade, bem como animais de pelo longo, devem ter a terapia sistêmica instituída (MORIELLO et al., 2017).

Os antifúngicos sistêmicos empregados no tratamento das dermatofitoses, em maioria, agem sobre o citocromo P450 do fungo, inibindo a síntese de ergosterol levando a morte celular fúngica. Porém, como os mamíferos possuem colesterol em suas células, efeitos tóxicos podem ocorrer. Os princípios ativos mais novos atuam de uma forma mais pontual no sistema fúngico, sendo assim, é importante conhecer as diversas drogas que podem ser empregadas no tratamento da dermatofitose (BALDA, 2016).

A Tabela 2 apresenta as principais drogas, bem como as doses recomendadas e frequências que as mesmas devem ser utilizadas no tratamento da dermatofitose. É importante salientar que, apesar de serem considerados um tempo médio de tratamento, o mesmo irá variar de acordo com cada animal e, que é fortemente recomendado o tratamento do animal até a obtenção de duas ou três culturas fúngicas negativas, com intervalos de uma ou duas semanas (MORIELLO et al., 2017).

Tabela 2. Dose, frequência e duração do tratamento, em média, das principais drogas antifúngicas sistêmicas utilizadas no tratamento da dermatofitose em cães e gatos.

Princípio ativo	Dose	Frequência	Duração de dias (em média) da terapia sistêmica
Griseofulvina	50 mg/kg	a cada 24 horas	45 dias
Cetoconazol	5 a 10 mg/kg	a cada 24 horas	45 dias
Itraconazol	5 a 10 mg/kg	a cada 24 horas	45 dias
Terbinafina	10 a 20 mg/kg	a cada 24 horas	30 dias

Fonte: MORIELLO et al., 2017

A Griseofulvina é um potente antifúngico que age exclusivamente nos fungos dermatófilos do gênero *Microsporum*, *Tricophyton* e *Epidermophyton* (BALDA, 2016). Todavia, seu uso tem sido cada vez menor devido ao alto custo do tratamento e possíveis efeitos colaterais, como a mielossupressão, distúrbios gastrointestinais, anorexia, apatia, principalmente em gatos imunossuprimidos (MORIELLO et al., 2017). Raças puras tem risco acrescido de toxicidade, como Persas, Himalaios, Absínios e Siameses. A griseofulvina não deve ser administrada em fêmeas prenhes, por ser teratogênica (BRUNE, 2009).

O cetoconazol tem sido pouco recomendado para espécie felina devido aos efeitos colaterais causados, tais como: inapetência, vômitos, diarreias e hepatotoxicidade na espécie (MORIELLO et al., 2017). Apesar de baixo custo, atualmente os outros azóis tem sido mais frequentemente utilizados, o tratamento com o cetoconazol tem demandando maior tempo que os demais antifúngicos utilizados (BALDA, 2016; MORIELLO, 2017).

O itraconazol tem sido cada vez mais prescrito nos casos de dermatofitoses devido a sua alta eficácia, a facilidade de administração (pode ser manipulado em cápsulas pequenas) e a baixa toxicidade que produz, principalmente na espécie felina, tem se mostrado, quando não misturado a outras drogas, assim como a terbinafina, as drogas mais eficazes no tratamento da dermatofitose. Por ser um fármaco lipofílico, recomenda-se a administração do mesmo junto a

alimentação, uma vez que isso aumentará sua absorção, levando a maior efetividade do tratamento (MORIELLO et al., 2017).

A terbinafina pertence à classe das alaninas e tem seu mecanismo de ação parecido com os demais antifúngicos supracitados, pois, mesmo que indiretamente, vai atuar sobre a síntese de ergosterol. Para isso, a droga vai inibir a escualeno oxidadase dos fungos, que atuaria na conversão de esqualeno em lanosterol, e como produto final produziria o ergosterol. Não havendo conversão do ergosterol ocorrerá morte celular. Também é sabido que ocorre acúmulo de esqualeno intracelular e possivelmente, a potencialização do efeito fungicida de terbinafina (DARKES; SCOTT; GOA, 2003).

A dose de 5mg/kg a cada 24 horas, possui um baixo custo e tem se mostrado bem eficaz e com efeitos colaterais quase nulos. Por possuir efeito fungicida, o tratamento com terbinafina se torna mais rápido, o que também diminui custos, sendo uma ótima alternativa aos tutores (MORIELLO et al., 2017)

Ao contrário das demais medicações, os gatos apresentam-se menos sensíveis a terbinafina, sendo utilizado nessa espécie a dose diária de 20 mg/kg, enquanto em cães deve-se utilizar 10mg/kg diárias, a fim de evitar vômito, inapetência, hepatotoxicidade e distúrbios intestinais (BALDA; OTSUKA; LARSSON, 2007).

Uma alternativa no tratamento da dermatofitose em gatos é a pulsoterapia. Essa modalidade consiste na administração de antifúngicos que se depositam em tecidos queratinizados, como é o caso do itraconazol e terbinafina, e são liberadas lentamente. O protocolo instituído consiste na administração das drogas a cada 24 horas, durante 7 dias seguidos e uma pausa na administração do antifúngico escolhido de 21 dias. Feito isso teremos um “ciclo medicamento”. Cada ciclo dura 30 dias, e podem ser feitos quantos forem necessários até a resolução das lesões e dois exames micológicos negativos. Esse esquema terapêutico é indicado, principalmente, para animais que vivem em gatis (BALDA, 2008).

Outra alternativa no manejo das dermatofitoses, principalmente para fêmeas prenhes, por não possuir efeitos teratogênicos (MORIELLO, 2004) é o uso de Lufenuron. Acredita-se que o mesmo altera as estruturas fúngicas, modificando os macroconídeos dos dermatófitos em microcultivo. As doses recomendadas variam de 50-60 mg/kg em aplicação única ou duas aplicações com intervalo de 15 dias. Alguns trabalhos observaram eficácia de cura clínica (desaparecimento das lesões) com dosagens de 120mg/kg, com intervalos de 15 a 21 dias, sendo repetidas de duas a quatro aplicações. Como não possui efeito fungicida deve-se ter cautela ao utilizar o Lufenuron como terapia única, recomendando-se utilizar a droga em terapia

combinada, a fim de auxiliar na restituição das lesões, não sendo eficaz na cura micológica (DEBOER et al., 2003; MANCIANTI; DABIZZI; NARDONI, 2009).

Apesar de ainda ser utilizado como adjuvante na terapia da dermatofitose, o Lufenuron vem sendo cada vez menos recomendado para essa dermatopatia. Segundo Moriello et al. (2017) a eficácia *in vitro* da droga não tem comprovação, bem como não previne as infecções pelo fungo ou tão pouco potencializa o efeito de outras drogas antifúngicas sistêmicas ou tópicas, não tendo eficiência no tratamento de dermatofitoses.

4 ESPOROTRICOSE

A dermatozoonose, esporotricose, é causada pelo fungo dimórfico *Sporothrix schenckii*, um saprófita presente no solo, matéria orgânica e plantas, com grande ocorrência em regiões de clima tropical e úmido (LOPES-BEZERRA; SCHUBACH; COSTA, 2006; MADRID et al., 2010). Na América do Sul, essa dermatozoonose é considerada a micose subcutânea com maior número de casos (MEINERZ et al, 2007). No Brasil, a região do Rio de Janeiro, é considerada, atualmente, como uma zona hiperendêmica (RODRIGUES; HOOG; OLIVEIRA, 2016). Outras regiões onde há crescente de casos é no sul do Rio Grande do Sul (GOMES, 2012), bem como Recife (DA SILVA, 2008), sendo consideradas endêmicas. Ainda há relatos da doença, tanto em animais quanto em humanos, em algumas partes, Sudeste, sobretudo em São Paulo (RODRIGUES; HOOG; OLIVEIRA, 2016) e em alguns estados do Norte e Nordeste (ARAUJO; SANTANA, 2016; COLODEL et al., 2009; GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2015; MARQUES-MELO et al., 2014)

Felinos machos, não castrados e de vida livre são os principais animais afetados (CROTHERS et al., 2009). A infecção ocorre por meio da inoculação traumática do fungo, podendo ocorrer por acidentes com fômites contaminados, mas principalmente por arranhões ou mordidas de felinos, doentes ou portadores assintomáticos, que podem transmitir o fungo presente em unhas e cavidade oral (MADRID et al., 2010).

Os gatos domésticos estão no centro do ciclo de transmissão da doença, atuando como potenciais transmissores tanto para animais como humanos. Nas lesões desses animais são encontradas grande quantidade de formas leveduriformes, sendo assim, consideradas também como fontes infectantes, principalmente quando em contato com as secreções dessas lesões (SCHUBACH et al., 2001; XAVIER et al., 2004).

4.1 SINAIS CLÍNICOS

É possível classificar a doença em duas formas de apresentação: cutânea (fixa, linfocutânea e disseminada) e extra-cutânea (ossos, articulações e pulmão) (MADRID et al., 2007; VIAUD; BESIGNOR, 2008). Nos gatos, a forma cutânea disseminada é a mais comum, levando também ao comprometimento do estado geral do animal e, por vezes, principalmente quando o animal não recebe o tratamento adequado, em morte (VIAUD; BESIGNOR, 2008; XAVIER et al., 2004).

A forma cutânea fixa e linfocutânea ocorrem mais em cães e humanos, acometendo os linfonodos locais e, conseqüentemente, a cadeia linfática a partir da lesão inicial, comprometendo a drenagem linfática, levando a infecções locais e, quando mais grave, sistêmica (MADRID, 2007). A forma extra-cutânea ocorre como evolução da doença, todavia somente acometendo felinos e humanos imunossuprimidos (XAVIER et al., 2004).

As lesões clássicas da doença se dão por nódulos e pústulas, formando úlceras que quando se abrem, apresentam exsudato acastanhado, formando crostas, e, em casos mais graves, podendo ocorrer áreas necróticas (MADRID et al., 2010).

Na espécie felina a maioria das lesões estão localizadas em cabeça, em parte distal dos membros e base da cauda, na maioria dos casos estando limitadas à pele e tecido subcutâneo. Essas lesões estão correlacionadas, principalmente, ao ato dos felinos de brigarem e copularem, pois, em cópula, o macho por muitas vezes acaba mordendo ou arranhando a fêmea, ocasionando essas lesões (FRIBERG, 2006; NOBRE et al., 2002b).

O desenvolvimento da forma disseminada é resultado da cronicidade das lesões, podendo ocorrer por disseminação hematogena, linfática e/ou auto-inoculação, através do hábito de grooming, comum na espécie, bem como cópula e brigas. Complicações sistêmicas podem ocorrer e por vezes levar o felino à óbito (DA SILVA et al., 2008; MADRID et al., 2010).

4.2 TERAPÊUTICA DA ESPOROTRICOSE

De forma geral, o tratamento da esporotricose, tanto felina quanto canina requer cuidados e observações. Ao começar na manipulação dos animais é de suma importância que os tutores e médicos veterinários se precavenham e minimizem ao máximo o contato direto com secreções dos animais, bem como evitem ser mordidos ou arranhados (LARSSON, 2016).

A terapia correta da doença pode ser comprometida por diversos fatores, tais como: o reduzido número de antifúngicos efetivos disponíveis para a o tratamento, o diagnóstico tardio da doença e, principalmente, pela longa duração e desistência dos tutores frente as dificuldades de manipulação dos fármacos fornecidos aos animais (BLANCO; GARCIA, 2008; MADRID et al., 2010).

Observações muito importantes no manejo da esporotricose é o não uso de glicorticoides e fármacos imunossupressores durante o tratamento ou após, pelo menos, seis meses de observada a cura da enfermidade. Esses fármacos podem causar recorrência da doença mesmo após os animais apresentarem a cura clínica. Outro ponto relevante é que antibióticos sejam utilizados somente quando estritamente necessários, pois podem facilitar a recorrência da doença em cães e gatos (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013; ROSSER; DUNSTAN, 2006).

Nos cães a droga mais utilizada, embora haja muitos efeitos colaterais, é a administração oral de Iodeto de potássio na dosagem de 40 mg/kg, a cada 8 a 12 horas, juntamente com alimentação. O uso dessa terapia se dá por longos períodos e a recomendação é que a terapia seja estendida 30 dias após cura clínica das lesões a fim de se evitar recidiva (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL; 2013; ROSSER; DUNSTAN, 2006;).

Souza e colaboradores (2009) realizaram tratamento de um canino utilizando a dose de itraconazol 5mg/kg BID por 60 dias. Após esse período houve desaparecimento total das lesões dermatológicas do animal e a terapia foi mantida por mais 30 dias, a fim de evitar reemissão da doença. Durante a terapia, não foram observados efeitos colaterais, confirmando a boa segurança e baixa toxicidade dos triazólicos. Nobre e colaboradores (2002b) indicaram a dosagem de 10-20 mg/kg a cada 24 horas para caninos. Todavia, é importante ressaltar que os caninos podem apresentar mais efeitos colaterais que os felinos com o uso do itraconazol, sendo assim, recomenda-se começar o tratamento de esporotricose nessa espécie com a menor dosagem possível (LARSSON, 2016).

Nos felinos as micoses subcutâneas e profundas são tratadas com 10- 20mg/kg/dia (LARSSON, 2016), sendo o itraconazol, principalmente em forma de solução, a mais indicada para a espécie (LARSSON, 2016; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL; 2013). Alguns autores consideram, principalmente em literatura internacional, que as dosagens entre 1,5 e 5 mg/kg a cada 24 horas efetivas (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL; 2013; MORIELLO, 2004), entretanto trabalhos publicados no Brasil tem consenso que a droga possui melhor ação e menor

chance de promover a recidiva quando utilizada a dosagem de 10 mg/kg (LARSSON, 2016; NOBRE et al., 2002a).

A dose do cetoconazol usado na terapêutica da esporotricose felina varia de 5 a 27 mg/kg a cada 12 ou 24 horas VO. Um dos efeitos adversos mais comumente observados nos gatos em uso deste fármaco é a elevada toxicidade hepática, sendo desta forma recomendado o monitoramento periódico das enzimas hepáticas (SCHUBACH; MENEZES; WANKE, 2012).

É importante salientar que a espécie felina tem maior sensibilidade e apresenta mais efeitos colaterais aos iodetos e cetoconazol, sendo recomendado o monitoramento constante dos animais durante a terapia com essas drogas (NOBRE et al., 2002a; ROSSER; DUNSTAN, 2006).

Tratamentos experimentais alternativos vem sendo testados a fim de procurar boa eficácia na terapêutica da doença. Schubach, Menezes e Wanke (2012) sugeriram a associação de iodeto de potássio aos azólicos e à terbinafina no tratamento da esporotricose, tanto humana quanto felina, observando melhores resultados na associação se comparado ao tratamento como monoterapia com os referidos fármacos.

Casos de refratariedade ao itraconazol, em que o animal apresente até cinco lesões, é preconizado o emprego de associação de anfotericina B (100mg/animal) aplicada intralesional. É importante que seja preparada uma solução contendo 50mg do fármaco associado a água destilada e (5ml) e lidocaína a 2% (5 ml), obtendo uma concentração de 5mg/ml. As aplicações devem ser repetidas a cada 7 ou 15 dias até a involução lesional (GREMIÃO et al., 2011).

A associação da criocirurgia com itraconazol tratamento dos felinos tornou o tratamento mais efetivo e mais rápido. Souza et al. (2016) relataram cura clínica em 84,6% dos gatos quando empregada a terapia combinada.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As dermatopatias fúngicas estão cada vez mais presentes na clínica médica de animais de companhia, com número crescente de casos. Uma vez que essas doenças podem ser transmitidas aos seres humanos é essencial aos médicos veterinários estarem preparados para diagnosticar e tratá-las da forma correta. É preciso levar em consideração sempre o bem-estar do paciente e buscar atualização acerca dos tratamentos descritos na literatura, a fim de evitar efeitos nocivos aos animais, pois, como descrito no capítulo, as terapias tendem a se estender por longos períodos. Assim, é de suma importância que o médico veterinário e os tutores desses

animais estejam cientes da importância do emprego correto dos fármacos e do manejo adequado do animal durante o tratamento.

5 REFERÊNCIAS

ANGILERI, M. et al. Azole resistance of *Malassezia pachydermatis* causing treatment failure in a dog. **Medical Mycology Case Reports**, v. 23, p. 58-61, 2019.

ARAÚJO, A. K. L.; SANTANA, L. C. A. de Esporotricose felina no município de Bezerros, Agreste Pernambucano: Relato de caso. **Pubvet**, v. 10, p. 795-872, 2016.

BALDA, A. C; OTSUKA, M.; LARSSON, C. E. Ensaio clínico da griseofulvina e da terbinafina na terapia das dermatofitoses em cães e gatos. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 750-754, 2007.

BALDA, A. C. **Avaliação das concentrações de terbinafina no pelame de gatos da raça Persa com dermatofitose e daqueles portadores de *Microsporium canis* tratados em esquema de pulsoterapia ou terapia contínua.** 2008. Tese. Doutorado em Ciências Veterinárias. Programa de pós graduação em clínica veterinária, Faculdade de medicina veterinária e zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

BALDA, A. C. Dermatofitose. In: LARSSON, C. E; LUCAS, R. **Tratado de medicina externa: dermatologia veterinária.** 1. ed., Brasil: Interbook, 2016. p. 250-265.

BLANCO, J. L.; GARCIA, M. E. Immune response to fungal infections. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 125, n. 1-2, p. 47-70, 2008.

BRITO, E. H. S. et al. The anatomical distribution and antimicrobial susceptibility of yeast species isolated from healthy dogs. **The Veterinary Journal**, v. 182, n. 2, p. 320-326, 2009.

BRUNE, J. **Les dermatophytoses canines: étude de l'épidémiologie et des agents en cause en France métropolitaine à partir des données du laboratoire DPM de l'ENVN.** 2009. Tese. Doutorado em Ciências Veterinárias. École Nationale de Veterinaire de Nantes, Nantes. 2009.

CARLOTTI, D. N. B; ENSIGNOR, E. Dermatophytosis due to *Microsporium persicolor* (13 cases) or *Microsporium gypseum* (20 cases) in dogs. **Veterinary Dermatology (United Kingdom)**, v. 10. n. 1, p. 17-27, 1999.

CARLOTTI, D. N.; PIN, D. Aspects cliniques et histopathologiques, diagnostic différentiel et traitements des dermatophytoses chez les carnivores domestiques. **Ann Méd Vét**, v. 147, p. 85-96, 2002.

- CARLOTTI, D. N. Le traitement des dermatophytoses du chien et du chat. Gestion de la teigne en chatterie. **Pratique Medicale et Chirurgicale de L'animal de Compagnie**, v. 43, n. 1, p. 1-13, 2008.
- CHERMETTE, R.; FERREIRO, L.; GUILLOT, J. Dermatophytoses in animals. **Mycopathologia**, v. 166, n. 5-6, p. 385-405, 2008.
- COLODEL, M. M, et al. Esporotricose cutânea felina no Estado de Santa Catarina: relato de casos. **Veterinária in Foco**, v. 7, n. 1, p. 18-27, 2009.
- CORNEGLIANI, L.; PERSICO, P.; COLOMBO, S. Canine nodular dermatophytosis (kerion): 23 cases. **Veterinary Dermatology**, v. 20, n. 3, p. 185-190, 2009.
- CROTHERS, S. L. et al. Sporotrichosis: a retrospective evaluation of 23 cases seen in northern California (1987–2007). **Veterinary Dermatology**, v. 20, n. 4, p. 249-259, 2009.
- DA SILVA, D. T. et al. Esporotricose conjuntival felina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, n. 2, p. 181-184, 2008.
- DARKES, M. J. M.; SCOTT, L. J.; GOA, K. L. Terbinafine. **American Journal of Clinical Dermatology**, v. 4, n. 1, p. 39-65, 2003.
- DEBOER, D. J. et al. Effects of lufenuron treatment in cats on the establishment and course of *Microsporum canis* infection following exposure to infected cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 222, n. 9, p. 1216-1220, 2003.,
- DEGREEF, H. Clinical forms of dermatophytosis (ringworm infection). **Mycopathologia**, v. 166, n. 5-6, p. 257, 2008.
- FERREIRO, L. et al. Zoonoses micóticas em cães e gatos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, n. 2, p. S296-S299, 2007.
- FRIBERG, C. Feline facial dermatoses. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 36, n. 1, p. 115-140, 2006.
- GIMMLER, J. R. et al. Determining canine skin concentrations of terbinafine to guide the treatment of *Malassezia dermatitis*. **Veterinary Dermatology**, v. 26, n. 6, p. 411-e96, 2015.
- GOMES, A. R. **Estudo retrospectivo das micoses e micotoxicoses animais na região sul do Brasil**. 2012. Dissertação. Mestrado em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.
- GREMIÃO, I. D. F et al. Treatment of refractory feline sporotrichosis with a combination of intralesional amphotericin B and oral itraconazole. **Australian Veterinary Journal**, v. 89, n. 9, p. 346-351, 2011.
- GROOTERS, A. M.; TABOADA, J. Update on antifungal therapy. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 33, n. 4, p. 749-58, 2003.

GUILLOT, J.; BOND, R. *Malassezia pachydermatis*: a review. **Medical Mycology**, v. 37, n. 5, p. 295-306, 1999.

GUTIERREZ-GALHARDO, M. C. et al. Epidemiological aspects of sporotrichosis epidemic in Brazil. **Current Fungal Infection Reports**, v. 9, n. 4, p. 238-245, 2015.

IHRKE, P. J. *Malassezia dermatitis* and hypersensitivity. In: **North American Veterinary Conference (USA)**. Orlando, 1996.

KANO, R. et al. Confirmed case of feline mycetoma due to *Microsporium canis*. **Mycoses**, v. 52, n. 1, p. 80-83, 2009.

LARSSON, C. E. Esporotricose In: LARSSON, C. E.; LUCAS, R. **Tratado de medicina externa: dermatologia veterinária**. 1. ed. Brasil: Editora Interbook. 2016, p. 303-309.

LEITE, C. A. L.; ABREU, V. L. V.; COSTA, G. M. Frequência de *Malassezia pachydermatis* em otite externa de cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 1, p. 1, 2003.

LOBELL, R.; WEINGARTEN, A.; SIMMONS, R. Um novo agente para o tratamento da otite externa canina. **A Hora Vet**, v. 88, p. 29-33, 1995.

LOPES-BEZERRA, L. M.; SCHUBACH, A.; COSTA, R. O. *Sporothrix schenckii* and sporotrichosis. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 78, n. 2, p. 293-308, 2006.

LUND, A.; DEBOER, D. J. Immunoprophylaxis of dermatophytosis in animals. **Mycopathologia**, v. 166, n. 5-6, p. 407-424, 2008.

MADRID, I. M. et al. Esporotricose óssea e cutânea em canino. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 44, n. 6, p. 441-443, 2007.

MADRID, I. M. et al. Feline sporotrichosis in the southern region of Rio Grande do Sul, Brazil: clinical, zoonotic and therapeutic aspects. **Zoonoses and Public Health**, v. 57, n. 2, p. 151-154, 2010.

MANCIANTI, F.; DABIZZI, S.; NARDONI, S. A lufenuron pre-treatment may enhance the effects of enilconazole or griseofulvin in feline dermatophytosis? **Journal of Feline Medicine & Surgery**, v. 11, n. 2, p. 91-95, 2009.

MARQUES-MELO, E. H. et al. Felino doméstico como agente transmissor de esporotricose para humano: relato do primeiro caso no estado de Alagoas. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 38, n. 2, p. 490-498, 2014.

MAZZEI, C. R. N. Malasseziose ototegumentar. In: LARSSON, C. E.; LUCAS, R. **Tratado de medicina externa: dermatologia veterinária**. 1. ed. Brasil: Editora Interbook. 2016. p. 267-279.

MEINERZ, A. R. M et al. Esporotricose felina: relato de casos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 3, p. 575-577, 2007.

MILLER, JR, W. H.; GRIFFIN, C. E.; CAMPBELL, K. L. **Muller and Kirk's small animal dermatology**. 7. ed. St Louis: Elsevier Health Sciences, 2013. p. 254-277.

MORIELLO, K. A.; DEBOER, D. J. Feline dermatophytosis: recent advances and recommendations for therapy. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 25, n. 4, p. 901-921, 1995.

MORIELLO, K. A. Treatment of dermatophytosis in dogs and cats: review of published studies. **Veterinary Dermatology**, v. 15, n. 2, p. 99-107, 2004b.

MORIELLO, K. A. et al. Diagnosis and treatment of dermatophytosis in dogs and cats. Clinical consensus guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. **Veterinary Dermatology**, v. 28, n. 3, p. 266-268, 2017.

NAGLE, T. Topics in pediatric dermatology. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 36, n. 3, p. 557-572, 2006.

NEGRE, A.; BENSIGNOR, E.; GUILLOT, J. Evidence based veterinary dermatology: a systematic review of interventions for *Malassezia dermatitis* in dogs. **Veterinary Dermatology**, v. 20, n. 1, p. 1-12, 2009.

NOBRE, M. O. et al. Drogas antifúngicas para pequenos e grandes animais. **Ciência Rural**, v. 32, n. 1, p. 175-184, 2002a.

NOBRE, M. O. et al. Esporotricose zoonótica na região sul do Rio Grande do Sul (Brasil) e revisão da literatura brasileira. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 9, n. 1, p. 36-41, 2002b.

NOBRE, M. O. et al. Disease progression of dermatophytic pseudomycetoma in a Persian cat. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 27, n. 2, p. 98-100, 2010.

NUTTALL, T. J. et al. Successful resolution of dermatophyte mycetoma following terbinafine treatment in two cats. **Veterinary Dermatology**, v. 19, n. 6, p. 405-410, 2008.

OLIVEIRA, L. C. et al. Comparative study of the microbial profile from bilateral canine otitis externa. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 49, n. 8, p. 785, 2008.

OLIVEIRA, L. C. et al. Perfil de isolamento microbiana em cães com otite media e externa associada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 6, p. 1009-1017, 2006.

PRADO, M. R. do. **Isolamento de *Microsporum canis*, *Malassezia spp.* e *Candida tropicalis* em Cães: um destaque para teste de sensibilidade de *Malassezia pachydermatis* in vitro**. 2007. Tese Doutorado em Ciências Veterinárias. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2007.

PRADO, M. R. et al. Frequency of yeasts and dermatophytes from healthy and diseased dogs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 20, n. 2, p. 197-202, 2008.

- PINCHBECK, L. R. et al. Comparison of pulse administration versus once daily administration of itraconazole for the treatment of *Malassezia pachydermatis* dermatitis and otitis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 220, n. 12, p. 1807-1812, 2002.
- RODRIGUES, A. M.; HOOG, G. S. de.; CAMARGO, Z. P. de. *Sporothrix* species causing outbreaks in animals and humans driven by animal–animal transmission. **PLOS Pathogens**, v. 12, n. 7, p. e1005638, 2016.
- ROSALES, M. S. et al. Comparison of the clinical efficacy of oral terbinafine and ketoconazole combined with cephalexin in the treatment of *Malassezia dermatitis* in dogs—a pilot study. **Veterinary Dermatology**, v. 16, n. 3, p. 171-176, 2005.
- ROSSER, E.; DUNSTAN, R. Sporotrichosis. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2006.
- SCHUBACH, T. M. P. et al. Isolation of *Sporothrix schenckii* from the nails of domestic cats (*Felis catus*). **Medical Mycology**, v. 39, n. 1, p. 147-149, 2001.
- SCHUBACH, T. M. P.; MENEZES, R. C.; WANKE, B. Sporotrichosis. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 4. ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2012. p. 645-650.
- SOUZA, N. T. et al. Esporotricose canina: relato de caso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 3, p. 572-576, 2009.
- SOUZA, C. P. de. et al. Cryosurgery in association with itraconazole for the treatment of feline sporotrichosis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 18, n. 2, p. 137-143, 2016.
- VIAUD, S.; BENSIGNOR, E. Les dermatozoonoses du chien et du chat. **Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie**, v. 43, n. 4, p. 131-139, 2008.
- XAVIER, M. O. et. al. Esporotricose felina com envolvimento humano na cidade de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v. 34, n. 6, p. 1961-1963, 2004



Capítulo

14

Contribuição das plantas medicinais para o tratamento de dermatopatias infecciosas de origem fúngica

Winner Duque Rodrigues¹
Fernanda de Paula Roldi Vieira²
Roselena Abreu Guedes³
Elisabeth Maria López de Prado⁴
Juliana Alves Resende⁵
Juliana Aparecida Severi⁶

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

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

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: rosinhafarma25@gmail.com

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: elisabeth.prado7@gmail.com

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: ju.alves.resende@gmail.com

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: juseveri@yahoo.com.br

1 INTRODUÇÃO

Desde os tempos mais remotos que a busca por agentes promotores de saúde e bem-estar junto à natureza faz parte do cotidiano do homem e dos demais animais. Com a expansão das pesquisas científicas e a introdução de novas tecnologias, grandes avanços ocorreram na área de desenvolvimento de fármacos e medicamentos destinados à terapêutica humana e veterinária (ALBUQUERQUE, 1989; ALONSO, 1998; ALVES; SILVA, 2003; AMOROSO, 1996). No âmbito da farmacoterapia antimicrobiana, uma das razões que estimula a procura por novas alternativas é o crescente aumento no número de casos de resistência aos medicamentos convencionais. Importante destacar que a compreensão dos fatores de resistência está longe de ser completa. No entanto, sabe-se que os fungos podem ser primariamente resistentes à ação de drogas antifúngicas (resistência intrínseca), ou podem ser inicialmente suscetíveis, mas desenvolver mecanismos secundários de resistência após exposição a antifúngicos e a seleção de clones resistentes (resistência adquirida). Desta forma, há uma necessidade urgente de abordagens integradoras, com o intuito de otimizar o uso da terapia antimicrobiana e controlar a resistência sem afetar a saúde de plantas, animais e seres humanos (PRECOTT; DESMOND, 2013; ROILIDES; IOSIFIDIS, 2019).

No grupo dos fármacos antimicrobianos, os antifúngicos tiveram um avanço quantitativo e qualitativo menor do que os antibacterianos e restringem-se a poucos grupos farmacológicos, devido à dificuldade de se obter fármacos com alvos específicos e importantes contra a célula fúngica (AMOROSO, 1996; ALONSO, 1998; BONTEMPO, 1994; NOBRE et al., 2002). Esta restrição terapêutica acontece devido a similaridade existente entre as células fúngicas e humanas, uma vez que ambas são organismos eucarióticos. Isso irá resultar em menor seletividade para o alvo pretendido e, portanto, mais efeitos colaterais ao hospedeiro (LACAZ; NEGRO, 1991; SELITRENNIKOFF, 2001).

A falta de opções terapêuticas para o tratamento de infecções fúngicas também se reflete na medicina veterinária. Em parte, isso se deve também à maior diversidade de animais e suas particularidades fisiológicas, as quais ampliam as possibilidades de nichos para fungos parasitas ainda pouco investigados. A terapêutica antifúngica na clínica veterinária está embasada na terapia medicamentosa humana, revelando a carência de bioativos e a necessidade de estudos das propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas dos animais (ALBUQUERQUE, 1989; ALONSO, 1998; ALVES; SILVA, 2003; NOBRE et al., 2002).

Mesmo com a crescente procura por alternativas, o emprego de produtos naturais na

saúde animal ainda é prematuro e pouco explorado. O Brasil possui a maior biodiversidade do mundo, mas apenas 1% do mercado de fitoterápico do país é voltado para o setor veterinário (OZAKI; DUARTE, 2006). A utilização de plantas medicinais está estabelecida na terapêutica humana e vem se expandindo no ramo veterinário através da cultura do uso dos conhecimentos empíricos e comprovações científicas (ALBUQUERQUE, 1989; ALVES; SILVA, 2003).

Sabendo da diversidade de plantas no mundo, esta prática torna-se uma alternativa favorecida e vantajosa por apresentar, na maioria das vezes, baixo custo e fácil aquisição, além de consequentemente elucidar novos princípios ativos com diferentes propriedades terapêuticas e servir como fonte de inspiração para novos modelos moleculares e no desenvolvimento de fármacos (ALONSO, 1998; AMOROSO, 1996; BONTEMPO, 1994).

2 PROPRIEDADE ANTIFÚNGICA

Os fungos são seres eucariotos e constituem mais de 100 mil espécies já descritas. Sabe-se que pelo menos 200 destas espécies são patogênicas ao homem e aos demais animais (TORTORA; FUNKE; CASE, 2016). As doenças infecciosas causadas por fungos são denominadas micoses e em geral são de natureza crônica (NOBRE et al., 2002; OZAKI; DUARTE, 2006). Algumas das infecções micóticas mais comuns são superficiais e envolvem a pele (micoses cutâneas que se estendem até a epiderme). Adicionalmente, os fungos também penetram a pele, causando infecções subcutâneas. As infecções fúngicas mais difíceis de tratar são as micoses sistêmicas, que em geral ameaçam a sobrevivência do organismo infectado (CLARK et al., 2013).

Os fármacos antifúngicos, também conhecidos como antimicóticos, podem ter ação fungistática, na qual o crescimento celular dos fungos é interrompido, ou fungicida, a partir da qual ocorre morte celular. Os fármacos antifúngicos têm características singulares quanto ao mecanismo de ação, vias de administração, e modo de ação frente às micoses superficiais e sistêmicas. Podem ser classificados com base na estrutura química ou no sítio-alvo. Neste sentido, a classificação quanto ao sítio-alvo geralmente é a mais adotada. O alvo principal de ação antifúngica de muitos compostos é a membrana celular (Figura 1), com ação dos inibidores da síntese do ergosterol (alilaminas, derivados imidazólicos e derivados morfolínicos) e por danos direto a membrana com alteração da sua permeabilidade (derivados poliênicos, anfotericina B e nistatina) (CARRILLO-MUNOZ et al., 2006). A anfotericina B, clássico representante do grupo, estabelece interação com poros em toda a membrana fúngica

produzindo uma permeabilidade alterada e vazamento de componentes citoplasmáticos vitais, levando a célula apoptose (CLARK et al., 2013; WALSH et al., 2004).

Outro alvo importante é a parede celular (Figura 1), com ação dos inibidores da síntese de β -glicanos (equinocandinas) e quitina (polixinas e nicomicinas). As equinocandinas são moléculas quimicamente modificadas a partir de fungos. Seu modo de ação baseia-se na inibição da síntese da parede das células β -glicano, uma inibição não competitiva específica (WIEDERHOLD; LEWIS, 2003). Eles incluem: caspofungina, derivados de pneumocandina Bo e produzido por *Glarea lozoyensis* (GORDON; ROMANOWSKI; MCDERMOTT, 2005); micafungina, que é um derivado de equinocandina B e produzido por *Coleophoma empetri* (JARVIS; FIGGITT; SCOTT, 2004); e anidulafungina, derivado de equinocandina B e produzido por *Aspergillus nidulans* (VAZQUEZ, 2005). Os compostos caspofungina, micafungina e anidulafungina são considerados bloqueadores da iniciação de fase G1/S.

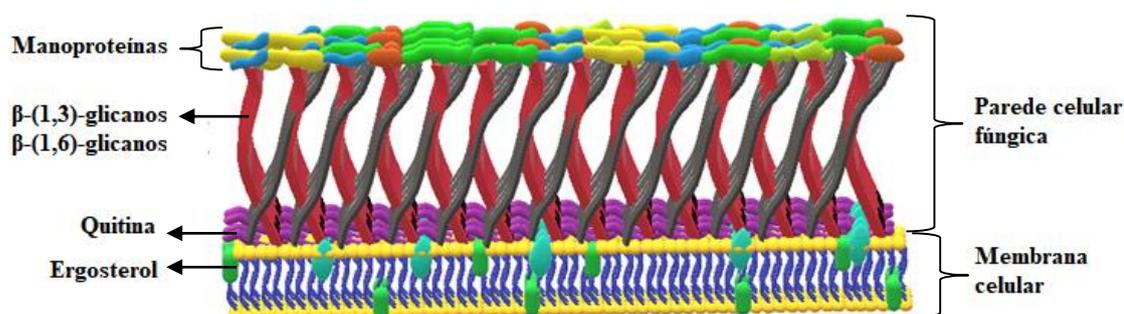


Figura 1: Representação esquemática da parede celular fúngica.
Fonte: Os autores.

3 PRINCIPAIS DERMATOPATIAS EM ANIMAIS DE COMPANHIA

3.1 MALASSEZIOSE

Malassezia pachydermatis é uma levedura lipofílica comensal da pele e de mucosas de humanos e animais (PUIG et al., 2017; VELEGRAKI et al., 2015). É encontrada mais comumente no conduto auditivo externo, região perioral, perianal e dobras de pele (HNILICA; PATTERSON, 2016; QUINN et al., 2011). As dermatites causadas por este fungo têm caráter oportunista e ocorrem em razão de desequilíbrio da homeostase epidérmica, especialmente alergopatias (como atopia ou hipersensibilidade alimentar), endocrinopatias e desordens da queratinização. Doenças metabólicas ou corticoterapia prolongada também podem predispor à

proliferação deste microrganismo, levando ao desenvolvimento da doença (HNILICA; PATTERSON, 2016; QUINN et al., 2011).

A malasseziose é frequentemente diagnosticada em cães. Segundo o que afirmam Bajwa (2017) e Hnilica e Patterson (2016), algumas raças como West Highland white terrier, Dachshund, Setter Inglês, Basset hound, Cocker Spaniel, Shih tzu e Pastor Alemão podem ser mais predispostas. A ocorrência em felinos é rara e as condições determinantes para o estabelecimento de malasseziose envolvem principalmente Diabetes Mellitus, infecções pelo vírus da imunodeficiência felina e as neoplasias desencadeadas pelo vírus da leucemia felina (HNILICA; PATTERSON, 2016; QUINN et al., 2011). Rhodes e Werner (2018) citam as raças Devon Rex e Sphynx como sendo as mais predispostas.

Em cães, os sinais clínicos mais observados são prurido severo, alopecia focal ou generalizada, eritema, crostas e seborreia. A cronificação do quadro leva à ocorrência de liquenificação, hiperpigmentação e paquidermia. O odor oriundo da pele acometida por *M. pachydermatis* é bastante característico, fétido e comumente verifica-se a ocorrência de otite externa com secreção abundante e escura. De maneira semelhante, em felinos os sinais incluem otite externa ceruminosa, alopecia, eritema multifocal ou generalizado e seborreia (BAJWA, 2017; HNILICA; PATTERSON, 2016; QUINN et al., 2011; RHODES; WERNER, 2018).

Os diagnósticos diferenciais incluem outras causas de prurido e seborreia, como demodicose, piodermite superficial, dermatofitose, alergias e infestações por ectoparasitos (HNILICA; PATTERSON, 2016; RHODES; WERNER, 2018).

Os testes diagnósticos mais empregados para a confirmação do quadro são exame citológico com fita de acetato, dermatohistopatologia ou cultura fúngica, sendo o último considerado o padrão-ouro para o diagnóstico (CAFARCHIA et al. 2005; HNILICA; PATTERSON, 2016). Cafarchia et al. (2005) e Bajwa (2017) concordam que a citologia possui boa especificidade, no entanto é pouco sensível. Bajwa (2017) reitera, no entanto, que este é o método diagnóstico mais prático e útil para a rotina clínica dermatológica. Além disso, o autor cita que as culturas fúngicas são pouco úteis na infecção por *M. pachydermatis* por estes serem organismos comensais, tornando seu isolamento em cultura de pouco ou nenhum valor diagnóstico.

O tratamento envolve, primordialmente, detectar a causa de base e tratá-la no intuito de eliminar os fatores predisponentes à doença. Em casos de baixa complexidade a terapia tópica com shampoos antifúngicos já é suficiente. O paciente deve ser banhado a cada dois ou três dias com formulações de cetoconazol a 2%, cetoconazol e clorexidine a 1% e 2%, respectivamente, miconazol a 2%, clorexidine a 4% ou sulfeto de selênio a 1%, mas neste caso,

somente para cães. O tratamento deve permanecer até a resolução completa do quadro e negatização do exame citológico, o que dura em média quatro semanas (HNILICA; PATTERSON, 2016). Cavana et al. (2015) utilizaram lenços contendo clorexidine 0,3%, climbazole 0,5% e Tris-EDTA com a finalidade de reduzir as populações de *M. pachydermatis* na pele de cinco cães da raça Shar-Pei e obtiveram 100% de atividade contra as leveduras de *Malassezia* após 15 minutos de contato com a solução, sugerindo que esta abordagem possa ser útil na terapia tópica envolvendo lábios, patas, região perianal e dobras cutâneas.

O tratamento de escolha para casos moderados a severos é o cetoconazol ou fluconazol a 10% por via oral a cada 24 horas, permanecendo até o desaparecimento das lesões e negatização da citologia cutânea. Alternativamente, o tratamento com terbinafina 5-40 mg/kg VO a cada 12 horas ou itraconazol 5-10 mg/kg VO a cada 24 horas durante 4 semanas pode ser eficaz (HNILICA; PATTERSON, 2016; RHODES; WERNER, 2018).

O prognóstico da Malasseziose é bom, desde que a causa de base seja identificada e corrigida. A enfermidade não é contagiosa para humanos ou outros animais, exceto em indivíduos imunocomprometidos (HNILICA; PATTERSON, 2016).

3.2 DERMATOFITOSE

É a infecção dos tecidos queratinizados por fungos queratinofílicos dos gêneros *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*, também denominados dermatófitos (BEALE, 2005; HNILICA; PATTERSON, 2016). Afeta mais comumente os cães e gatos, embora também seja relatada em animais de grande porte e de produção, como equinos, bovinos e suínos, em roedores e também em aves (MATTEI; BEBER; MADRID, 2014). Além disso, trata-se de uma enfermidade de caráter zoonótico, representando grande importância em saúde pública (MADRID; MATTEI, 2011).

Os dermatófitos são classificados com relação ao nicho primário de desenvolvimento, sendo: zoofílicos, geofílicos e antropofílicos. Os geofílicos como *M. gypseum* têm preferência por substratos do solo. Os zoofílicos, como *M. canis* e *T. mentagrophytes*, tem preferência por hospedeiros animais. Os antropofílicos, acometem hospedeiros humanos. Dermatófitos geofílicos e antropofílicos tendem a produzir mais lesões inflamatórias em animais do que as espécies zoofílicas. No entanto, os antropofílicos, como *E. floccosum*, raramente afetam animais (BEALE, 2005; MADRID; MATTEI, 2011; QUINN et al., 2011).

Dentre os prováveis agentes etiológicos, *M. canis* é o dermatófito zoofílico mais comumente relacionado à dermatofitose canina e felina e há indícios de que os gatos atuem como reservatórios desta espécie (MADRID; MATTEI, 2011; MORIELLO et al., 2017).

Animais imunocomprometidos, filhotes e felinos de pelo longo são relatados como mais suscetíveis à infecção por dermatófitos, assim como felinos Persas e cães das raças Yorkshire e Jack Russel Terrier (BEALE, 2005; HNILICA; PATTERSON, 2016; MADRID; MATTEI, 2011). O acometimento pode ocorrer de maneira focal, multifocal ou generalizada, sendo a forma generalizada mais comum em felinos (MADRID; MATTEI, 2011).

Quando presente, o prurido costuma ser discreto ou moderado, podendo ocasionalmente ser intenso (HNILICA; PATTERSON, 2016). As lesões geralmente incluem áreas de alopecia circular, irregular ou difusa com grau variável de descamação. Os pelos restantes podem apresentar-se frágeis ou quebradiços. Outros sintomas em cães e gatos incluem eritema, pápulas, crostas, seborreia e paroníquia ou onicodistrofia de um ou mais dígitos. A literatura também descreve a possibilidade da ocorrência de kérions nas infecções por dermatófitos (HNILICA; PATTERSON, 2016; MADRID; MATTEI, 2011).

Os principais diagnósticos diferenciais em cães incluem demodicose e piodermite superficial; havendo presença de lesões nodulares, neoplasias e dermatite acral devem ser consideradas. Em felinos, os diferenciais incluem infestações parasitárias, hipersensibilidades e alopecia psicogênica (BEALE, 2005; HNILICA; PATTERSON, 2016).

Existem diversas possibilidades diagnósticas para a confirmação da etiologia da doença. O exame com lâmpada de Wood em geral é considerado útil. Entretanto, confirma apenas a infecção por *M. canis*, sendo grande a possibilidade de falsos negativos e falsos positivos (HNILICA; PATTERSON, 2016; MORIELLO et al., 2017). O tricograma busca encontrar os agentes etiológicos através do exame direto dos pelos retirados das bordas da lesão, os quais são clarificados com hidróxido de potássio e visualizados em microscópio. Trata-se de um exame com baixa acurácia devido à dificuldade de visualização dos microrganismos. Entretanto, assim como o exame com Lâmpada de Wood, pode auxiliar no diagnóstico inicial da doença (HNILICA; PATTERSON, 2016; NOGUEIRA et al., 2013). A dermatohistopatologia é citada, no entanto, pouco empregada na rotina para diagnóstico de dermatofitose. A cultura fúngica é método com maior sensibilidade e especificidade, sendo empregado como padrão-ouro no diagnóstico desta dermatomicose (HNILICA; PATTERSON, 2016; MORIELLO et al., 2017; NEVES, 2015). Atualmente encontram-se disponíveis meios de cultura específicos para cultura micológica de dermatófitos. Estes, denominados Dermatophyte Test Medium (DTM), promovem o isolamento seletivo dos microrganismos de

interesse e ainda possibilitam uma interpretação rápida dos resultados devido à alteração de cor do meio de cultura frente ao resultado positivo (SINGH; ZAMZACHIN; SINGH, 2016).

A abordagem terapêutica está condicionada à manifestação clínica do paciente. Hnilica e Patterson (2016) preconizam que em cães a terapia tópica seja empregada tanto em casos focais quanto generalizados e a terapia sistêmica somente em casos refratários. Os felinos com dermatofitose devem sempre ser tratados sistemicamente. Beale (2005) indicam a terapia sistêmica no tratamento de todos os felinos com dermatofitoses, cães com dermatofitose generalizada ou multifocal e de cães e gatos com onicomicose.

Segundo as Diretrizes de Consenso Clínico da Associação Mundial de Dermatologia Veterinária, os fármacos de ação tópica com melhor resposta terapêutica são as formulações de miconazol a 2%, clorexidine 2% ou a combinação de ambas as substâncias na concentração de 2% cada. Alternativamente, cita-se a terapêutica com terbinafina a 1% ou climbazol 0,5%, sempre associados a clorexidine (MORIELLO et al., 2017). As formulações mais comumente utilizadas na terapia tópica da dermatofitose localizada são os cremes, loções ou sprays aplicados a cada 12 horas sobre as lesões até sua completa resolução. Para quadros generalizados, recomenda-se banhos com shampoos antifúngicos duas vezes por semana por no mínimo 4 a 6 semanas até que a cultura fúngica seja negativa (HNILICA; PATTERSON, 2016).

Dentre as opções terapêuticas sistêmicas, citam-se terbinafina na dose de 30-40 mg/kg a cada 12 horas, cetoconazol ou fluconazol na dose de 10mg/kg a cada 24 horas, itraconazol a 5-10 mg/kg a cada 24 horas (HNILICA; PATTERSON, 2016) e griseofulvina na dose de 5-10 mg/kg, porém o seu uso é restrito aos cães (BEALE, 2005; MORIELLO et al., 2017). O itraconazol é considerado o fármaco de escolha para o tratamento por via oral devido a sua segurança e eficácia (BEALE, 2005; MORIELLO et al., 2017). Os demais fármacos, embora eficazes, apresentam efeitos adversos importantes que devem ser considerados no momento da escolha (BEALE, 2005; HNILICA; PATTERSON, 2016; MORIELLO et al., 2017).

Devido ao seu caráter zoonótico e à possibilidade de transmissão por fômites, recomenda-se que em ambientes cujos animais foram diagnosticados com dermatofitose sejam descontaminados com hipoclorito de sódio a 10% ou formaldeído a 1%. É altamente recomendável examinar os animais contactantes que se encontram assintomáticos visando identificar possíveis reservatórios e, assim, eliminar a fonte de infecção (BEALE, 2005; HNILICA; PATTERSON, 2016; MADRID; MATTEI, 2011; MORIELLO et al., 2017).

Exceto nos pacientes portadores de doenças imunossupressoras, onde o prognóstico de

cura é baixo, o diagnóstico de dermatofitose é considerado bom (HNILICA; PATTERSON, 2016). Tendo em vista que os microrganismos podem permanecer viáveis por até 18 meses no ambiente, ressalta-se que para obtenção de sucesso terapêutico e redução da possibilidade de recidivas é necessário aliar o tratamento dos animais positivos à adequada desinfecção de materiais e instalações (MADRID; MATTEI, 2011).

4 PLANTAS MEDICINAIS E EFICÁCIA ANTIFÚNGICA

As plantas medicinais produzem uma quantidade imensurável de compostos químicos, com inúmeras funções no organismo vegetal (EPSTEIN; BLOON, 2006; GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Os processos metabólicos essenciais à manutenção vital do espécime no meio em que se encontra resultam em compostos produzidos em grande quantidade, com distribuição universal, que são os metabólitos primários. As rotas metabólicas associadas ao metabolismo primário levam à produção de glicídios, aminoácidos, ácidos graxos e nucleotídeos, os quais servirão para a síntese das principais macromoléculas existentes na natureza (polissacarídeos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos). Adicionalmente, o metabolismo vegetal também se caracteriza pela biossíntese de micromoléculas com maior diversidade e complexidade estrutural, cuja produção ocorre em pequena escala, com distribuição restrita e grande especificidade, chamado metabolismo secundário. Os produtos destas reações, nomeadamente, metabólitos secundários, desempenham papel adaptativo e de defesa contra herbívoros, contra microrganismos, contra agentes físicos ambientais (radiação solar, variações de temperatura, umidade, pressão e composição atmosférica), de atração de polinizadores, de animais dispersores de sementes, dentre outros. Tais funções conferem vantagens à sua sobrevivência e perpetuação da espécie (WOLFGANG; MUNKERT; PÁDUA, 2016). É o caso, por exemplo, dos flavonoides, terpenoides, alcaloides, cumarinas, quinonas, etc. (SIMÕES et al., 2017; VERPOORTE; MARASCHI, 2001).

A pele de cães e gatos pode ser afetada por infecções causadas por fungos, bactérias, protozoários e parasitas, dermatite alérgica a pulgas, sarnas, alopecia, cortes, lesões e feridas decorrentes não só de algum tipo de acidente, mas também decorrentes de algumas doenças (BIRCHARD; SHERDING, 1998). Devido a esses acometimentos, a etnoveterinária faz uso dos conhecimentos populares para encontrar alternativas para o tratamento dos mesmos. Desta forma, é possível encontrar alguns estudos que trazem plantas medicinais com atividade antifúngica.

O cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) é amplamente utilizado frente a diferentes espécies de fungos, estudos fitoquímicos revelaram que o óleo essencial desta planta é composto por eugenol, cerca de 70-85% e outros componentes como acetato de eugenol e β -cariofileno que juntos com o eugenol somam 99% do óleo essencial (HYLDGAARD; MYGING; MEYER, 2012), devido a lipofilicidade deste fenilpropanoide, a penetração por membranas lipídicas se torna facilitada e possibilita acesso eficiente ao local de ação que pode ser pela interferência na dupla camada fosfolipídica da parede celular; por alteração de uma variedade de sistemas enzimáticos, incluindo inativação ou destruição do material genético; e pelo aumento da permeabilidade e perda dos constituintes celulares (ESCOBAR, 2002; PEREIRA; MAIA, 2007). O óleo essencial do cravo-da-índia mostrou-se efetivo frente a diversos fungos como *Paracoccidioides lutzii*, *P. brasiliensis*, *Candida albicans*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum* e *Penicillium chrysogenum* (COSTA et al., 2010; COSTA et al., 2011; FARIA et al., 2006; MENEZES et al., 2009; PEREIRA et al., 2013).

O óleo essencial de pitangueira (*Eugenia uniflora*) é composto majoritariamente pelos sesquiterpenos, germacrona (34,6%), curzereno (26,6%), germacreno D (12,5%), que são compostos de baixo peso molecular, lipofílicos e voláteis, sendo que a proporção entre os compostos variam conforme a idade das folhas (SANTOS; BRAZ-FILHO; CASTRO, 2015). Este foi efetivo contra o *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *C. krusei*, e *C. tropicalis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Microsporum canis*, *M. gypseum*, *Trichophyton rubrum* e *T. metagrophytes* (CORREA-ROYERO et al. 2010; SANTOS et al., 2005; SANTOS et al. 2013; SOUZA et al., 2002).

Outra planta medicinal com propriedades antifúngicas é a Calêndula (*Calendula officinalis*). Seu óleo essencial é composto majoritariamente pelos sesquiterpenos δ -cadineno (22,53%), α -caadinol (20,40%) e epi- α -uruolol (12,87%), com atividade frente a vários fungos filamentosos como *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *Exophiala dermatitidis*, *Rhizopus japonicum*, *Rodhotorula glutinis* e diferentes linhagens de *Candida* spp. (EFSTRATIOU et al., 2012; GAZIM et al., 2008; KASIRAM; SAKHARKAR; PATIL, 2000).

O óleo essencial de Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) é composto por α -pineno (25,74%), 1,8-Cineol (21,43%), verbenona (10,49%), borneol (4,04%), canfeno (4,05%). No estudo realizado por Boone et al. (2015) não inibiu o crescimento de *Trichophyton rubrum*, *T. tonsurans*, *T. mentagrophytes*, *Microscpurum gypseum*, *M. canis*, *Epidermophyton floccosum*. Entretanto, o extrato alcoólico das folhas mostrou atividade frente ao *Aspergillus ochraceus* e *A. flavus*, *A. parasiticus*, mostrando que algum metabólito secundário presente nas folhas tem

propriedade antifúngica (CENTENO et al., 2010). Em geral, causa granulação citoplasmática, ruptura da membrana citoplasmática e a inativação e/ou inibição da síntese de enzimas intra- e extracelulares, impedindo o desenvolvimento de germinação celular (SOUZA et al., 2005).

O óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) apresenta ocimeno (37,1%), γ -terpineno (20,0%), timol (17,0%) e carvacrol (4,9%). Foi efetivo contra *Trichophyton rubrum*, *T. tonsurans*, *T. mentagrophytes*, *Microscopium gypseum*, *M. canis*, *Epidermophyton floccosum* (BOONE et al., 2015; INOUYE et al., 2007). O timol, um dos principais constituintes do óleo essencial de tomilho, apresenta estudos que demonstram sua atividade isolado frente a *Candida albicans*, *Stachybotrys chartarum* e a algumas espécies dos gêneros *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Alternaria* spp., *Ulocladium* spp., *Absidia* spp., *Mucor* spp., *Cladosporium* spp., *Trichoderma* spp., *Rhizopus* spp. e *Chaetomium* spp. (KLARIĆ et al., 2007; PRABUSEENIVASAN et al., 2006)

O óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) é composto majoritariamente por terpinen-4-ol (45,9%), eucaliptol (23,8%) e mostrou ser efetivo na inibição do crescimento de *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* e *E. floccosum*, *Penicillium islandicum*, *Aspergillus flavus*, *A. ochraceus*, *Candida albicans*. Também inibiu o crescimento de *T. tonsurans* e *M. gypseum* (BOONE et al. 2015; INOUYE et al., 2007).

A alicina é um composto com propriedade antifúngica e está presente no alho (*Allium sativa*) e em outras espécies do mesmo gênero, sendo biologicamente ativa contra várias espécies de leveduras e fungos dermatófitos e dimorfos (YAMADA; AZUMA, 1977). Posteriormente, estudos demonstraram que a alicina é capaz de inibir a síntese de novos fosfolipídios acarretando no aumento da proporção de fosfatidiletanolamina e diminuição de fosfatidilcolina, ambos constituintes importantes no funcionamento das membranas celulares (ADETUMBI; JAVOR; LAU, 1986; GHANNOUM, 1988; GHANNOUM; RICE, 1999). Ainda, outro composto antifúngico encontrado no alho é o ajoene, uma substância organossulfurada alvo de muitos experimentos *in vitro* com exemplares micóticos como *Microsporum canis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Cladosporium carrionii*, *Coccidioidis immitis*, *Cryptococcus neoformans*, *Fonsecaea pedrosoi* e *Malassezia furfur* (GIL et al., 1993; ROMERO et al., 2000; SAN-BLAS et al., 1989; SÁNCHEZ-MIRT; GIL; APITZ-CASTRO, 1994; SHAMS-GHAHFAROKHI et al., 2006; VIVAS et al., 2002; YOSHIDA et al., 1987). A atividade antiproliferativa do ajoene parece estar associada a vários mecanismos, como a inibição da biossíntese de fosfatidilcolina (ADETUMBI; JAVOR; LAU, 1986; DEBOUZY et al., 1989; SAN-BLAS et al., 1989; YAMADA; AZUMA, 1977), ou inibição da enzima glutationa redutase, responsável por neutralizar radicais livres (GALLWITZ et al., 1999). O

estudo realizado por Ferri et al. (2003) relata que o ajoene reage com os grupos sulfidríla dos resíduos de cisteína nas proteínas da membrana que estão relacionados com funções de adesão na interação parasita-hospedeiro, patogenicidade, receptores de superfície celular, transdutores de sinalização celular, etc.

Liu et al. (1990) isolaram o alcaloide 3-metoxi-sampangina da raiz de *Cleistopholis patens*, que mostrou atividade inibitória frente ao crescimento de *Candida albicans* e *C. neoformans* e o fungo filamentoso *Aspergillus fumigatus*. Outro alcaloide com a mesma propriedade foi extraído de algas marinhas do gênero *Haliclona* spp, identificado como papuamina (=haliclodiamina), eficaz contra o crescimento de *Trichophyton mentagrophytes* (BAKER; SCHEUER; SHOOLERY, 1988). A jatrorrizina, berberina, palmatina, são alcaloides extraídos das raízes de *Mahonia aquifolium*, e promoveram a diminuição do crescimento de espécies do gênero *Trichophyton* spp., *Microsporum* spp. e *Candida* spp. de forma semelhante. Além disso, os compostos berberina e palmatina inibiram o crescimento de *C. tropicalis* e *Malassezia* spp (VOLLEKOVÁ et al., 2001; 2003). Recentemente, também foi relatado que a berberina e palmatina contra *C. albicans* resulta da sua capacidade de inibir estero 24-metil transferase (24-SMT) e quitina sintase, enzimas chave nas vias de biossíntese do ergosterol e de quitina (PARK et al., 1999).

Hakkakifard e Alipasandi (2014) avaliaram a atividade antidermatofíticas da *Echinophora platyloba* em cães com dermatofitoses. De acordo com os estudos, a principal causa de micose em cães sob teste foi devido à presença de *Microsporum canis*. O extrato de *E. platyloba* mostrou recuperação completa em 50% dos animais tratados. As plantas medicinais do gênero *Pterocaulon* possuem grande espectro de atividades contra patógenos oportunistas sendo elas, *P. alopecuroides*, *P. interruptum* e *P. polystachyum* possuem componentes positivos no uso contra infecções fúngicas em seres humanos e animais (BONTEMPO, 1994; STEIN et al., 2005).

A polpa de calabaua (*Crescentia cujete*) é aplicada em dermatites, cortes, queimaduras de sol, problemas de pele de cachorros e tem propriedades repelentes contra pulgas (LANS et al., 2000). O crisântemo de jardim também possui propriedades repelentes para cães e gatos (BERSCHNEIDER, 2002). O *Hydrastis canadensis* é usado para problemas na pele e pelagem do animal (STEIN, 1998). Também é usado em problemas gastrintestinais e possui ação antifúngica. O extrato de *Bixa orellana* pode ser usado em micoses cutâneas e têm sido responsável pela causa de hiperglicemia em cachorros quando é dado ao cachorro em quantidades de 2 g por dia, durante 14 dias (CUNHA; SILVA; ROQUE, 2003). Fenner et al.

(2006), elencaram outras diversas plantas com potencial antifúngico.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora muitos antifúngicos já tenham sido desenvolvidos, estes ainda apresentam mecanismo de ação ou moléculas-alvo muito limitados. Essa característica é preocupante quando se considera a contínua ocorrência de resistência em isolados clínicos levando a falhas no tratamento. Neste contexto, considerando a necessidade de novos antifúngicos eficazes e que, reconhecidamente, o estudo da utilização popular de plantas medicinais é uma ferramenta importante no descobrimento de novos fármacos, estes resultados apontam para a flora brasileira como alvo para pesquisa e desenvolvimento de novas substâncias com atividade antifúngica.

6 REFERÊNCIAS

- ADETUMBI, M.; JAVOR, G. T.; LAU, B. H. *Allium sativum* (garlic) inhibits lipid synthesis by *Candida albicans*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 30, n. 3, p. 499-501, 1986.
- ALBUQUERQUE, J. M. **Plantas medicinais de uso popular**. Brasília: ABEAS/MEC, 1989.
- ALONSO, J. R. **Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas**. Buenos Aires: Isis Ediciones, 1998.
- ALVES, A. R.; SILVA, M. J. P. O uso da fitoterapia no cuidado de crianças com até cinco anos em área central e periférica da cidade de São Paulo. **Revista Escola de Enfermagem**, v. 37, n. 4, p. 85-91, 2003.
- AMOROSO, M. C. M. A abordagem etnobotânica na pesquisa de plantas medicinais. In: DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: arte e ciência**. São Paulo: UNESP, 1996.
- BAJWA, J. Canine *Malassezia dermatitis*. **Canadian Veterinary Journal**, v. 58, n. 10, p. 1119-1121, 2017.
- BAKER, B. J.; SCHEUER, P. J.; SHOOLERY, J. N. Papuamine, an antifungal pentacyclic alkaloid from a marine sponge, *Haliclona* sp. **Journal of the American Chemical Society**, v. 110, n. 3, p. 965-966, 1988.
- BEALE, K. M. Dermatophytosis. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Saunders manual of small animal practice**. 3. ed. St. Louis: Elsevier Health Sciences. 2005.

- BERSCHNEIDER, H. M. Complementary and alternative veterinary medicine and gastrointestinal disease. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 17, p. 19-24, 2002.
- BIRCHARD, S. J; SHERDING, R. G. **Manual saunders: clínica de pequenos animais**. 3. ed. São Paulo: Roca. 1998.
- BONTEMPO, M. **Medicina natural**. São Paulo: Nova Cultural, 1994.
- BOONE, L. G. et al. Antimicrobial and antioxidant activities and chemical characterization of essential oils of *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, and *Origanum majorana* from northeastern México. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 28, 2015.
- CAFARCHIA, C. et al. Frequency, body distribution, and population size of *Malassezia* species in healthy dogs and in dogs with localized cutaneous lesions. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 17, p. 316-322, 2005.
- CARRILLO-MUNOZ, A. J. et al. Antifungal agents: mode of action in yeast cells. **Revista Espanhola de Quimioterapia**, v. 19, n. 2, p. 130-139, 2006.
- CAVANA, P. et al. A pilot study of the efficacy of wipes containing chlorhexidine 0.3%, climbazole 0.5% and Tris-EDTA to reduce *Malassezia pachydermatis* populations on canine skin. **Veterinary Dermatology**, v. 26, p. 278-283, 2015.
- CENTENO, S. et al. Antifungal activity of extracts of *Rosmarinus officinalis* and *Thymus vulgaris* against *Aspergillus flavus* and *A. ochraceus*. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 13, n. 9, p. 452-455, 2010.
- CLARK, M. A.; FINKEL, R. REY, J. A.; WHALEN, K. **Farmacologia ilustrada**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.
- CORREA-ROYERO, J. et al. *In vitro* antifungal activity and cytotoxic effect of essential oils and extracts of medicinal and aromatic plants against *Candida krusei* and *Aspergillus fumigatus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 5, p. 734-741, 2010.
- COSTA, A. R. T. et al. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr e L. M. Pérry sobre as hifas de alguns fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, p. 240-245, 2011.
- COSTA, D. P. et al. Influence of fruit biotypes on the chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 5, p. 851-858, 2010.
- CUNHA, A. P.; SILVA, A. P.; ROQUE, O. R. **Plantas e produtos vegetais em fitoterapia**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2003.
- DEBOUZY, J. C. et al. Interaction of antiaggregant molecule ajoene with membranes. **European Biophysics Journal**, v. 17, n. 4, p. 211-216, 1989.
- EFSTRATIOU, E. et al. Antimicrobial activity of *Calendula officinalis* petal extracts against

fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. **Complementary Therapies in Clinical Practice**, v. 18, n. 3, p. 173-176, 2012.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. Londrina: Editora Planta, 2006.

ESCOBAR, R. G. Eugenol: propiedades farmacológicas y toxicológicas - ventajas y desventajas de su uso. **Revista Cubana de Estomatología**, v. 39, n. 2, 2002.

FARIA, T. J. et al Antifungal activity of essential oil isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against phytopathogenic fungi. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 6, p. 867-871, 2006.

FENNER, R. et al. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 3, p. 369-394, 2006.

FERRI, N. et al. Ajoene, a garlic compound, inhibits protein prenylation and arterial smooth muscle cell proliferation. **British Journal of Pharmacology**, v. 138, n. 5, p. 811-818, 2003.

GALLWITZ, H. et al. Ajoene is an inhibitor and subversive substrate of human glutathione reductase and *Trypanosoma cruzi* trypanothione reductase: crystallographic, kinetic, and spectroscopic studies. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 42, n. 3, p. 364-372, 1999.

GAZIM, Z. C. et al. Antifungal activity of the essential oil from *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) growing in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 1, p. 61-63, 2008.

GHANNOUM, M. A. Studies on the anticandidal mode of action of *Allium sativum* (garlic). **Microbiology**, v. 134, n. 11, p. 2917-2924, 1988.

GHANNOUM, M. A.; RICE, L. B. Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 501-517, 1999.

GIL, F. et al. Efecto inhibitorio y alteraciones ultraestructurales producidas por ajoeno sobre el crecimiento *in vitro* de los hongos dematiáceos: *Cladosporium carrionii* y *Fonsecaea pedrosoi*. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 10, n. 3, p. 74-78, 1993.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374, 2007.

GORDON, Y. J.; ROMANOWSKI, E. G.; MCDERMOTT, A. A review of antimicrobial peptides and their therapeutic potential as anti-infective drugs. **Current Eye Research**, v. 30, n. 7, p. 505-515, 2005.

HAKKAKIFARD, H.; ALIPASANDI, F. Evaluation effect of *Echinophora platyloba* extract on treatment of dogs with dermatophytosis. **International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences**, v. 3, n. 11, p. 2356-2361, 2014.

HNILICA, K. A.; PATTERSON, A. P. **Small animal dermatology: a color atlas and**

therapeutic guide. St Louis: Elsevier, 2016.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R. L. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, p. 12, 2012.

INOUYE, S. et al. Combined effect of heat, essential oils and salt on the fungicidal activity against *Trichophyton mentagrophytes* in foot bath. **Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi**, v. 48, n. 1, p. 27-36, 2007.

JARVIS, B.; FIGGITT, D. P.; SCOTT, L. J. Miconazole. **Drugs**, v. 64, n. 9, p. 969-982, 2004.

KASIRAM, K.; SAKHARKAR, P. R.; PATIL, A. T. Antifungal activity of *Calendula officinalis*. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 62, n. 6, p. 464, 2000.

KLARIĆ, M. Š. et al. Antifungal activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings. **Letters in Applied Microbiology**, v. 44, n. 1, p. 36-42, 2007.

LACAZ, C. S.; NEGRO, G. Drogas antifúngicas. Terapêutica das micoses. In: LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C. **Micologia médica fungos, actinomicetos e algas de interesse médico**. São Paulo: Savier, 1991.

LANS, C. et al. Medicinal plants used for dogs in Trinidad and Tobago. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 45, p. 201-220, 2000.

LIU, S. C. et al. 3-Methoxysampangine, a novel antifungal copyrine alkaloid from *Cleistopholis patens*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 34, n. 4, p. 529-533, 1990.

MADRID, I. M.; MATTEI, A. S. Dermatofitose. **Manual de zoonoses**. Porto Alegre: Conselhos Regionais Conselhos Regionais de Medicina Veterinária Região Sul. 1. ed. 2011. v. 2. p. 37-47.

MATTEI, A. S.; BEBER, M. A.; MADRID, I. M. Dermatophytosis in small animals. **SOJ Microbiology & Infectious Diseases**, v. 2, n. 3, p. 1-6, 2014.

MENEZES, T. O. A. et al. Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre a cepa de *Candida albicans*. **Revista de Odontologia**, v. 38, n. 3, p. 184-191, 2009.

MORIELLO, K. A. et al. Diagnosis and treatment of dermatophytosis in dogs and cats. **Veterinary Dermatology**, v. 28, n. 3, p. 266-308, 2017.

NEVES, J. J. A. **Pesquisa de dermatófitos em pets e no ambiente domiciliar**. 2015. 49 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Ambiental e Experimental da Universidade Paulista) – Universidade Paulista, São Paulo, 2015.

NOBRE, M. D. O. et al. Drogas antifúngicas para pequenos e grandes animais. **Ciência**

Rural, v. 32, n. 1, p. 175-184, 2002.

NOGUEIRA, M. A. A. et al. Diagnóstico das dermatites fúngicas em cães e gatos. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 13, 2013, Recife. **Anais...** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2013. p. 1-3.

OZAKI, A. T.; DUARTE, P. C. Fitoterápicos utilizados na medicina veterinária, em cães e gatos. **Revista Pharmacia Brasileira**, v. 12, n. 2, p. 14-21, 2006.

PARK, K. S. et al. Differential inhibitory effects of protoberberines on sterol and chitin biosyntheses in *Candida albicans*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 43, n. 5, p. 667-674, 1999.

PEREIRA P. C. A. et al. Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial do cravo-da-índia e eugenol comercial sobre *Paracoccidioides sp.* In: Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, 17, 2013, São José dos Campos. **Anais...** São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba, 2013, p. 1-5.

PEREIRA, C. A. M.; MAIA, J. F. Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum L.*). **Food Science and Technology**, v. 27, n. 3, p. 624-632, 2007.

PRABUSEENIVASAN, S. et al. *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 6, n. 1, p. 39, 2006.

PRECOTT J. F.; DESMOND B. Antimicrobial drug resistance and its epidemiology. In: _____. **Antimicrobial therapy in veterinary medicine**, 5. ed. Boston: Blackwell Scientific Publication, 2013, p. 17-28.

PUIG, L. et al. Characterization of the species *Malassezia pachydermatis* and re-evaluation of its lipid dependence using a synthetic agar medium. **PLoS ONE**, v. 12, n. 6, p. 1-12, 2017.

QUINN, P. J. et al. **Veterinary microbiology and microbial disease**. New York: John Wiley & Sons, 2011.

RHODES, K. H.; WERNER, A. H. **Blackwell's five-minute veterinary consult clinical companion: small animal dermatology**. New York: John Wiley & Sons, 2018.

ROILIDES, E.; IOSIFIDIS, E. Acquired resistance in fungi: how large is the problem? **Clinical Microbiology and Infection**, v. 25, n. 7, p. 790-791, 2019.

ROMERO, H. et al. *In vitro* antiproliferative effect of ajoene on *Microsporum canis*. **Journal of Medical Mycology**, v. 10, n. 3, p. 152-155, 2000.

SAN-BLAS, G. et al. Inhibition of growth of the dimorphic fungus *Paracoccidioides brasiliensis* by ajoene. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 33, n. 9, p. 1641-1644, 1989.

SÁNCHEZ-MIRT, A.; GIL, F.; APITZ-CASTRO, R. Actividad *in vitro* e *in vivo* del ajoeno sobre *Coccidioidis immitis*. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 11, p. 99-104, 1994.

- SANTOS, F. R.; BRAZ-FILHO, R.; CASTRO, R. N. Influência da idade das folhas de *Eugenia uniflora* L. na composição química do óleo essencial. **Química Nova**, v. 38, n. 6, p. 762-768, 2015.
- SANTOS, K. K. A. et al. Enhancement of the antifungal activity of antimicrobial drugs by *Eugenia uniflora* L. **Journal of Medicinal Food**, v. 16, n. 7, p. 669-671, 2013.
- SANTOS, S. C. et al. Antifungal activity of *Eugenia uniflora* L. fractions against *Paracoccidioides brasiliensis* (Splendore) Almeida. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 7, n. 1, p. 30-33, 2005.
- SELITRENNIKOFF, C. P. Antifungal proteins. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 7, p. 2883-2894, 2001.
- SHAMS-GHAHFAROKHI, M. et al. *In vitro* antifungal activities of *Allium cepa*, *Allium sativum* and ketoconazole against some pathogenic yeasts and dermatophytes. **Fitoterapia**, v. 77, n. 4, p. 321-323, 2006.
- SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- SINGH, T. N.; ZAMZACHIN, G.; SINGH, N. B. Recognition of dermatophytes by dermatophyte test medium. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 5, n. 10, p. 1125-1129, 2016.
- SOUZA, E. L. et al. Inhibitory action of some essential oils and phytochemicals on the growth of various moulds isolated from foods. **Brazilian archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 2, p. 245-250, 2005.
- SOUZA, L. K. H. et al. Antifungal properties of Brazilian cerrado plants. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 33, n. 3, p. 247-249, 2002.
- STEIN, A. C. et al. Ethnoveterinary medicine in the search of antimicrobial agents: antifungal activity of some species of *Pterocaulon* (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, p. 212-213, 2005.
- STEIN, D. **A cura natural para cães e gatos**. São Paulo: Ground. 1998.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.
- VAZQUEZ, J. A. Anidulafungin: a new echinocandin with a novel profile. **Clinical Therapeutics**, v. 27, n. 6, p. 657-673, 2005.
- VELEGRAKI, A. et al. *Malassezia* infections in humans and animals: pathophysiology, detection, and treatment. **Pathogens**, v. 11, n. 1, p. 1-6, 2015.
- VERPOORTE, R.; MARASCHI, M. Engenharia do metabolismo de plantas medicinais. In: YUNES R. A., CALIXTO J. B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**, Chapecó: Argos. 2001. p. 381-432.

- VIVAS, J. et al. *In vitro* antiproliferative effect of Ajoene on *Cryptococcus neoformans*. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 12, n. 3, p. 149-151, 2002.
- VOLLEKOVÁ, A. et al. Antifungal activity of *Mahonia aquifolium* extract and its major protoberberine alkaloids. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 7, p. 834-837, 2003.
- VOLLEKOVÁ, A. et al. Isoquinoline alkaloids from *Mahonia aquifolium* stem bark are active against *Malassezia* spp. **Folia Microbiologica**, v. 46, n. 2, p. 107, 2001.
- WALSH, T. J. et al. Caspofungin versus liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with persistent fever and neutropenia. **New England Journal of Medicine**, v. 351, n. 14, p. 1391-1402, 2004.
- WIEDERHOLD, N. P.; LEWIS, R. E. The echinocandin antifungals: an overview of the pharmacology, spectrum and clinical efficacy. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 12, n. 8, p. 1313-1333, 2003.
- WOLFGANG, K., MUNKERT, J.; PÁDUA R. M. Biossíntese de metabólitos primários e secundários. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2016.
- YAMADA, Y.; AZUMA, K. Evaluation of the *in vitro* antifungal activity of allicin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 11, n. 4, p. 743-749, 1977.
- YOSHIDA, S. et al. Antifungal activity of ajoene derived from garlic. **Applied and environmental microbiology**, v. 53, n. 3, p. 615-617, 1987.



Capítulo

15

Tratamento da endometrite fúngica em éguas

Priscila de Oliveira Lorenzoni ¹

Poliana Aparecida Rodrigues Gazolla ²

Délia Chaves Moreira dos Santos ³

Róbson Ricardo Teixeira ⁴

Adilson Vidal Costa ⁵

Vagner Tebaldi de Queiroz ⁶

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

² Universidade Federal de Viçosa, e-mail: poliana.gazolla@ufv.br

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: deliachavesmoreira@gmail.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 reprodução equina no Brasil é de grande importância devido a dinâmica da equinocultura nos últimos anos. Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2016), a renda gerada no complexo do agronegócio do cavalo no Brasil totalizou R\$ 16,15 bilhões em abril de 2015 e apresenta indicativo de crescimento nos anos seguintes. Isso ocorre devido ao aumento da aquisição de cavalos pelo público rural e urbano, seja no esporte ou para lazer (MAPA, 2016).

A procura por animais puros de raça ao longo das décadas, levou os criadores a investirem em técnicas para aumentar o índice reprodutivo desses animais (inseminação artificial e transferência de embriões) e garantir maior taxa de prenhez. Para tal, torna-se fundamental a manutenção da saúde reprodutiva desses animais. Por outro lado, algumas enfermidades podem comprometer a fertilidade em éguas (SIEME et al., 2018).

A endometrite é a causa mais comum de infertilidade e subfertilidade em éguas. Dentre os tipos de endometrites, é notável a dificuldade de tratamento da endometrite causada por fungos, devido a crescente resistência dos microrganismos frente aos antifúngicos utilizados na rotina clínica destes animais. Estudos apontam maior resistência dos fungos frente aos compostos antifúngicos azólicos, e maior sensibilidade e potencial terapêutico frente aos compostos polienos (BELTAIRE; CHEONG; COUTINHO DA SILVA, 2012). No entanto, os compostos azólicos causam menos efeitos colaterais quando comparados aos polienos, que possuem alto potencial nefrotóxico (CAMPOY; ADRIO, 2017). Este cenário aponta para uma necessidade em se desenvolver novas terapias medicamentosas que sejam efetivas no tratamento da endometrite micótica e que causem menos efeitos colaterais.

O objetivo deste capítulo é fornecer informações a respeito da endometrite fúngica em éguas, sobretudo, as causas da doença, as formas de diagnóstico bem como as terapias medicamentosas utilizadas e novas perspectivas para o tratamento da doença.

2 ENDOMETRITE FÚNGICA EM ÉGUAS

2.2 ETIOLOGIA

As endometrites são alterações inflamatórias agudas ou crônicas do endométrio uterino, as quais podem, ou não, estar associadas à presença de patógenos. Nos equinos, os

espermatozoides são depositados no interior do útero, incluindo outros componentes do sêmen. A endometrite pós inseminação é um processo inflamatório fisiológico nestes animais, o propósito deste mecanismo é limpar o útero de excedentes de espermatozoides e de outros agentes contaminantes (LEBLANC et al., 2010).

Após a ovulação, quando a cérvix encontra-se fechada, o sistema linfático tem a função de drenagem dos subprodutos do processo inflamatório gerado pela inseminação, no entanto, para que este mecanismo seja eficaz, é necessário que se tenha uma boa contratilidade endometrial. A duração da inflamação uterina após o quinto dia pós fertilização leva à liberação de prostaglandinas responsáveis pela desintegração do corpo lúteo, com conseqüente diminuição da progesterona e morte embrionária (TROEDSSON, 1999).

Quando a inflamação pós coito ou inseminação artificial é persistente, a endometrite é classificada como persistente pós-cobertura. Neste caso, os animais raramente são mantidos na reprodução, por não se fazerem aptos a manter uma gestação e por serem suscetíveis a desenvolver outros tipos de endometrites (MCCUE, 2008).

A endometrite pode ser classificada segundo o agente etiológico em bacterianas, sexualmente transmissíveis ou fúngicas. Sendo que estas também podem ocorrer simultaneamente (TROEDSSON, 1999). As endometrites em éguas, causadas por fungos, correspondem entre 1 a 5% das endometrites (DASCANIO; LEY; SCHWEIZER, 2000). Porém, estudos mais recentes efetuados no Brasil revelam taxas entre 5,9% e 13,5% (BERNADINO et al., 2007; RIBAS; CARVALHO; STUSSI, 2014) . Estes números podem estar relacionados ao fato de as doenças micóticas serem mais comuns em regiões tropicais, devido ao clima propenso ao desenvolvimento de fungos (CARRIS; LITTLE; STILES, 2012).

De caráter oportunista, a colonização uterina por fungos pode estar associada a um ou mais defeitos nas barreiras de proteção uterina. O uso prolongado e/ou equivocado de antibióticos, afeta a microflora vaginal e predispõe ao desenvolvimento de fungos. Outros fatores predisponentes estão ligados a defeitos anatômicos do aparelho reprodutor caudal, deficiências fisiológicas no mecanismo de imunidade uterina ou ainda fatores hormonais (LEBLANC, 2008).

Dentre os fungos já descritos como causadores da endometrite destacam-se a *Candida guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis*, *C. albicans*, *C. galbrata*, *Mucor* spp., *Penicillium*, *Aspergillus fumigatus*. As infecções mais frequentes são causadas por *Candida* spp. e, em segundo, lugar as endometrites causadas por *Aspergillus* spp. (RIBAS; CARVALHO; STUSSI, 2014).

As infecções causadas por fungos leveduriformes geram infecções mais superficiais, já as infecções causadas por fungos filamentosos tendem a causar infecções mais profundas. No entanto, as candidíases uterinas mostram maior capacidade de formar biofilmes (ALVARENGA, 2008). Os biofilmes são compostos por material polimérico entrelaçado às estruturas fúngicas, adquirindo grande capacidade mucoadesiva no endométrio e tornando a ação de medicamentos antifúngicos dificultada (RAMAGE et al., 2001).

2.4 DIAGNÓSTICO

As éguas com endometrite micótica, geralmente, apresentam histórico clínico de infertilidade, não emprenhando a uma ou mais estações de monta. Estas podem apresentar corrimento vaginal esbranquiçado e mostrar aumento de líquido intrauterino com floculações ao exame de palpação retal, ultrassonografia e/ou lavado uterino. Deve-se observar se existem alterações na conformação perineal e outras barreiras físicas uterina. Os métodos de diagnóstico definitivo mais utilizados são a cultura microbiológica, citologia e biópsia uterina (MCAULIFFE, 2013).

A cultura fúngica é o método ideal para identificação dos patógenos, porém, apresenta pouca viabilidade na rotina clínica, uma vez que as culturas fúngicas necessitam de meios especializados, condições adequadas e demoram cerca de 30 dias ou mais para o crescimento das colônias. Em ágar dextrose Sabouraud, *Candida* spp. tipicamente apresentará colônias brancas e de aspecto liso; *Aspergillus* spp. apresentará colônias azul-verde/cinza-verde com bordas brancas e textura semelhante a veludo (SCOTT, 2018).

Por outro lado, a citologia uterina é um método mais rápido, menos oneroso, permite a visualização dos patógenos e possibilita a visualização de células inflamatórias como neutrófilos, hemácias e linfócitos. Utilizando a citologia uterina são geradas informações mais concisas da gravidade da doença (COUTO; HUGHES, 1984; ROSZEL; FREEMAN, 1988).

Para coleta de material com escova de citologia uterina, esta deve ser acoplada à pinça de citologia que deve ser introduzida no lúmen de forma asséptica, entrando em contato com a mucosa apenas ao atravessar a cérvix da égua. Dentro do útero deve-se realizar a coleta na parede uterina (JORGE; ORLANDI; SANTANA, 2017).

O lavado de baixo volume é uma opção para realizar a coleta para citologia uterina, não sendo restrito a apenas um local como quando se realiza a coleta com pinça. Este deve ser realizado em sistema fechado e garante exame global do ambiente uterino. Porém, a técnica

de lavado uterino demanda maior tempo, pois o material coletado necessita de passar por centrifugação antes de ser realizado o imprint na lâmina de citologia (COCCHIA et al., 2012; LEBLANC; MAGSIG; STROMBERG, 2007).

Nas infecções por *C. albicans* verifica-se a presença de leveduras e menos comum a forma filamentosa, já nas aspergiloses observa-se a forma filamentosa. É importante fazer o rastreamento minucioso das amostras, pois os elementos fúngicos podem ser raros (ALVARENGA, 2008). As inflamações causadas por fungos costumam ser crônicas, apresentando mais macrófagos e linfócitos do que as endometrites agudas (COUTO; HUGHES, 1984).

A biópsia uterina é um método confiável, todavia, possui custo elevado, relativamente invasivo e não apresenta diferença significativa de diagnóstico quando comparado a técnica com escova de citologia uterina. É recomendado realizar a técnica de escova citológica associada a cultura microbiológica para se obter um diagnóstico completo da doença (BUCZKOWSKA et al., 2014).

3 TRATAMENTO DA ENDOMETRITE FÚNGICA NA ÉGUA

O tratamento das éguas com endometrite micótica é realizado através da associação de terapias, que irá depender diretamente da causa e gravidade da doença. Inclui correção de defeitos anatômicos de vulva ou períneo, lavagem uterina e/ou infusão intrauterina de antifúngicos, além da terapia sistêmica que geralmente acompanha o tratamento local (MCAULIFFE, 2013).

Casos crônicos ou recorrentes requerem tratamento multifacetado e duradouro, devendo-se atentar para o tratamento das desordens anatômicas, como pneumovagina e lacerações perineais, recomendando-se a vulvoplastia de Caslick. O tratamento tópico, adicional, da vagina e fossa clitoriana é prudente, pois estes podem atuar como reservatório de microrganismos (DASCANIO; LEY; SCHWEIZER, 2000).

As Lavagens uterinas são efetuadas para garantir a limpeza do endométrio uterino, auxiliando na remoção de muco, colônias fúngicas e biofilmes. São eficazes na remoção mecânica do conteúdo uterino, recomenda-se pelo menos 4 lavagens por 3 dias consecutivos quando usar apenas solução salina estéril (MATTOS et al., 1997). Para auxiliar na drenagem de fluido uterino pode-se estimular a contração uterina utilizando ocitocina via intramuscular ou via endovenosa (FERRIS, 2017)

Algumas substâncias não específicas, são utilizadas para a lavagem uterina como solução de N-acetilcisteína, DMSO, peróxido de hidrogênio, Tris-EDTA e ácido acético (vinagre) em combinação com 0,9% solução salina estéril ou Ringer Lactato (FERRIS, 2017; LIU; TROEDSSON, 2008) . Já foi comprovado que o vinagre não causa alteração significativa do pH intraluminal uterino, mostrando seguridade para o seu uso quanto a alteração de pH (THOMPSON et al., 2018). Iodopolvidona foi recomendada por alguns pesquisadores, porém, devido aos riscos associados de fibrose e formação de aderências no endométrio, é preferível utilizar outros métodos (SCOTT, 2018).

A estrutura da membrana dos fungos contém polissacarídeos e lipídeos, tendo como principal esterol da camada de membrana o ergosterol, além de apresentarem a membrana plasmática circundada por uma parede celular formada por quintina (CAMPOY; ADRIO, 2017).

As classes de medicamentos antifúngicos mais utilizadas na rotina clínica em equinos são os compostos azólicos e os polienos (FERRIS, 2017), ambos atuam na membrana plasmática dos fungos. Enquanto os azóis atuam alterando a síntese do ergosterol, os polienos ligam-se diretamente ao ergosterol, desestabilizando a membrana. Acredita-se que o mecanismo de ação destes fármacos explica a crescente resistência aos compostos azólicos, uma vez que os fungos conseguem desenvolver novas formas de sintetizar o ergosterol. A dificuldade em se administrar os polienos via sistêmica no tratamento é a alta hepato e nefrotoxicidade que esses medicamentos causam, quando comparados aos compostos azóis (CAMPOY; ADRIO, 2017).

As doses e terapias antifúngicas em equinos são realizadas com base em cálculos alométricos ao uso em humanos. A administração oral de fluconazol demonstrou alcançar boas concentrações endometriais para o tratamento de *C. albicans* em éguas (DASCANIO; LEY; SCHWEIZER, 2000), sendo recomendada dose de ataque de 14mg/kg via oral no primeiro dia, seguido de administração de 5mg/kg a cada 24 horas durante 2 a 3 semanas. O Itraconazol também pode ser administrado na dose de 3-5mg/kg via oral a cada 24 horas durante 2 a 3 semanas (FERRIS, 2017).

O tratamento sistêmico deve ser realizado de acordo com a sensibilidade do microrganismo ao fármaco e a fim de combater formas sistêmicas ou invasivas no endométrio que não são alcançadas pela terapia local. Devido ao uso difundido do fluconazol, a resistência ao medicamento é uma realidade, não se recomenda seu uso para o tratamento da endometrite fúngica causada por fungos com hifas septadas, como *Aspergillus* spp. (BELTAIRE; CHEONG; COUTINHO DA SILVA, 2012).

As infusões uterinas com medicamentos antifúngicos (Tabela 1) podem ser efetivas no tratamento da endometrite equina, porém podem ocorrer recidivas quando não acompanhadas de tratamento sistêmico ou quando não realizada a correção de eventual defeito no aparelho reprodutor externo. A infusão com nistatina durante 5 dias consecutivos mostra-se eficiente no tratamento de candidíases uterinas (MARTIN; SHULL; BOWEN, 1986). Beltaire, Cheong e Coutinho da Silva (2012) mostraram que compostos polienos: anfotericina B, natamicina e nistatina foram eficientes no combate de fungos isolados do endométrio de éguas *in vitro*.

Tabela 1 – Medicamentos antifúngicos utilizados na terapia intrauterina, recomenda-se uma infusão por dia durante 3 a 5 dias consecutivos durante o estro.

Antifúngico	Terapia intrauterina
Anfotericina B	100-200mg reconstituídos em 50mL de solução salina estéril
Clotrimazol	500-700mg reconstituídos em 50mL de solução salina estéril
Fluconazol	100-250 mg em 50 mL de água estéril; para reconstituir, adicionar 5 mL de DMSO a 1 grama (5 comprimidos) de fluconazol para dissolver
Miconazol	Inserir 1200mg no útero
Nistatina 100.000ui/mL	5g reconstituídos em 50mL de água estéril
Outro	
Lufenuron (Program®)	540mg suspenso em 50mL de solução salina estéril

Fonte: Ferris (2017).

Nota: Adaptado pelo autor.

O lufenuron, é um medicamento comumente usado no controle de carrapatos por interferir na biossíntese de quitina presente em grande quantidade nesses ectoparasitas e também apresentou sucesso no tratamento intrauterino em quatro éguas com endometrite fúngica, provavelmente por atuar na parede celular dos fungos (HESS et al., 2006). Porém, quando realizado estudo de atividade *in vitro*, o lufenuron não apresentou evidência de inibição fúngica sob condições experimentais (HECTOR; DAVIDSON; JOHNSON, 2005).

3.1 RESISTÊNCIA AOS MEDICAMENTOS ANTIFÚNGICOS

Com o propósito de determinar a eficiência das terapias no tratamento da endometrite fúngica em éguas, em 102 isolados fúngicos, obtidos de 92 amostras uterinas retiradas de éguas, determinaram suscetibilidade *in vitro* aos antifúngicos frequentemente utilizados. Os fungos leveduriformes foram 100% sensíveis a polienos, entretanto a sensibilidade aos azóis foi variável: cetoconazol (90%), fluconazol (61%) e miconazol (48%). A suscetibilidade dos fungos filamentosos aos compostos polienos variou de 69 a 100%, todavia, a suscetibilidade aos compostos azólicos foi menor quando comparados aos isolados de levedura, com 54% dos fungos filamentosos apresentando resistência ou baixa sensibilidade ao itraconazol e 100% de resistência ao fluconazol (BELTAIRE; CHEONG; COUTINHO DA SILVA, 2012).

Os mecanismos de resistência dos fungos estão relacionados às mutações gênicas, alteração da composição da membrana celular, ação de enzimas oxidativas, a formação de bombas de efluxo e a capacidade de formar biofilmes (VIEIRA; SANTOS, 2017). Um estudo de suscetibilidade de *C. albicans* a antifúngicos antes e após a formação de biofilmes revelou que a atividade do fluconazol foi reduzida em 250 vezes, quando comparada a ação em colônia sem formação de biofilmes (RAMAGE et al., 2001).

A ubiquidade do uso de compostos azólicos tanto em seres vivos como em plantas para consumo, pode estar atrelada a disseminação da resistência dos agentes fúngicos. A pesquisa realizada por Fisher et al. (2018) coletou registros espaço-temporais, relatando a ocorrência de casos de resistência de fungos aos compostos azólicos em humanos e plantas até o ano de 2017, na qual observou-se crescimento amplamente significativo da resistência medicamentosa. Apesar do estudo ter se baseado em plantas e animais, na lista de fungos estavam as espécies *A. fumigatus*, *C. albicans*, *C. auris*, *C. glabrata*.

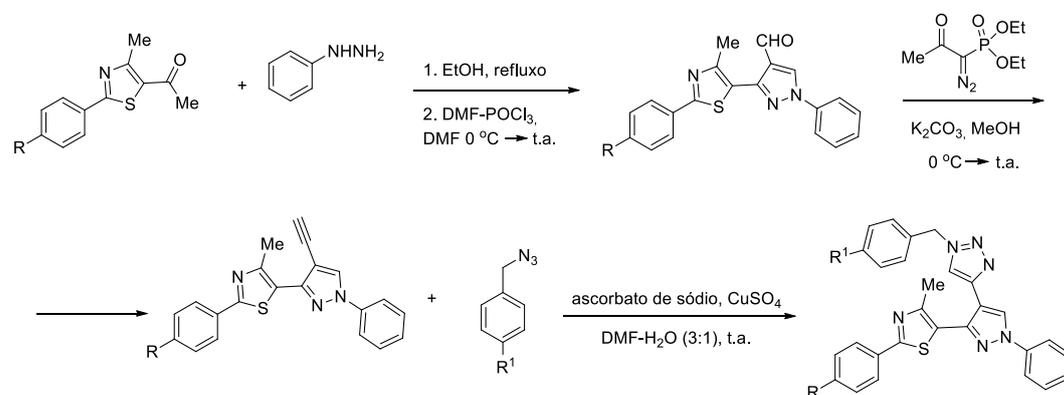
4 NOVAS PERSPECTIVAS PARA O TRATAMENTO DA ENDOMETRITE FÚNGICA EQUINA

4.1 NOVOS 1,2,3-TRIAZÓIS

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 fungicida.

Nalawade e colaboradores (2019) sintetizaram derivados tiazolil-pirazolil-1,2,3-triazólicos empregando a sequência sintética mostrada no Esquema 1.



	R	R ¹	Comp.	R	R ¹	Comp.	R	R ¹	Comp.	R	R ¹	Comp.	R	R ¹
1	H	H	6	Me	H	11	F	H	16	Cl	H	21	Br	H
2	H	Me	7	Me	Me	12	F	Me	17	Cl	Me	22	Br	Me
3	H	F	8	Me	F	13	F	F	18	Cl	F	23	Br	F
4	H	Cl	9	Me	Cl	14	F	Cl	19	Cl	Cl	24	Br	Cl
5	H	Br	10	Me	Br	15	F	Br	20	Cl	Br	25	Br	Br

Esquema 1 – Rota sintética utilizada para a síntese dos compostos triazólicos (1-25).

Comp. = composto

Fonte: Nalawade e colaboradores (2019)

A atividade antifúngica dos derivados triazólicos foi avaliada contra as espécies *Candida albicans*, *Aspergillus niger* e *Rhodotorula glutinis*. Os resultados da avaliação da atividade com relação ao método de difusão em ágar e com relação à concentração mínima inibitória (MIC) são apresentados, respectivamente, nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2. Atividade antifúngica dos compostos 1-25 conforme determinado pelo método de difusão. Os fungos foram desafiados contra as substâncias avaliadas em meio de cultura sólido e relaciona o tamanho da zona de inibição de crescimento do microrganismo desafiado com a concentração da substância ensaiada. A inibição dos compostos triazólicos é apresentada em (mm) (continua).

Composto	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>	<i>R. glutinis</i>
1	n.a	n.a	n.a
2	11,8	14,0	19,5
3	15,8	16,4	14,6
4	11,5	13,6	19,0
5	16,4	14,0	17,5
6	15,8	-	18,4

Tabela 2. Atividade antifúngica dos compostos **1-25** conforme determinado pelo método de difusão. Os fungos foram desafiados contra as substâncias avaliadas em meio de cultura sólido e relaciona o tamanho da zona de inibição de crescimento do microrganismo desafiado com a concentração da substância ensaiada. A inibição dos compostos triazólicos é apresentada em (mm) (conclusão).

Composto	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>	<i>R. glutinis</i>
1	n.a	n.a	n.a
2	11,8	14,0	19,5
3	15,8	16,4	14,6
4	11,5	13,6	19,0
5	16,4	14,0	17,5
6	15,8	-	18,4
7	13,0	-	22,3
8	12,5	16,3	16,2
9	10,0	16,0	19,0
10	14,0	14,4	18,8
11	16,2	15,8	16,0
12	12,2	13,0	16,2
13	12,8	11,0	13,3
14	10,4	13,5	14,5
15	14,4	16,8	16,5
16	15,2	12,3	15,2
17	13,8	11,4	11,4
18	13,8	12,5	20,0
19	11,3	12,3	14,0
20	17,6	12,0	18,8
21	14,6	13,4	16,2
22	14,6	12,4	13,3
23	12,0	17,0	11,7
24	14,8	13,5	14,8
25	15,0	-	-
Estreptomicina	-	-	-
Fluconazol	20,25	18,35	25,30
Ravuconazol	28,64	20,18	20,15

n.a. = não se aplica; (-) = inativo;

Concentração utilizada para avaliar os compostos = 1000 µg/mL

Fonte: Nalawade e colaboradores (2019)

Tabela 3. Valores da concentração mínima inibitória (MIC) para os compostos triazólicos 1-25.

Composto	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>	<i>R. glutinis</i>
1	n.a	n.a	n.a
2	-	31,25	-
3	125	125	125
4	-	31,25	62,5
5	125	62,5	62,5
6	125	62,5	125
7	62,5	31,25	125
8	-	62,5	125
9	-	31,25	62,5
10	125	31,25	62,5
11	125	31,25	62,5
12	-	31,25	62,5
13	125	31,25	62,5
14	-	31,25	125
15	125	125	62,5
16	500	31,25	125
17	250	125	125
18	250	62,5	125
19	-	125	62,5
20	250	62,5	62,5
21	125	62,5	62,5
22	-	31,25	125
23	125	62,5	62,5
24	125	62,5	125
25	-	-	-
Fluconazol	7,81	7,81	7,81
Ravuconazol	7,81	31,25	15,625

n.a. = não se aplica

Fonte: Nalawade e colaboradores (2019)

Dentre os compostos avaliados, os tiazolil-pirazolil-1,2,3-triazólicos **2**, **4**, **7**, **9**, **10**, **11**, **12**, **13**, **14**, **16** e **22** exibiram as maiores atividades antifúngicas contra *Aspergillus niger* com valores de MIC igual a 31,25 µg/mL. Sendo assim, estes compostos apresentaram atividade equivalente ao controle positivo Ravuconazol. Cabe ressaltar que foi ainda realizado o ensaio de avaliação da atividade de inibição da síntese de ergosterol contra *Aspergillus niger* para os compostos **7**, **9**, **11**, **12** e **13** utilizando concentração igual de 31,25 µg/mL. Observou-se uma diminuição da biossíntese do ergosterol em fungos tratados com os compostos triazólicos. Os resultados encontrados mostram a potencialidade destes compostos para serem utilizados como agentes antifúngicos.

Inspirados na relação estrutura-atividade já estabelecida para o fármaco cetoconazol (**26**), Miniyar e colaboradores (2017), avaliaram a atividade antifúngica de uma série de derivados triazólicos (**27-36**) sintetizados a partir do glicerol e da 2,4-cloroacetofenona (Figura 1).

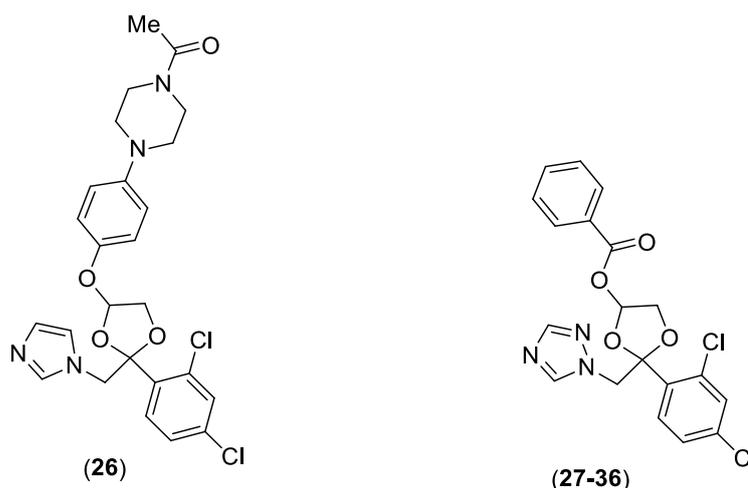


Figura 1: Estrutura do cetoconazol e do agente antifúngico alvo.
Fonte: Miniyar e colaboradores (2017)

Um total de dez compostos triazólicos foram submetidos a testes *in vitro* contra *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* e *Penicillium notatum*. Os resultados no que diz respeito à zona de inibição e concentração mínima inibitória (MIC) estão apresentados nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4. Zona de inibição (mm) dos compostos triazólicos **27-36** avaliados nas concentrações de 100 e 50 µg/mL contra *Aspergillus niger*, *Penicillium notatu*, *Aspergillus fumigatus* e *Candida albicans*

Composto	<i>Aspergillus niger</i>		<i>Penicillium notatu</i>		<i>Aspergillus fumigatus</i>		<i>Candida albicans</i>	
	100	50	100	50	100	50	100	50
27	5	3	4	3	6	4	7	4
28	8	6	5	3	7	5	6	4
29	10	8	9	7	9	5	8	6
30	17	12	24	18	14	10	25	19
31	9	7	6	5	10	8	9	7
32	9	6	8	5	11	8	10	7
33	7	4	6	3	7	6	8	6
34	6	4	6	5	6	3	7	6
35	5	4	6	4	7	5	7	5
36	7	4	9	7	10	8	8	6
Cetoconazol	10	7	18	14	18	12	20	15

Fonte: Miniyar e colaboradores (2017)

A avaliação destes compostos triazólicos revelou atividade antifúngica promissora para os derivados **28, 29, 30, 31, 32** e **36**, que apresentaram valores de MIC entre 6,5 e 25 µg/mL. O composto **29** (MIC = 12,5 µg/ml) se mostrou igualmente ativo contra todas as espécies de fungos quando comparado ao fármaco cetoconazol (controle positivo), enquanto o composto **30** se destacou por apresentar atividade superior com MIC igual a 6,5 µg/mL. Deste modo, sugere-se que estas substâncias sejam candidatas para o desenvolvimento de antifúngicos ainda mais eficientes, apresentando maior atividade e menor resistência.

 Tabela 5. Concentração inibitória mínima (MIC) para os compostos **27-36** (continua).

Composto	MIC (µg/mL)			
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium notatu</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Candida albicans</i>
27	>50	>50	>50	>50
28	25	>50	25	25
29	12,5	12,5	12,5	12,5
30	6,5	6,5	6,5	6,5
31	25	25	25	25

Tabela 5. Concentração inibitória mínima (MIC) para os compostos **27-36** (conclusão).

Composto	MIC (µg/mL)			
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium notatu</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Candida albicans</i>
32	25	25	25	25
33	>50	>50	>50	>50
34	>50	>50	>50	>50
35	>50	>50	>50	>50
36	25	12.5	12.5	25
Cetoconazol	12.5	12.5	12.5	12.5

Fonte: Miniyar e colaboradores (2017)

4.2 SISTEMAS NANOPARTICULADOS PARA ENTREGA DE ANTIFÚNGICOS

Atualmente, muitos dos agentes antifúngicos têm limitações relacionadas ao seu espectro de atividade, propriedades físico-químicas, biofarmacêuticas, farmacocinética e propriedades farmacodinâmicas. São fármacos com características hidrofóbicas, normalmente, as quais comprometem sua solubilidade em água, propiciando baixa biodisponibilidade oral e limitações no desenvolvimento de formulações (LEWIS, 2011). Dos antifúngicos comumente utilizados para o tratamento da endometrite micótica, a anfotericina B (AmB), o clotrimazol e o miconazol são hidrofóbicos e apresentam baixa solubilidade em água (BELTAIRE; CHEONG; COUTINHO DA SILVA, 2012).

Toxicidade e interações medicamentosas são outros obstáculos que limitam a utilização dos agentes antifúngicos (ASHLEY et al., 2006; BELTAIRE; CHEONG; COUTINHO DA SILVA, 2012). A AmB é um exemplo de fármaco que pode propiciar ação hemolítica e nefrotoxicidade dose-limitadas, as quais podem ser extremas em alguns casos e podem determinar, muitas vezes, a interrupção do tratamento (JAIN et al., 2012).

Sistemas de distribuição de fármacos racionalmente desenvolvidos têm a capacidade de melhorar o desempenho do medicamento e superar muitas dessas limitações. Essas novas formulações inspiraram a utilização de vários novos sistemas de entrega para melhorar o perfil de segurança dos agentes antifúngicos. Dentre esses novos sistemas, atualmente sob investigação, as nanopartículas (NPs) surgiram como uma alternativa inovadora e promissora

capaz de minimizar efeitos indesejáveis dos medicamentos, com o objetivo de manter ou aumentar sua eficácia (ZAZO; COLINO; LANAO, 2016; ZHANG et al., 2010).

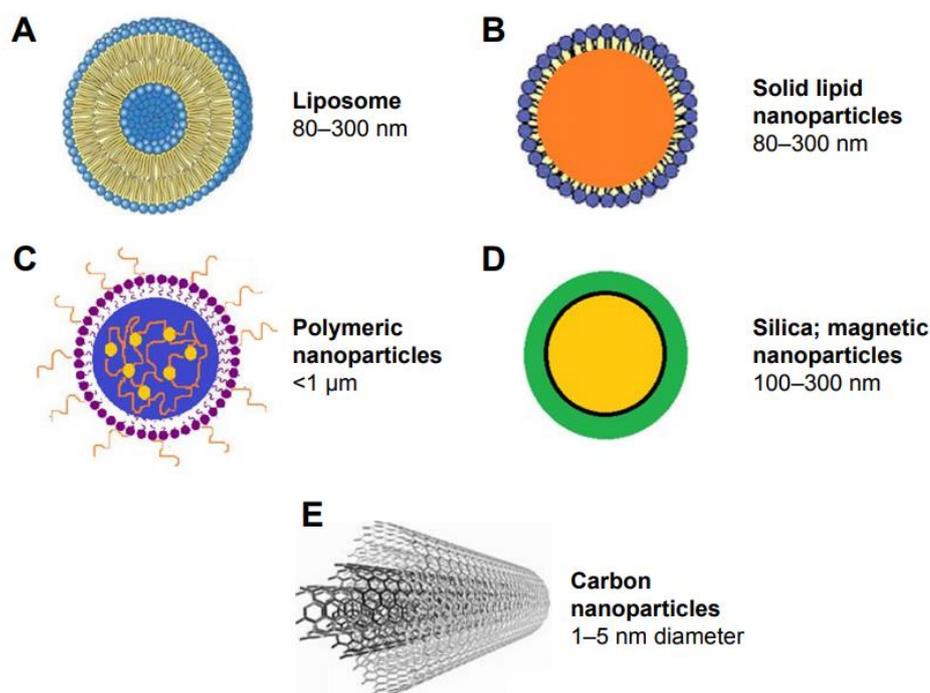


Figura 2: Sistemas de entrega de fármacos nanoestruturados
Fonte: Voltan et al. (2016).

A nanotecnologia é definida como a área de pesquisa que estuda sistemas no tamanho de intervalo nanométrico, ou seja, de 1-1000 nm (KUMAR; RANDHAWA, 2013). As NPs usadas para entrega de fármacos são geralmente chamadas de nanocarreadores, os quais podem aumentar a atividade farmacológica, diminuir a toxicidade e permitir a administração *in vivo* de fármacos encapsulados. Outras características atrativas das NPs incluem liberação sustentada de fármacos, redução dos seus efeitos adversos, prolongamento do seu tempo de permanência no sangue, maior eficácia e estabilidade do fármaco, visando o tecido infectado (CHANG et al., 2015; WICKI et al., 2015). Além disso, as NPs podem aumentar a penetração da droga através da pele e assim, ajudar a erradicar infecções fúngicas profundas (MBAH; BUILDERS; ATTAMA, 2014).

Existem muitos tipos de materiais que podem ser usados para produzir NPs para entrega de fármacos antifúngicos. De acordo com a sua composição, as NPs podem ser amplamente classificadas em lipossomas, nanopartículas lipídicas sólidas (SLN), NPs poliméricas, sílica e NPs magnéticas, NPs de carbono, nanoemulsões (NE), dentre outras

(Figura 2) (SOLIMAN, 2017; VOLTAN et al., 2016). Entretanto, ainda não houve relatos da sua utilização no tratamento da endometrite uterina fúngica em éguas.

Os lipossomas foram as primeiras NPs contendo fosfolípidos a serem usadas na entrega de medicamentos, no início dos anos 80. São sistemas caracterizados por apresentarem uma bicamada lipídica, contendo uma ou mais membranas fosfolipídicas concêntricas, contendo um núcleo aquoso. Esta estrutura permite que os lipossomas atuem como sistemas de distribuição eficazes para fármacos hidrofílicos e hidrofóbicos (IMMORDINO; DOSIO; CATTEL, 2006; SOLIMAN, 2017; VOLTAN et al., 2016).

O Ambisome[®] é um sistema lipídico lipossomal contendo AmB, considerado como formulação lipídica comercial que obteve maior sucesso dentre os fármacos antifúngicos. Esse sistema é capaz de interagir fortemente com as moléculas de AmB ancorando-a fortemente na bicamada lipídica devido a interações favoráveis com os lípidos. Essa forte associação é responsável pela liberação lenta da AmB para a corrente sanguínea, modificando sua biodistribuição. Isto possibilita a redução da sua captação por células renais e, conseqüentemente, ocorre diminuição da nefrotoxicidade (IMAN et al., 2011; ROMERO; MORILLA, 2008; VYAS; GUPTA, 2006). É importante destacar que a AmB é o único medicamento antifúngico comercializado em nanoformulações (WEISSIG; GUZMAN-VILLANUEVA, 2015).

Formulações lipossomais de antifúngicos triazólicos ainda estão sob investigação e não disponíveis comercialmente. Vale destacar os lipossomas de fluconazol. Entretanto, estas formulações foram testadas apenas em coelhos através da via ocular, demonstrando taxas de cura superiores que a formulação convencional para doenças fúngicas oculares (HABIB et al., 2010; VELPANDIAN et al., 2006).

As SLN são formadas por gotículas lipídicas dispersas em uma fase aquosa estabilizada por uma camada de surfactante e apresenta os mesmos constituintes de uma NE, diferindo quanto aos lípidos que constituem as gotículas, que são líquidos. No caso da SLN, os lípidos são sólidos à temperatura ambiente (ex. ceras, glicerídeos e ácidos graxos). Os lípidos sólidos geram liberação controlada do fármaco encapsulado, além de oferecer uma maior proteção dos fármacos contra a degradação, levando a uma melhor estabilidade (BUNJES, 2010; KUMAR; RANDHAWA, 2013; MULLER; SHEGOKAR; KECK, 2011).

Existe ainda outro tipo de sistema, no qual as gotículas são compostas tanto por lípidos sólidos quanto por líquidos, denominado por carreadores lipídicos nanoestruturados (NLC) (MULLER; RADTKE; WISSING, 2002). Algumas formulações de antifúngicos triazólicos vêm sendo investigadas tanto *in vitro*, quanto *in vivo*, destacando-se as SLNs e NLCs de

itraconazol (ITZ) (LIM et al., 2014; MIRZA et al., 2016; PARDEIKE et al., 2016) e de fluconazol (GUPTA; VYAS, 2012). Embora vários destes produtos já estejam disponíveis no mercado de cosméticos, nenhuma das formulações de antifúngicos azólicos foi testada clinicamente em éguas com endometrite fúngica.

As NE têm sido utilizadas há anos para a nutrição parenteral e como carreadora de fármacos devido à sua biocompatibilidade, capacidade de solubilizar altas quantidades de compostos hidrofóbicos, capacidade para reduzir a toxicidade de fármacos citotóxicos e de protegê-los a partir da hidrólise e degradação enzimática em condições fisiológicas (ARAÚJO et al., 2011). Dentre as NE carreadoras de antifúngicos triazólicos, as NE contendo ITZ foram desenvolvidas e incorporadas em um gel mucoadesivo para tratamento de candidíase intravaginal, utilizando ratos infectados com *C. albicans*. Os resultados demonstraram que o gel de NE contendo ITZ apresentou uma permeabilidade significativamente maior em comparação com o gel convencional (MIRZA et al., 2013; MONDELLO et al., 2006).

Além de aumentar a permeabilidade tópica do ITZ, as NE também foram responsáveis pelo aumento da biodisponibilidade oral do fármaco. A ação antifúngica das NE de ITZ foi superior em relação a suspensão do fármaco contra *Aspergillus niger*.

Além disso, as NE de ITZ tiveram uma melhor permeação através do estômago e do intestino em comparação com a suspensão do fármaco e sua formulação comercial (Sporanox[®]). Estudos *in vivo* em ratos Wistar machos saudáveis mostraram uma biodisponibilidade cerca de 2 vezes superior para as NE de ITZ em comparação com a suspensão do fármaco (THAKKAR et al., 2015).

Quanto a ação de nanopartículas em biofilmes, estudos apontam que a aplicação da nanotecnologia em sistemas de liberação de fármacos possui grande potencial para o tratamento de biofilmes fúngicos. A capacidade das nanopartículas de potencializar moléculas ativas inibidoras de biofilmes revela-se como uma alternativa eficaz, possibilitando o uso de fármacos disponíveis na prática clínica de forma melhorada (DOS SANTOS et al., 2018).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A dificuldade de tratamento em doenças fúngicas causadas pelos gêneros *Candida* e *Aspergillus* é uma realidade global, acometendo muitas mulheres em vaginoses e as éguas nas endometrites micóticas. O desenvolvimento de formulações que revertam a situação da resistência e aumentem biodisponibilidade de fármacos, com redução dos efeitos colaterais

são de extrema importância para melhorar a eficiência do tratamento, tanto para a saúde humana quanto das éguas.

6 AGRADECIMENTOS

O presente capítulo foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior - Brasil (CAPES) – código de financiamento 001.

7 REFERÊNCIAS

ALVARENGA, M. A. Diagnóstico e tratamento da endometrite fúngica em éguas. **Ix Conferência Anual Da Abraveq**, 2008.

ARAÚJO, F. A. et al. Development and characterization of parenteral nanoemulsions containing thalidomide. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, p. 238-245, 2011.

ASHLEY, E. S. D. et al. Pharmacology of systemic antifungal agents. **Clinical Infection Disease**, v. 43, S28 - S39, 2006.

BELTAIRE, K. A.; CHEONG, S. H.; COUTINHO DA SILVA, M. A. Retrospective study on equine uterine fungal isolates and antifungal susceptibility patterns (1999-2011). **Equine Veterinary Journal**, v. 44, n. 43, p. 84–87, 2012.

BERNADINO, M. L. A. et al. Endometrite equina. Fungos e bactérias. **Archivos de Zootecnia**, v. 56, p. 875–884, 2007.

BUCZKOWSKA, J. et al. Comparison of the biopsy and cytobrush techniques for diagnosis of subclinical endometritis in mares. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 12, n. 1, p. 1–6, 2014.

BUNJES, H. Lipid nanoparticles for the delivery of poorly water-soluble drugs. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 62, n. 11, p.1637 – 45, 2010.

CAMPOY, S.; ADRIO, J. L. Antifungals. **Biochemical Pharmacology Journal**, v. 86–96, p. 471–489, 2017.

CARRIS, L. M.; LITTLE, C. R.; STILES, C. M. Introduction to fungi. **The Plant Health Instructor**, p. 1–29, 2012.

CHANG, E. H. et al. Nanomedicine: past, present and future - a global perspective. **Biochemical and Biophysical Research**, v. 468, p. 511 - 517, 2015.

COCCHIA, N. et al. Comparison of the cytobrush, cottonswab, and low-volume uterine flush techniques to evaluate endometrial cytology for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. **Theriogenology**, v. 77, n. 1, p. 89–98, 2012.

COUTO, M. A.; HUGHES, J. P. Technique and interpretation of cervical and endometrial cytology in the mare. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 4, n. 6, p. 265–273, 1984.

DASCANIO, J.; LEY, W.; SCHWEIZER, C. How to diagnose and treat fungal endometritis. **AAEP Proceedings**, v. 46, p. 316–318, 2000.

DOS SANTOS, M. A. R. et al. Nanotechnology-based drug delivery systems for control of microbial biofilms: A review. **International Journal of Nanomedicine**, v. 13, p. 1179–1213, 2018.

FERRIS, R. A. Therapeutics for infectious endometritis: a clinical perspective. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41, n. 1, p. 175–179, 2017.

FISHER, M. C. et al. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security. **Science**, v. 360, p. 739–742, 2018.

GUPTA, M.; VYAS, S. P. Development, characterization and *in vivo* assessment of effective lipidic nanoparticles for dermal delivery of fluconazole against cutaneous candidiasis. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 165, p. 454–461, 2012.

HABIB, F. S. et al. Liposomes as an ocular delivery system of fluconazole: *in vitro* studies. **Acta Ophthalmologica**, v. 88, p. 901 – 904, 2010.

HECTOR, R. F.; DAVIDSON, A. P.; JOHNSON, S. M. Comparison of susceptibility of fungal isolates to lufenuron and nikkomycin Z alone or in combination with itraconazole. **American Journal of Veterinary Research**, v. 66, n. 6, p. 1090–1093, 2005.

HESS, M. B. et al. Use of lufenuron as a treatment for fungal endometritis in four mares. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 221, n. 2, p. 266–267, 2006.

IMAN, M. et al. Characterization of the colloidal properties, *in vitro* antifungal activity, antileishmanial activity and toxicity in mice of a distigmasterylhemisuccinoyl-glicero phosphocholine liposome-intercalated amphotericin B. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 408, p. 163–172, 2011.

IMMORDINO, M. L.; DOSIO, F.; CATTEL, L. Stealth liposomes: review of the basic science, rationale, and clinical applications, existing and potential. **International Journal of Nanomedicine**, v. 1, n. 3, p. 297 – 315, 2006.

JAIN, S. et al. Gelatin coated hybrid lipid nanoparticles for oral delivery of amphotericin B. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, p. 2542–2553, 2012.

JORGE, M. L. N.; ORLANDI, C. M. B.; SANTANA, A. E. Citocentrifugação e métodos convencionais na citologia uterina de éguas em estro e diestro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 4, p. 802–806, 2017.

- KUMAR, S.; RANDHAWA, J. K. High melting lipid based approach for drug delivery: solid lipid nanoparticles. **Materials Science and Engineering**, v. 3, p. 1842–1852, 2013.
- LEBLANC, M. M. et al. Scintigraphic measurement of uterine clearance in normal mares and mares with recurrent endometritis. **Equine Veterinary Journal**, v. 26, n. 2, p. 109–113, 2010.
- LEBLANC, M. M.; MAGSIG, J.; STROMBERG, A. J. Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. **Theriogenology**, v. 68, n. 3, p. 403-412, 2007.
- LEBLANC, M. M. The chronically infertile mare. **AAEP Proceedings**, v. 54, p. 391–407, 2008.
- LEWIS, R. E. Current concepts in antifungal pharmacology. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 86, n. 8, p. 805 – 817, 2011.
- LIM, W. M. et al. Formulation and delivery of itraconazole to the brain using a nanolipid carrier system. **International Journal of Nanomedicine**, v. 9, p. 2117 – 2126, 2014.
- LIU, I. K. M.; TROEDSSON, M. H. T. The diagnosis and treatment of endometritis in the mare: yesterday and today. **Theriogenology**, v. 70, n. 3, p. 415–420, 2008.
- MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Revisão do estudo do complexo do agronegócio do cavalo**. 2016. p. 1–45, Brasília: MAPA
- MARTIN, M. T.; SHULL, J. W.; BOWEN, J. M. Endometrial candidiasis in five mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 6, n. 1, p. 40–43, 1986.
- MATTOS, R. et al. Uterine lavage with saline in mares as treatment for endometritis. **Pferdeheilkunde Equine Medicine**, v. 13, n. 5, p. 521–524, 1997.
- MBAH, C. C.; BUILDERS, P. F.; ATTAMA, A. A. Nanovesicular carriers as alternative drug delivery systems: ethosomes in focus. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 11, p. 45 - 59, 2014.
- MCAULIFFE, S. Reproductive disorders. **Knottenbelt and Pascoe's Color Atlas of Diseases and Disorders of the Horse**, p. 443–513, 2013.
- MCCUE, P. M. The problem mare: management philosophy, diagnostic procedures, and therapeutic options. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, n. 11, p. 619–626, 2008.
- MINIYAR, P. B. et al. Triazole hybrids as new type of anti-fungal agents. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, n. 3, p. 295-299, 2017.
- MIRZA, M. A. et al. A vaginal drug delivery model. **Drug Delivery**, p. 1-12, 2016.

MIRZA, M. A. et al. Development of a novel synergistic thermosensitive gel for vaginal candidiasis: an *in vitro*, *in vivo* evaluation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 103, p. 275 - 282, 2013.

MONDELLO, F. et al. *In vivo* activity of terpinen-4-ol, the main bioactive component of *Melaleuca alternifolia* cheel (tea tree) oil against azole-susceptible and -resistant human pathogenic *Candida* species. **BMC Infectious Diseases**, v. 6, p. 158, 2006.

MULLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S. A. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 1, n. 54, Suppl 1, p. 131-55, 2002.

MULLER, R. H.; SHEGOKAR, R.; KECK, C. M. 20 years of lipid nanoparticles (SLN and NLC): present state of development and industrial applications. **Current Drug Discovery Technologies**, n. 3, p. 207-227, 2011.

NALAWADE, J. et al. Synthesis of new thiazolyl-pyrazolyl-1, 2, 3-triazole derivatives as potential antimicrobial agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2019.

PARDEIKE, J. et al. Itraconazole-loaded nanostructured lipid carriers (NLC) for pulmonary treatment of aspergillosis in falcons. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 108, p. 269-276, 2016.

RAMAGE, G. et al. Characteristics of biofilm formation by *Candida albicans*. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 18, n. 4, p. 163-70, 2001.

RIBAS, J. A.; CARVALHO, E. Q.; STUSSI, J. P. Endometrite fúngica em éguas: diagnóstico e implicações clínico-patológicas. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 21, n. 3, p. 204-212, 2014.

ROMERO, E. L.; MORILLA, M. J. Drug delivery systems against leishmaniasis? Still an open question. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 5, p. 805-823, 2008.

ROSZEL, J. F.; FREEMAN, K. P. Equine endometrial cytology. **The Veterinary Clinics of North America. Equine practice**, v. 4, n. 2, p. 247-262, 1988.

SCOTT, C. J. A review of fungal endometritis in the mare. **Equine Veterinary Education**, p. 1-5, 2018.

SIEME, H. et al. Equine embryo transfer. **Animal Biotechnology**, v. 1, p. 179-192, 2018.

SOLIMAN, G. M. Nanoparticles as safe and effective delivery systems of antifungal agents: Achievements and challenges. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 523, p. 15-32, 2017.

STRUTHERS, H.; MINDT, T. L.; SCHIBLI, R. Metal chelating systems synthesized using the copper (I) catalyzed azide-alkyne cycloaddition. **Dalton Transactions**, v. 39, n. 3, p. 675-696, 2010.

- THAKKAR, H. P. et al. Formulation and evaluation of itraconazole nanoemulsion for enhanced oral bioavailability. **Journal of Microencapsulation**, v. 32, p. 559-569, 2015.
- THOMPSON, R. L. et al. Assessment of uterine luminal pH in mares and the effect of dilute vinegar lavage on uterine luminal pH and endometrial health. **Theriogenology**, v. 117, p. 7–15, 2018.
- TROEDSSON, M. H. T. Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. **Theriogenology**, v. 52, p. 461–471, 1999.
- VELPANDIAN, T. et al. Retinal toxicity of intravitreally injected plain and liposome formulation of fluconazole in rabbit eye. **Indian Journal of Ophthalmology**, v. 54, p. 237 - 240, 2006.
- VIEIRA, A. J. H.; SANTOS, J. I. dos. Mecanismos de resistência de *Candida albicans* aos antifúngicos anfotericina B, fluconazol e caspofungina. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 49, n. 3, p. 235–239, 2017.
- VOLTAN, A. et al. Fungal diseases: could nanostructured drug delivery systems be a novel paradigm for therapy? **International Journal of Nanomedicine**, v. 11, p. 3715-3730, 2016.
- VYAS, S. P.; GUPTA, S. Optimizing efficacy of amphotericin B through nanomodification. **International Journal of Nanomedicine**, v. 1, p. 417-432, 2006.
- WEISSIG, V., GUZMAN-VILLANUEVA, D. Nanopharmaceuticals (part 2): products in the pipeline. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, p. 1245 – 1257, 2015
- WICKI, A. et al. Nanomedicine in cancer therapy: challenges, opportunities, and clinical applications. **Journal of Controlled Release**, v. 200, p. 138-157, 2015.
- ZAZO, H.; COLINO, C. I.; LANA O, J. M. Current applications of nanoparticles in infectious diseases. **Journal of Controlled Release**, v. 224, n. 86-102, 2016.
- ZHANG, L. et al. Development of nanoparticles for antimicrobial drug delivery. **Current Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 585 - 594, 2010.



Capítulo

16

Anti-helmínticos de importância veterinária no Brasil

Maria Larissa Bitencourt Vidal ¹
Marcos Vinicius Gonçalves Viana ²
Mitsue Ito ³
Leonardo Oliveira Trivilin ⁴
Isabella Vilhena Freire Martins ⁵

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

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: marcos16viana@gmail.com

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

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

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: ivfmartins@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

Parasitas e doenças parasitárias estão amplamente distribuídos pelo mundo, podendo afetar seus hospedeiros e induzir outras complicações como distúrbios gastrointestinais, desnutrição, anemia, alergias entre outras (BAHMANI et al., 2014).

Antiparasitários são fármacos que tem como objetivo eliminar os parasitos que acometem determinado hospedeiro. Este deve ser tóxico para o parasito e atóxico para o hospedeiro e ambiente, sendo ideal que o fármaco elimine o agente ou mantenha a infestação/infecção em níveis toleráveis, seja eficaz contra todos os estágios, seja de fácil administração, previna reinfestação e/ou reinfecção, seja isento de efeitos colaterais e tenha um bom custo benefício (BALDANI; DE SOUSA; MIGUEL, 1999).

Pode-se classificar os antiparasitários em endoparasiticidas que são utilizados no controle de helmintos e protozoários, ectoparasiticidas utilizados no combate a carrapatos, pulgas, piolhos e moscas, e os endectocidas, que agem no controle de nematóides e de ectoparasitos.

É comum encontrar no mercado produtos com associações de diferentes princípios ativos, isso é possível e tem como finalidade aumentar a atividade do medicamento, agir em diferentes parasitos e potencializar efeitos de determinados fármacos.

Tendo em vista a necessidade de conhecer as bases farmacológicas, fatores relevantes ao uso das moléculas em relação aos hospedeiros e aos parasitos, assim como a época e frequência correta de utilização, o objetivo deste capítulo é abordar os principais antihelmínticos encontrados no mercado brasileiro.

2 ANTI-HELMÍNTICOS

O tratamento das infecções helmínticas é constituído por fármacos específicos para o controle de nematódeos, trematódeos e cestódeos que estão subdivididos em classes farmacológicas a partir de sua atuação nos parasitos. De modo geral, esses fármacos agem incapacitando o parasito, ou seja, impedindo seu desenvolvimento a partir de efeitos nos microtúbulos pela inibição da captação de energia (inanição) ou por paralisia que pode ser espástica ou flácida. As espécies de helmintos variam em relação ao metabolismo, um mesmo fármaco pode ser efetivo para um e não para outro (RANG et al., 2007).

Os principais grupamentos farmacológicos de antihelmínticos são, segundo Spinosa, Gorniak e Bernadi (2011), benzimidazóis, pro-benzimidazóis, substitutos fenólicos, as salicilanilidas, sulfonamidas, imidazotiazóis, pirimidinas, organofosforados, piperazina, avermectinas e milbemicinas, prazinoisoquinolonas e os mais recentes são os derivados de aminoacetona. Os grupamentos, assim como seus princípios ativos, atuação, espectro de ação e sua segurança para espécies de animais estão representados na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1. Principais anti-helmínticos utilizados no mercado brasileiro, indicando grupamento farmacológico, princípio ativo, efeitos e atuação e espectro de ação (continua).

Classe	Medicamento	Modo de ação	Efeito	Atuação*	Animais que podem utilizar a molécula
Avermectinas	Abamectina	Canais de cloro	Paralisia flácida	N ¹	Bovinos Suínos
	Doramectina			N	Bovinos
	Eprinomectina			N	Ruminantes
	Ivermectina			N	Equinos Ruminantes Suínos Cães
	Selamectina			N	Cães Gatos
Milbemicina	Milbemicina	Ions cloro	Paralisia flácida	N	Cães
	Moxidectina			N	Ruminantes Equinos
Piperazina	Piperazina	Potencialização do GABA	Paralisia flácida	Ascarididae	Aves Suínos
Benzimidazóis	Albendazol	Bloqueio da polimerização da tubulina	Paralisia Morte por inanição Ovicida	T ² /C ³ /N	Ruminantes// Equinos Suínos Cães Gatos
	Fembedazol			T/C/N	Ruminantes Equinos Cães// Aves
	Oxbendazol			C/N	Ruminantes/ Aves Equinos
	Oxfendazol			N	Bovinos
	Tiabendazol			N	Ruminantes Equinos Suínos
	Triclabendazol			T	Ruminantes

Tabela 1. Principais anti-helmínticos utilizados no mercado brasileiro, indicando grupamento farmacológico, princípio ativo, efeitos e atuação e espectro de ação (conclusão).

Classe	Medicamento	Modo de ação	Efeito	Atuação*	Animais que podem utilizar a molécula
Pro-benzimidazóis	Febantel	Metabolismo <i>in vivo</i> para benzimidazois	Paralisia Inanição Ovicida	N/T	Cães Gatos
	Morantel	Agonista colinérgico	Paralisia espástica	N	Ruminantes
Pirimidinas	Pirantel			C/N	Equino/ Equinos Cães
	Oxantel			N	Cães Gatos
Prazinoisoquinolona	Praziquantel	Bomba de Na ⁺ /K ⁺	Paralisia espástica	C/ <i>Platynosomum fastosum</i>	Ruminantes Equinos Cães/ Gatos
Substitutos fenólicos	Disofenol	Desaclopradores da fosforilação oxidativa	Inanição	N/ <i>Fasciola hepatica</i>	Cães Gatos Ruminantes/ Ruminantes
	Nitroscanato			C/N	Cães
	Nitroxila			<i>Fasciola hepatica</i>	Ruminantes
Salicilanilidas	Closantel	Desaclopradores da fosforilação oxidativa	Inanição	T/N	Ruminantes
	Niclosamida			<i>P. cervi</i> / C	Ruminantes Equino Cães
	Rafoxanida			T	Ruminantes
Organofosforados	Triclorfom	Inibidores de acetilcolinesterase	Paralisia espástica	N	Ruminantes Equinos
Derivados de aminoacetonitrila	Monepantel	Receptores nicotínicos dos canais iônicos	Paralisia espástica	N	Ovinos
Imidazoatiazóis	Levamisol	Agonista colinérgico	Paralisia espástica	N	Ruminantes Suínos Equinos Aves
	Tetramisol			N	Ruminantes Suínos Aves
Sulfonamidas	Clorsulon	Inibição da glicose	Inanição	<i>Fasciola hepatica</i> / N	Ruminantes

Nota:* ¹N = nematocida; ²T = trematocida; ²C = cestocida
 Fonte: Os autores.

2.1 LACTONAS MACROCÍCLICAS

Conhecidas também como avermectinas, onde o termo é formado pelo prefixo grego *a* que significa “sem”, verme, do latim *vermis* e ecto, do grego *ektós*, que significa externo, indicando que sua ação é para eliminação de endo e ectoparasitos (GERENUTTI; SPINOSA, 1997).

As lactonas macrocíclicas (ou macrolídeos) são moléculas provenientes de substâncias produzidas por microorganismos estreptomices e apresentam grandes estruturas macrocíclicas que compartilham propriedades estruturais e físico-químicas, com potenciais endectocidas e o mesmo mecanismo de ação que revela as várias moléculas conhecidas como avermectinas e milbemicinas, as principais moléculas são Abamectina, Ivermectina, Doramectina, Selamectina e Eprinomectina. São classificadas como semissintéticas (Ivermectina e moxidectina) e sintéticas (Doramectina). As lactonas são altamente eficazes em baixas doses, muito seguras e possuem amplo espectro de ação contra nematoides e artrópodes (BOWMAN, 2010; SPINOSA; GORNIK; BERNARDI, 2011).

As milbemicinas diferem das avermectinas por um componente em sua constituição química, sendo a moxidectina derivada da fermentação de uma espécie de estreptomices diferente (SPINOSA; GORNIK; BERNARDI, 2011).

De acordo com Bowman (2010) esses parasiticidas são os mais eficazes e menos tóxicos desenvolvidos, onde sua ação se dá pela afinidade ao canal de cloro regulado pelo glutamato que desencadeiam o influxo de cloro, há uma hiperpolarização nos neurônios do parasito e previne o início ou a propagação de potenciais de ação normais, levando a uma paralização flácida e morte. Apesar de suas atividades benéficas, as lactonas apresentam diversas falhas, pois são ineficazes contra cestódeos e trematódeos e possuem alto valor agregado.

A farmacocinética ocorre por administração via oral, subcutânea ou transcutânea. A absorção é mais rápida pela via oral, exceto nos ruminantes que absorvem até 30% do total por inativarem parcialmente o fármaco no rúmen. A distribuição é ampla, entretanto não atinge o Sistema Nervoso Central (SNC) em quantidades significativas normalmente, exceto em cães dolicocefálicos, onde uma maior permeabilidade da barreira hemato-encefálica faz com que o fármaco possa atingir o SNC, causando intoxicação, seu metabolismo é hepático, a eliminação primariamente se dá pelas fezes, embora possa aparecer na urina (VIANA, 2014).

2.1.1 Ivermectina

A ivermectina é o primeiro macrolídeo e o agente mais conhecido desta classe comercialmente disponível, apresentando atividade contra nematoides gastrointestinais e pulmonares de ruminantes, equinos e suínos e frente a estágios imaturos de *Dirofilaria* sp. em cães e gatos, além de atuarem em artrópodes. (BOWMAN, 2010; SPINOSA; GORNIK; BERNARDI, 2011; WEBSTER, 2005) A ivermectina apresenta um bom perfil de segurança, há casos de intoxicação devido à sensibilidade individual ao fármaco e isso acontece de uma forma geral em espécies de cães dolicocefálicos (ODUNAYO; KERL, 2012) que incluem cães da raça collie (WEBSTER, 2005). Apresenta ação positiva frente a verminose em equinos, com eficácia de até 99,7% (BARBOSA et al., 2018), porém em bovinos há relatos desde 2005 de resistência de *Cooperia* spp. e *Haemonchus* spp. a esse medicamento (LOPES et al., 2014; RANGEL et al., 2005) e *Oesophagostomum* sp. (LOPES et al., 2014).

2.1.2 Abamectina

É um princípio ativo derivado da bactéria *S. avermectinus* e representa uma mistura contendo cerca de 80% de avermectina B1 e não mais que 20% de avermectina B1b (AGARWAL, 1998; CAMPBELL et al., 1983). O principal mecanismo de ação da abamectina se dá por meio da perturbação dos receptores GABA, resultando na inibição da transmissão nervosa nervo-nervo ou nervo-músculo, e conseqüentemente, a paralisia e morte dos parasitos (LANKAS; GORDON, 1989).

É eficaz no controle de infecções por nematoides de bovinos (RANGEL et al., 2005) e suínos (WEBSTER, 2005). Existe ação para o controle do trematoda *Fasciola hepatica* em associação com triclabendazol (ALVES; MARTINS, 2013).

Quando a sua toxicidade, em sua revisão Molinari, Soloneski e Larramendy (2010) enfatizaram que a abamectina não induziu mutações gênicas tanto *in vitro* quanto *in vivo*, com ou sem ativação metabólica, muito menos houve evidências de efeito clastofênico. Porém, advertem que a abamectina é capaz de introduzir quebras na fita de DNA em ensaios *in vitro*.

2.1.3 Doramectina

É um produto que apresenta espectro de ação similar ao da ivermectina, embora apresente uma meia-vida de eliminação de cerca de duas vezes maior, descrito por Bowman (2010), é utilizada em bovinos frente a nematoides, vermes pulmonares e oculares, além de seu uso contra ectoparasitos (WEBSTER, 2005), sendo um excelente bernicida. Há relatos de sua eficácia contra nematoides gastrointestinais em equinos via intramuscular (BENAVIDES; AYOLA; ÁLVAREZ, 2015).

2.1.4 Eprinomectina

É uma molécula que apresenta ação de amplo espectro, formulada para aplicação tópica localizada e não exige período de carência para leite e carne (SHOOP; MROZIK; FISHER, 1995). O agente é o único macrocíclico que pode ser utilizado no gado leiteiro lactante, sendo mais hidrofílica diminuindo o provável resíduo no leite (FURLONG; PRATA; MARTINS, 2007; HOLSTE et al., 1997; SHOOP; MROZIK; FISHER, 1995). Além disso, possui ação efetiva frente a *Haemonchus placei*, *Cooperia punctata*, *Oesophagostomum radiatum*, *Trichuris discolor* e *Agriostomum vryburgi* em bovinos (COUMENDOUROS et al., 2003).

2.1.5 Selamectina

É uma preparação a partir de uma modificação semissintética de doramectina (BISHOP et al., 2000) de formulação tópica que possui atividade inseticida e anti-helmíntica (MCTIER et al., 2003). É a primeira lactona a promover atividade contra os parasitos internos e externos sem apresentar toxicidade para cães da raça Collie e com sua aplicação tópica é absorvida transdermicamente, passa para corrente sanguínea e instala-se nas glândulas sebáceas (SCOOT; MILLER; GRIFFIN, 2001). É um composto altamente lipossolúvel, distribui-se de forma sistêmica e atua amplamente no organismo (SPINOSA; GORNIK; BERNARDI, 2011). Pode ser utilizada em gatos, pois apresenta boa margem de segurança em cães e gatos (BOWMAN, 2010).

2.1.6 Milbemicina Oxima

Foi a segunda lactona a ser aprovada pelo FDA, atua como preventiva de *Dirofilaria immitis* para cães e gatos, também apresenta atoxicidade para cães Collie e pode ser utilizada em animais prenhes e lactantes (BOWMAN, 2010).

2.1.7 Moxidectina

Apresenta uma gama atividade e margem de segurança similar à da ivermectina. Utilizado para equinos, sendo seguro em éguas em fase reprodutiva, gestação e lactação e em potros com mais de seis meses. Para bovinos é aprovado tanto para animais destinados ao corte como para produção de leite que não esteja em lactação, assim como em ovinos, devendo-se respeitar um período de sete dias para realizar o abate. Em cães apresenta ação frente *Dirofilaria immitis* (BOWMAN, 2010). Apresenta funcionalidade frente a nematoides de bovinos de corte, precisamente *Cooperia* spp. e *Haemonchus* spp., sendo uma alternativa em casos em que a ivermectina não é mais funcional (RANGEL et al., 2005), porém há relatos de resistência dos parasitos *Cooperia* spp., *Oesophagostomum* sp e *Trichuris* sp. a moxidectina em bovinos (CONDI; SOUTELLO; AMARANTE, 2009).

2.2 PIPERAZINA

A molécula é um anti-helmíntico considerado único vermífugo com ação de bloqueio de resposta muscular do parasito, que é insuficiente para matá-lo, levando a uma paralização por meio de formação de barreira neuromuscular que interrompe a neurotransmissão de GABA (BOWMAN, 2010; SPINOSA; GORNIK; BERNARDI, 2011). A piperazina é bastante segura para usar em todas as espécies, mas apresenta um estreito espectro de ação, sendo funcional para os ascarídeos, dessa forma são comuns as reinfecções e a presença de vermes vivos nas fezes (VIANA, 2014).

É utilizada como anti-helmíntico em suínos, aves domésticas, equinos e cães e gatos, onde a atividade anti-helmíntica depende da liberação no trato gastrintestinal (TGI), é rapidamente absorvida no TGI e removida por excreção urinária e a eliminação está quase

completa dentro de 24 horas (BOWMAN, 2010; SPINOSA; GORNIK; BERNARDI, 2011). Atualmente, seu uso é restrito a terapêutica massal de aves e suínos (VIANA, 2014). Chapman et al (1996) relataram os casos de resistência em nematoides de equinos e recentemente foi provada a alta eficácia da piperazina em nematoides de equinos em Kentucky (LYONS; DORTON; TOLLIVER, 2016).

2.3 BENZIMIDAZÓIS

Os benzimidazóis são antiparasitários que atuam fazendo bloqueio da polimerização da tubulina, levando a inibição da fumarato-redutase, causando quebra na produção de energia com consequente paralisia muscular e morte dos parasitos (VIANA, 2014). Lanusse e Prichard (1993) e Lanusse, Alvarez e Lifschitz (2010) corroboram relatando que várias funções dos parasitos são comprometidas, levando à morte não somente dos adultos, mas comprometimento de embrionamento dos ovos, assim como de larvas, definindo seu potencial adulticida, ovicida e larvicida. Sua atuação é ampla, onde funciona frente nematódeos, cestódeos e trematódeos (ANDRADE, 2008).

Os compostos presentes nesse grupo são classificados como tiazólicos (tiabendazol), metilcarbamatos (albendazol, fembendazol e oxfendazol), halogenados (triclabendazol) e pró-benzimidazóis (febantel) (BOGAN; ARMOUR, 1987).

Os pró-benzimidazóis são compostos inativos que, por meio de uma conversão enzimática, se tornam benzimidazol-etil ou metilcarbamatos e apresentam atividades frente a parasitos após a modificação. O febantel, a partir de uma derivação dos guanidínicos que se convertem em fembendazol e oxfendazol e o tiofanato é ativado ao ser metabolizado no animal em um derivado etil conhecido como lobendazol (BALDANI; DE SOUSA; MIGUEL, 1999).

Quanto a sua absorção, os benzimidazóis praticamente não são absorvidos, exceto o tiabendazol, albendazol e oxfendazol, que possuem absorção significativa. O tempo de contato com o fármaco e parasito é o que diretamente demonstra a sua eficiência, por isso nos ruminantes a dose é a partir de dose única pelo metabolismo e a permanência da molécula em maior tempo no seu trato digestivo. Da mesma forma, é desejável que o fármaco apresente baixa solubilidade, pois sua parcela absorvida é terapêuticamente ineficiente, ficando a fração insolúvel em contato direto com o parasito por maior tempo (VIANA, 2014).

A fração absorvida tem metabolismo hepático e excreção renal. A porção não absorvida é eliminada juntamente com as fezes, e os pró-benzimidazóis sofrem transformação no rúmen e fígado para benzimidazóis (BOGAN; ARMOUR, 1987).

2.3.1 Tiabendazol

O primeiro dos benzimidazóis, é um composto bastante seguro. Há muito tempo vem sendo utilizado como anti-helmíntico e antifúngico (NASCENTE, 2006; RIBEIRO et al., 1997). Não há anti-helmínticos à base de tiabendazol no mercado.

2.3.2 Fenbendazol

Amplamente utilizado nos animais domésticos e não apresenta efeitos embriotóxicos ou teratogênicos em bovinos e ovinos. Sua absorção e metabolismo no organismo ocorre formando duas moléculas ativas (sulfóxido de oxfendazol e sulfato de oxfendazol), funciona frente a nematoides gastrinstestinais, pulmonares e cestódeos em bovinos, ovinos, caprinos, equinos e suínos (BOWMAN, 2010). A ação do fenbendazole deve-se primariamente à interferência no metabolismo de energia, os resíduos do fenbendazole se aproximam do limite mínimo de detecção em dois dias, sugerindo um período curto de atuação do princípio ativo (BOOTH; MCDONALD, 1992).

Em animais de produção foram testados frente a cestódeos (*Moniezia expansa* e *Thysanosoma actinoides*) de ovinos e apresentaram 100% de eficácia (ARIEL et al., 2011). Em cães foi demonstrado que a administração diária de altas doses de fenbendazol para a cadela gestante auxilia na eliminação das larvas da infecção transmamária e pré-natal de *Ancylostoma* spp. e *Toxocara* spp. dos filhotes (TAYLOR; COOP; WALL, 2007).

2.3.3 Oxfendazol

Apresenta amplo espectro para uso em bovinos, é metabolizado em sulfato de oxfendazol e fenbendazol, mas a ação anti-helmíntica primária é causada pela molécula de

origem. Não pode ser utilizado em vacas de leite em idade de reprodução, por não ter estabelecido o tempo de retirada de leite (BOWMAN, 2010). É o mais absorvido dos benzimidazóis pelo trato gastrointestinal, sua utilização em animais debilitados deve ser com cautela e é relativamente seguro para potros (VIANA et al., 2000). Amarante e colaboradores (1992) relataram resistência de *Haemonchus* e *Trichostrongylus* em ovinos frente a oxfendazol e outras moléculas.

2.3.4 Febantel

Pro-benzimidazol metabolizado em fenbendazol e oxfendazol nos quais se tornam moléculas bastante ativas (BALDANI; DE SOUSA; MIGUEL, 1999; MCKELLAR; SCOTT, 1990). Não está disponível em formulação única, mas sim frequentemente associado a praziquantel e pirantel, onde sua principal indicação é para cães e gatos (BOWMAN, 2010).

2.3.5 Oxbendazol

Eficaz contra pequenos estrombilídeos (ciatostomíneos) de equinos e pode ser utilizado para bovinos, ovinos, cães e gatos e pôneis (BOWMAN, 2010). Recentemente foi prova a alta eficácia em nematoides de equinos (LYONS; DORTON; TOLLIVER, 2016).

2.3.6 Albendazol

O benzimidazol mais recente, de amplo espectro e ampla margem de segurança para bovinos, sendo utilizado de acordo com as recomendações de bula. Apresenta atividade frente a nematoides gastrintestinais, pulmonares, cestódeos e isso inclui as formas larvais, tendo ainda efeito sobre trematódeos na fase adulta em animais e humanos (BOWMAN, 2010).

O albendazol é considerado insolúvel em água e solventes orgânicos, isso influencia diretamente sua absorção no organismo, sendo considerado com baixa absorção (VIANA et al., 2000). É considerado efetivo em animais domésticos sobre uma ampla gama de espécies de helmintos, Leão et al. (2012) validou a eficácia de sulfóxido de albendazole para bovinos leiteiros no controle da fasciolose.

Dentre as recomendações, o albendazol não deve ser utilizado em fêmeas bovinas e ovinas em idade de reprodução por apresentar efeito embriotóxico e não deve ser utilizado em prenhes durante o primeiro estágio de gestação. Em cães e gatos seu uso deve ser cauteloso devido a possibilidade de desenvolvimento de alterações como anemia aplástica (BOWMAN, 2010).

Em humanos é uma das moléculas mais utilizadas para controle de nematoides, inclusive por recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS) (FERNANDES et al, 2012), porém, há relatos de resistência de *Haemonchus contortus* em ovinos e caprinos, onde foi testada a molécula que apresentou eficácia menor que 95% (GARCIA-ARECE et al., 2016) e frente a cestódeos (*Moniezia expansa* e *Thysanosoma actinoides*) de ovinos apresentou 100% de eficácia, assim como o fenbendazol (ARIEL et al., 2011).

2.3.7 Triclabendazol

O triclabendazole é reconhecido como o mais efetivo trematodicida, principalmente frente a *Fasciola hepatica*, por possuir ação antiparasitária sobre os três estágios de desenvolvimento, ou seja, a forma imatura, jovem e adulta (SHI et al., 1989). É um medicamento descrito com aprovação apenas para uso veterinário, com fácil administração, ausência de efeitos colaterais e eficácia terapêutica comprovada (ALVES; MARTINS, 2013), porém há relatos de resistência de *F. hepatica* ao triclabendazole, embora sua atuação comparada com a utilização de albendazol ainda apresenta-se mais efetivo (CHAVIANO et al, 2016). Atualmente não há produtos a base de triclabendazole no mercado brasileiro.

2.4 PIRIMIDINAS

Em 1966 houve a introdução das pirimidinas no mercado, utilizadas inicialmente como antihelmíntico para nematoides gastrointestinais de ovinos. Com o passar dos anos foi introduzida como fármaco antiparasitário de bovinos, equinos, suínos e cães (SPINOSA; GÓRNIK; BERNADI, 2011).

As pirimidinas foram liberadas para comercialização sob as formas farmacêuticas de pamoato de pirantel, pamoato de oxantel (ANDRADE, 2008) e morantel (BARROS; DI STASI,

2012). As tetra-hidropirimidinas são caracterizadas como agonistas colinérgicas, ou seja, afetam a coordenação neuromuscular com paralisia espástica e desencadeando em uma liberação rápida do parasito (LANUSSE; PRICHARD, 1993).

A administração se faz por via oral, sua biotransformação acontece no fígado e a eliminação do fármaco ocorre nas fezes na maioria dos animais. No entanto, nos cães a maior parte das pirimidinas é eliminada pela urina e uma pequena quantidade pelas fezes (BARROS; DI STASI, 2012).

O uso de pamoato de pirantel associado a oxantel se mostrou eficaz no tratamento de *Toxocara canis* e *Ancylostoma* sp. em filhotes de cães que foram recentemente desmamados e com infecção natural (MORAES et al, 2004), em cães adultos (CARVALHO; ARAÚJO, 2009). Em nematoides gastrointestinais de cães e gatos, Campos e colaboradores (2013) observaram eficácia de pamoato de pirantel em associação com outros princípios ativos.

2.5 PRAZINOQUINOLONA

As prazinoquinolonas inibem a bomba de sódio e potássio dos parasitos, provocando o aumento da permeabilidade da membrana e entrada do cálcio nas células, que por sua vez, aumenta a atividade muscular levando a contrações e paralisia espástica (FIOCRUZ, 2016; NOVAES; SOUZA; ARAÚJO, 1999). Quando se utiliza altas concentrações, o fármaco promove a vacuolização e formação de vesícula no tegumento do parasito, ativando o mecanismo de proteção do hospedeiro com posterior eliminação do helminto (FIOCRUZ, 2016).

O principio ativo de maior importância e utilização desta classe é o praziquantel, fármaco empregado como tratamento de eleição para combate a cestódeos adultos e fase larval nos animais domésticos, apresentando indicação para cães no tratamento das famílias Taeniidae e Dilepididae, sendo um produto indicado para cães com idade acima de quatro semanas e felinos com mais de seis semanas de idade (SPINOSA; GÓRNIK; BERNADI, 2011).

Nos ruminantes e equinos o fármaco possui atuação contra as famílias Anoplocephalidae, e nas aves tem atividade cestotocida na família Davaineidae (SPINOSA; GÓRNIK; BERNADI, 2011). O praziquantel combate também as infecções pelo *Cysticercus cellulosae* que é o estágio larvar da *Taenia solium* (FIOCRUZ, 2016).

O praziquantel sofre biotransformação no fígado e sua excreção é feita pela urina e fezes. O fármaco consegue ultrapassar a barreira hematoencefálica (FIOCRUZ, 2016). Foi

utilizado em felinos parasitados com *Platynosomum fastosum* e foi efetivo (CAMPOS et al., 2018), nos cestódeos de aves *Raillietina cesticillus* e *Amoebotaenia cuneata* apresentou controle de 100% dos parasitos (MARTINS et al, 2003). Além disso, foi testado para cães, gatos, ratos, cabras, veados e galinhas infectados com *Dipylidium caninum*, *Spirometra* sp., *Taenia pisiforme*, *Taenia taeniaeformis*, *Hymenolepis nana*, *Moniezia expansa*, *Moniezia* sp. e *Raillietina* sp., demonstrando eficiência (EOM; KIM; RIM, 1988).

2.6 SUBSTITUTOS FENÓLICOS

Os medicamentos desta classe possuem atividade antiparasitária em nematoides, cestoides e trematoides. O nitroxil, nitroscanato e o disofenol são os substitutos fenólicos representantes da classe, possuem metabolismo de primeira passagem e excreção feita pela urina. Não é aconselhável o consumo de leite dos animais que foram tratados com o fármaco por pelo menos 48 horas após a aplicação (BARROS; DI STASI, 2012).

Os substitutos fenólicos nos cães atuam no controle de cestódeos em animais domésticos, aves, ruminantes e equinos. No caso dos nematódeos os substitutos fenólicos têm ação em algumas espécies de parasitos hematófagos (SPINOSA; GÓRNIK; BERNADI, 2011). Esses princípios ativos diminuem as reações das mitocôndrias que realizam o transporte de elétrons, levando a diminuição da adenosina trifosfato (ATP) e por conseguinte interfere no metabolismo respiratório dos helmintos, bloqueando a produção de energia (ANDRADE, 2008) e a morte do parasito por inanição (ALVES; MARTINS, 2013).

2.6.2 Nitroscanato

O nitroscanato apresenta ação contra cestódeos e nematódeos (AKASHI; SAKAMOTO; MARTINEZ, 2017). É indicado para cães maiores de duas semanas, cadelas prenhes e cadelas em lactação (EPUB, 2007). O nitroscanato não apresenta indicação para gatos, devido o risco de efeitos adversos, como êmese (MADDISON; PAGE; CHURCH, 2010). Apresenta atividade efetiva frente a *Toxocara canis* e *Ancylostoma* spp. (GARCIA et al, 2001). No Brasil, segundo o SINDAN (2019) há apenas um produto registrado comercializado para cães, com formulação comprimido.

2.6.3 Nitroxil

O nitroxil é efetivo contra as fases adultas de *Fasciola hepatica* e nematoides, atua no tratamento de ruminantes, com indicação para fêmeas gestantes, machos reprodutores e animais jovens (ALVES; MARTINS, 2013; BARROS; DI STASI, 2012). Seu período de carência é de 30 dias para o abate e não se recomenda o uso em vacas leiteiras quando o leite é destinado para consumo humano (EPUB, 2007). É descrito como efetivo para o controle da fasciolose (GOMEZ, ROMERO, 1994). No Brasil helmintos de ovinos foram testados com nitroxinil e sua eficácia foi comprovada para *Haemonchus* sp. e foi considerado insuficientemente ativo frente a *Cooperia* sp. (HOLSBACK et al., 2016).

2.6.4. Disofenol

O disofenol é um vermífico que apresenta ação residual, indicado para bovinos, ovinos e caprinos, há indicação para seu uso em animais com fasciolose, funcionando contra formas maduras e imaturas, além de apresentar efeitos frente a verminoses intestinais causadas por *Haemonchus* sp., *Bunostomum* sp. e *Oesophagostomum* sp. (LIVROZILLA, 2019). É indicado para cães e possui atividade contra *Ancylostoma caninum*, *A. braziliense*, *Spirocerca lupi* e *Uncinaria stenocephala* (EPUB, 2007).

Porém, apresentou baixa eficácia frente a *Fasciola hepatica* (ECHEVARRIA; PINHEIRO, 1979). E Silva et al. (2017) relataram que no tratamento de ovinos jovens que apresentavam *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp. e *Bunostomum* spp., a molécula não foi efetiva, demonstrando resistência parasitária. Entretanto, Oliveira et al (2014) demonstraram em seu estudo que o disofenol no tratamento de ovelhas mostrou-se eficaz, eliminando 100% de *Trichostrongylus* sp. e *Haemonchus* sp.

2.7 SALICILANILIDAS

As salicilanilidas são moléculas utilizadas desde 1960 e exercem alto desempenho contra nematódeos hematófagos por estarem ligadas a proteínas plasmáticas (WALL, 2001). Possuem como mecanismo de ação o desacoplamento da fosforilação oxidativa, levando a morte do parasito por inanição e tem sido utilizada em populações de nematódeos resistentes

aos benzimidazóis e lactonas macrocíclicas. Os medicamentos que representam esta classe são a niclosamida, rafoxanida e o closantel, sendo este o de maior destaque no controle de nematódeos em ruminantes (SPINOSA; GÓRNIK; BERNADI, 2011).

2.7.1 Closantel

Este fármaco é amplamente utilizado no controle de nematódeos em ruminantes, tendo seu princípio ativo de distribuição ampla pela via tissular, o que diminui frações residuais do medicamento nos animais, possuindo meia vida plasmática de 14 dias em ovinos (SPINOSA; GÓRNIK; BERNADI, 2011).

O closantel possui alta eficácia contra cepas de *Haemonchus contortus* resistentes aos benzimidazóis e ao levamisol, sendo utilizado como uma alternativa de controle desses parasitos (DORNY et al., 1994).

2.7.2 Niclosamida

O princípio ativo niclosamida, por ser insolúvel em meio aquoso tem baixa absorção no trato gastrointestinal. Encontra-se na formulação de suspensão, pasta e comprimido. Possui ação contra cestodas e *Paramphistomum* sp. (SPINOSA; GÓRNIK; BERNADI, 2011). No compendium de produtos veterinários do SINDAN (2019), apenas um produto é registrado com niclosamida, sendo associado a oxbendazole e com ação nos principais helmintos de cães e gatos.

2.7.3 Rafoxanida

A rafoxanida é bem absorvida no trato gastrointestinal, sendo suas concentrações plasmáticas máximas de 24 a 48 horas após a aplicação (SPINOSA; GÓRNIK; BERNADI, 2011). Atua como trematodicidas, por Martin, Robertson e Bjorn (1997) e no controle da fasciolose, a droga possui eficácia, sendo utilizada em doses maiores para os estágios que se

apresentam no parênquima quando os animais cursam a doença (URQUHART et al., 1996). Não há produtos no Brasil registrados com essa molécula (SINDAN, 2019).

2.8 ORGANOFOSFORADOS

Os organofosforados foram introduzidos inicialmente para o controle de ectoparasitas na década de 1950, sendo utilizados posteriormente como anti-helmínticos, porém, foram substituídos por outros compostos com menor toxicidade e maior efeito terapêutico (SPINOSA; GÓRNIAK; BERNADI, 2011). Surgiram para substituir os organoclorados (WALL; SHEARER, 2001), sendo recomendados no controle de nematódeos em ruminantes, aves e suínos, no qual seu mecanismo de ação bloqueia a ação da acetilcolinesterase sobre a acetilcolina, bloqueando a hidrólise deste neurotransmissor, evitando a neurotransmissão sináptica, gerando uma paralisia espástica e eliminação do parasito, onde os princípios ativos representantes da classe são coumafós, diclorvos, fentiom e triclorfom (SPINOSA; GÓRNIAK; BERNADI, 2011), sendo alguns apenas utilizados como ectoparasiticidas.

2.8.4 Triclorfon

De maneira geral, este grupamento químico foi originalmente desenvolvido para atuar sobre ectoparasitos. Entretanto, alguns estudos demonstraram que estes fármacos, apresentam eficácia contra cepas de nematódeos de bovinos resistentes a elevadas concentrações de ivermectina (LOPES et al., 2009).

Com relação ao uso, pelo fato de sofrer alteração na biotransformação em meio alcalino, quando administrado por via oral em bovinos requer 4,5 vezes a dose recomendada quando usado de maneira tópica. Deve-se respeitar a carência para consumo da carne de 1 dia, não tendo restrições com relação ao consumo do leite (SPINOSA; GÓRNIAK; BERNADI, 2011).

2.9 DERIVADOS DE AMINOACETONITRILA

São considerados como fármacos recentemente desenvolvidos, com o objetivo de controlar nematoides em ruminantes, incluindo aqueles resistentes a outros fármacos (HOSKING et al., 2010). O ingrediente ativo, no caso o monepantel, tem ação sobre um único receptor nicotínico, encontrado apenas em nematoides, atuando como agonista direto nos canais iônicos, causando hiperconcentração, levando a uma paralisia espástica do nematoide (SPINOSA; GÓRNIK; BERNADI, 2011).

2.10 IMIDAZOTIAZÓIS

Este grupamento começou a ser utilizado nos anos 60, sendo o primeiro fármaco disponível o tetramisol, posteriormente desenvolvido o levamisol, sendo este o único que ainda apresenta efeito (LIMA et al., 2010; VIEIRA et al., 2009). O mecanismo de ação dos imidazotiazóis é a partir da entrada por permeabilidade na cutícula do parasito, atuando como agonista colinérgico em sua musculatura, levando a um quadro de contração muscular e paralisia espástica, que serão eliminados junto ao muco das fezes no trato gastrointestinal e no muco dos brônquios no pulmão (SPINOSA; GÓRNIK; BERNADI, 2011).

2.10.1 Levamisol e Tetramisol

Os princípios ativos levamisol e tetramisol possuem espectro de ação sobre estágios adultos da maioria dos nematódeos gastrintestinais de ruminantes (LANUSSE, 1996; MARTIN; ROBERTSON, 2007), porém, Reinemeyr e Courtney (2003) recomendaram que não sejam utilizadas em equinos, pois apresenta toxicidade, independente da apresentação comercial e nem para vacas no período de lactação. Segundo Taylor, Coop e Wall (2007), levamisol é não-teratogênico e, portanto, é seguro o uso em animais prenhes, entretanto o índice terapêutico em relação aos outros anti-helmínticos é baixo, podendo ocorrer casos em que os animais ficam hiperativos por alguns minutos após receberem a dose terapêutica recomendada.

No Brasil o levamisol é bastante utilizado em ruminantes e Starling et al. (2017) avaliaram vários anti-helmínticos no controle de nematoides em ovinos, sendo o de melhor atividade o levamisol.

2.11 CLORSULON

Quimicamente denominado de 4-Amino-6(trichlorovinyl)-1,3- benzenedisulfonamide, é da família das benzenosulfonamidas, é recomendado como trematoidicida para os bovinos, tendo ação no controle de *F. hepatica* e *F. gigantica*, administrado como suspensão para uso oral ou em formulações injetáveis para administração subcutânea, sendo frequentemente utilizado em associação com ivermectina (VIANA et al., 2000).

2.12 COMBINAÇÕES DE AMPLO ESPECTRO

Na rotina clínica busca-se sempre a facilidade de um produto que apresente um espectro de ação sobre a maior diversidade de parasitos. Nesse sentido, os produtos de amplo espectro apresentam vantagens importantes pois, além de utilizar um mesmo produto que funcione para mais de um tipo de parasito, tem-se a diminuição da administração de vários produtos diferentes de uma só vez ao paciente, o que torna a administração facilitada e completa. Por isso, as formulações com princípios ativos combinados vem sendo foco de estudos (BOWMAN, 2010).

Os exemplos de associações que estão inseridos no mercado hoje são para os bovinos (ivermectina e clorsulon), para equinos a associação de ivermectina e praziquantel ou moxidectina e praziquantel, e as formulações de associação para cães e gatos com febantel, praziquantel, pamoato de pirantel e ivermectina, visando o controle dos principais nematoides gastrintestinais e controle de dirofilariose (BOWMAN, 2010).

Para alguns grupos de animais, continuam sendo recomendados uso de moléculas individuais, como as avermectinas, que ainda são os principais ativos no controle de helmintos de suínos e aves (SPINOSA; GÓRNIAK; BERNADI, 2011).

3 CONCLUSÕES

A revisão mostrou uma grande variedade de moléculas com ação anti-helmíntica, com diferentes mecanismos de ação, bem como indicações específicas, o que leva a limitações no uso e restrições em algumas espécies e ações específicas em alguns helmintos.

4 REFERÊNCIAS

- AGARWAL, A. K. Ivermectin. In: WEXLER, P. **Encyclopedia of toxicology**, San Diego: Academic Press, 1998, p. 89–90.
- AKASHI, K. T.; SAKAMOTO, C. A. M.; MARTINEZ, A. C. **Classificação e ação de anti-helmínticos em ruminantes: Revisão de Literatura**. In: II Simpósio em Produção Sustentável e Saúde Animal, 2, 2017, Umuarama. Anais do II Simpósio em Produção Sustentável e Saúde Animal, 2017. v. 1, p. 190-197.
- ALVES, D. P.; MARTINS, I. V. F. Atualizações no controle parasitário da fasciolíase em bovinos. **Enciclopédia Biosfera – Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 9, n. 16; p. 323, 2013.
- AMARANTE, A. F. T. et al. Survey of anthelmintic treatment with oxfendazole, ivermectin and levamisole in sheep flocks. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 1, p. 31-38, 1992.
- ANDRADE, S. F. **Manual de terapêutica veterinária**. 3 ed. São Paulo: Roca, 2008.
- ARIEL, T.; LOURDES, V.; WILLY, M. L.; MANUEL, L. M.; Determinação da eficácia anti-helmíntica de albendazol e fenbendazol em *Moniezia expanza* (Rudolphi 1810) e *Thysanosoma actinioides* (Giesing 1834) (Cestoides Anoplocephalidae) em crioulos ovinos infectados naturalmente em uma estadia da comunidade de Comanche, County Pacajes Departamento de O La Paz, Bolívia. **Journal of the Selva Andina Research Society**, v. 2, n. 1, p. 2-16, 2011.
- BAHMANI, M. et al. A review on most importante herbal and synthetic antihelmintic drugs. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 7, n. 1, p. 29-33, 2014.
- BALDANI, L. A.; DE SOUSA, R. V.; MIGUEL, A. G. **Farmacologia dos principais antiparasitários de uso na medicina veterinária**. Caderno Técnico. Universidade Federal de Lavras, 1999. 40 p.
- BARBOSA, F. C. et al. Eficácia anti-helmíntica da ivermectina em equinos: exames coproparasitológicos e hematológicos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, p. 1-12, 2018.
- BARROS, C. M.; DI STASI, L. C. **Farmacologia veterinária**. Barueri: Manole, 2012.

- BENAVIDES, Y. M. H.; AYOLA, S. C. P.; ÁLVAREZ, J. A. C. Eficácia de la doramectina via intramuscular em nematodos gastrointestinales en equinos. **Revista Medicina Veterinária**, n. 29, p. 41-49, 2015.
- BISHOP, B. F. et al. Selamectin: a novel broad spectrum endectocide for dogs and cats. **Veterinary Parasitology**, v. 91, p. 163, 2000.
- BOGAN, J.; ARMOUR, J. Anthelmintic for ruminants. **International Journal for Parasitology**, v. 17. p. 483-491, 1987.
- BOOTH, N. H.; McDONALD, L. E. **Farmacologia e terapêutica em veterinária**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1992.
- BOWMAN, D. D. **Georgis – parasitologia veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
- CAMPBELL, W. C. et al. Ivermectin: a potente new antiparasitic agent. **Science**, v. 221, p. 823–828, 1983.
- CAMPOS, D. R. et al. Eficácia de associações anti-helmínticas no controle de infecções naturais por *Ancylostoma* spp. em cães, *Ancylostoma* spp. e *Toxocara cati* em gatos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 35, n. 2, p. 85-89, 2013.
- CAMPOS, N. C. et al. Infecção natural por *Platynosomum fastosum* em felinos domésticos no município de Alegre, Espírito Santo e sucesso no tratamento com praziquantel. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 12, n. 1, p. 17-21, 2018.
- CARVALHO, R. O.; ARAÚJO, J. V. Eficácia do fenbendazol e do pamoato de pirantel sobre nematoides intestinais de cães. **Revista Ceres**, v. 56, n. 3, p. 303-307, 2009.
- CHAPMAN, M. R. et al. Identification and characterization of a pirantel pamoate resistant cyathostome population. **Veterinary Parasitology**, v. 66, p. 205-212, 1996.
- CHAVIANO, Y. G. et al. Evaluación de la actividad del albendazol y el triclabendazol en rebaños de ovinos infectados por *Fasciola hepatica*. **Revista de Produção Animal**, v. 28, n.1, p. 44-47, 2016.
- COUMENDOUROS, K. et al. Eficácia anti-helmíntica da eprinomectina no controle de nematoides gastrintestinais de bovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 3, p. 121-124, 2003.
- CONDI, G. K.; SOUTELLO, R. G.; AMARANTE, A. F. Nematoides resistentes à moxidectina em bovinos no Brasil. **Veterinary Parasitology**, v. 161, n. 3-4, p. 213-217, 2009.
- DORNY, P. et al. Control of haemonchosis in Malasyan goats with closantel. **Veterinary Parasitology**, v. 53, p. 233-241, 1994.
- ECHEVARRIA, F. A.; PINHEIRO, A. C. Ação do disofenol e do niclofolan em bovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 14, n. 2, p. 155-157, 1979.

EDITORA DE PUBLICAÇÕES BIOMÉDICAS. **Índice Terapêutico Veterinário**. 3 ed. Petrópolis: EPUB, 2007.

EOM, K. S.; KIM, S. H.; RIM, H. J. Efficacy of praziquantel (cestocide Cesocide® injection) in treatment of cestode infections in domestic and laboratory animals. **Korean Journal of Parasitology**, v. 26, n. 2, p. 121-126, 1988.

FERNANDES, S. et al. Protocolo de parasitoses intestinais. **Acta Pediatrica Portuguesa**, v. 43, n. 1, p. 35-41, 2012.

FIOCRUZ. **Farmanguinhos praziquantel**. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, 2016. Disponível em: < <https://www.far.fiocruz.br/wp-content/uploads/2016/12/2016-12-19-DMG-Praziquantel-Prof-sa%C3%BAde-.pdf>> Acesso em: 05 jul. 2019.

FURLONG, J.; PRATA, M. C. A.; MARTINS, J. R. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar? **Hora Veterinária**, v. 27, p. 26-32, 2007.

GARCIA-ARECE, J. et al. Diagnóstico de resistência al albendazol sulfóxido em ovejas y cabras, en la provincia de Matanzas. **Pastos y Forrajes**, v. 39, n. 4, p. 268-272, 2016.

GARCIA, F. et al. Eficiência del nitroscanato em perros naturalmente infectados com *Toxocara canis* y *Ancylostoma spp*. **Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias**, v. 11, n. 2, p. 157-162, 2001.

GENERUTTI, M.; SPINOSA, H. S.de. Avermectinas: Revisão do uso e da ação sobre o SNC. **Biotemas**, v. 10, n. 2, p. 07-27, 1997.

GOMEZ, M. T. N.; ROMERO, H. Q. Efectos de tratamientos sistemáticos com nitroxinol em la reducción de huevos de *Fasciola hepatica* en ganado de lidia. **Veterinária Mexico**, v. 25, n. 4, p. 341-343, 1994.

HOLSBACK, L. et al. Anthelmintic efficiency of doramectin, fenbendazole, and nitroxynil, in combination or individually, in sheepworm control. **Brazilian Journal Veterinary Parasitology**, v. 25, n. 3, p. 353-358, 2016.

HOLSTE, J. E. et al. Eprinomectin: a novel avermectin for control of lice in all classes of cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 73, p. 153-161, 1997.

HOSKING, B. C. et al. A pooled analysis of the efficacy of monepantel, an amino-acetonitrile derivative against gastrointestinal nematodes of sheep. **Parasitology Research Journal**, v. 106, n. 2, p. 529-532, 2010. PMID:19795134. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-009-1636-1>

LANKAS, G. R.; GORDON, L. R. Toxicology. In: CAMPBELL, W. C. **Ivermectin and Abamectin**, New York: Springer-Verlag. 1989. p. 89-112.

LANUSSE, C. E.; PRICHARD, R. K. Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminant anthelmintics. **Veterinary Parasitology**, v. 49, n. 2/4, p. 123-158, 1993.

- LANUSSE, C. E. Farmacologia dos compostos anti-helmínticos. In: CHARLES, T. P. **Controle de nematóides gastrintestinais em ruminantes**. Juiz de Fora: Terezinha Padilha, p. 1-44, 1996.
- LANUSSE, C. E.; ALVAREZ, L. I.; LIFSCHITZ, A. L. Princípios farmacológicos da terapia anti-helmíntica. In: CAVALCANTE, A. C. R. et al. **Farmacologia veterinária de pequenos animais**. 2 ed., Rio de Janeiro: Elsevier Editora, 2010.
- LEÃO, A. G. C. de et al. Eficácia do albendazole, sulfóxido de albendazole e do clorsulon no controle da fasciolose em bovinos leiteiros. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n. 1, p. 11-14, 2012.
- LIMA, W. C. et al. Nematoides resistentes a alguns anti-helmínticos em rebanhos caprinos no Cariri Paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 12, p. 1003-1009, 2010.
- LIVROZILLA. **Disofenol Ibaso 20%**. Disponível em: <http://livrozilla.com/doc/1316465/fazer-da-bula-em-pdf>>. Acesso em: 07 jul. 2019.
- LOPES, W. D. Z. et al. Anthelmintic efficacy of oral trichlorfon solution against ivermectin resistant nematode strains in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 166, p. 98-102, 2009.
- LOPES, W. D. Z et al. Resistência de *Haemonchus placei*, *Cooperia punctata* e *Oesophagostomum radiatum* à ivermectina pour-on a 500mcgkg-1 em rebanhos bovinos no Brasil. **Ciência Rural**, v. 44, n. 5, 2014.
- LYONS, E. T.; DORTON, A. R.; TOLLIVER, S. C. Evaluation of activity of fenbendazole, oxibendazole, piperazine, and pyrantel pamoate alone and combinations against ascarids, strongyles, and strongyloides in horse foals in field tests on two farms in Central Kentucky in 2014 and 2015. **Veterinary Parasitology**, v. 3, n. 4, p. 23-26, 2016.
- MADDISON, J. E; PAGE, S. W; CHURCH, D. B. **Farmacologia veterinária de pequenos animais**. 2 ed., Rio de Janeiro: Elsevier Editora, 2010.
- MARTINS, I. V. F. et al. Eficácia do praziquantel no controle de cestoides de galinhas domésticas. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 2, p. 58-60, 2003.
- MARTIN, R. J.; ROBERTSON, A. P.; BJORN, H. Target sites of anthelmintics. **Parasitology**, v. 114, p. 111-124, 1997.
- MARTIN, R. J.; ROBERTSON, A. P. Mode of action of levamisole and pyrantel, anthelmintic resistance. E153 and Q57. **Parasitology**, v. 134, p. 93-104, 2007.
- MCKELLAR, Q.A.; SCOTT, E.W. The benzimidazole antihelmintics-a review. **Journal Veterinary Pharmacology Therapy**, v.13, p. 223, 1990.
- MCTIER, T. L. et al. Comparison of the activity of selamectin, fipronil, and imidacloprid against flea larvae (*Ctenocephalides felis felis*) *in vitro*. **Veterinary Parasitology**, v. 116, n. 1, p. 45-50, 2003.

- MOLINARI, G.; SOLONESKI, S.; LARRAMENDY, M. L. New ventures in the genotoxic and cytotoxic effects of macrocyclic lactones, abamectin and ivermectin. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 128, n. 37–45, 2010.
- MORAES, F. R. et al. Eficácia de dois sistemas de tratamento anti-helmíntico em filhotes de cães com infecção natural. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 1, p. 61-66, 2004.
- NASCENTE, P. S. **Estudo da população de *Malassezia pachydermatis* em otite externa canina e avaliação da sensibilidade *in vitro* e *in vivo* frente a antifúngicos**. 2006. 135 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Porto Alegre, 2006.
- NOVAES, M. R. C. G; SOUZA, J. P. de.; ARAÚJO, H. C. de. Síntese do anti-helmíntico praziquantel, a partir da glicina. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 5-10, 1999.
- ODUNAYO, A.; KERL, M. Ivermectin toxicosis in dogs. **Clinician's Brief**, p. 63-66, 2012.
- OLIVERIA, P. A. et al. Eficácia de diferentes fármacos no controle parasitário em ovinos. **Science and Animal Health**, v. 2, n. 2, p. 126-136, 2014.
- RANG, H. P. et al. **Rang & Dale Farmacologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2007.
- RANGEL, V. B. et al. Resistência de *Cooperia* spp. e *Haemonchus* spp. as avermectinas em bovinos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 2, p. 186-190, 2005.
- REINEMEYER, C. R.; COURTNEY, C. H. Quimioterapia da doença parasitária. In: ADAMS, H. R. **Farmacologia e terapêutica em veterinária**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2003. p. 792-818.
- RIBEIRO, V. L. S. et al. **Ocorrência de *Malassezia pachydermatis* em número elevado nos condutos auditivos externos sãos e com otite externa de cães**. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 25, Gramado, RS. CBMV, 1997. p. 1-5.
- SCOTT, D. W.; MILLER, W. H.; GRIFFIN, C. E. Parasitic skin diseases. In: MULLHER; KIRK. **Small animal dermatology**. 6. edição. Philadelphia: Saunders. 2001. p. 490-500.
- SHI, F. H. et al. The efficacy of triclabendazole (Fasinex) against immature and adult *Fasciola hepatica* in experimentally infected cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 33, p. 117–124, 1989.
- SHOOP, W. L.; MROZIK, H.; FISHER, M. H. Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health. **Veterinary Parasitology**, v. 59, n. 2, p. 139-156, 1995.
- SILVA, D. G. da. et al. Eficácia anti-helmíntica comparativa entre diferentes princípios ativos em ovinos jovens. **PUBVET**, v. 11, n. 4, p. 356-362, 2017.
- SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA SAÚDE ANIMAL – SINDAN. Disponível em:<<http://www.sindan.org.br>>. Acesso em 24 jul. 2019.

SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNADI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**, 5. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

STARLING, R. Z. C. et al. Diagnóstico *in vivo* da sensibilidade de nematoides a diferentes anti-helmínticos em ovinos criados em sistema semiintensivo. **Archives of Veterinary Science**, v. 22, n. 2, p. 38-47, 2017.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Veterinary parasitology**. 3. edição. Blackweell: Publishing. 2007.

URQUHART, G. M. et al. **Parasitologia veterinária**, 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

VIANA, F. A. B. et al. **Fundamentos da medicina veterinária**, Belo Horizonte: UFMG, v. 1, 2000.

VIANA, F. A. B. **Guia terapêutico veterinário**. 3. ed. Lagoa Santa: Editora Cem. 2014.

VIEIRA, L. S. et al. Métodos alternativos de controle de nematoides gastrintestinais em caprinos e ovinos. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 2, n. 2, p. 49-56, 2009.

WALL, R., SHEARER, D. **Veterinary ectoparasites – biology, pathology and control**. 2. ed. Oxford: Blackwell Science Ltd, 2001.

WEBSTER, C. R. L. **Farmacologia clínica em medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2005. XII, 155 p.



Capítulo
17

**Ação de compostos naturais e sintéticos sobre tecidos de
carrapatos do gênero *Rhipicephalus***

Gabriela Rocha de Assunção¹
Vanderson de Ataíde Paulucio²
Adilson Vidal Costa³
Vagner Tebaldi de Queiroz⁴

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

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

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

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

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, o carrapato está entre os cinco parasitos de bovinos de maior importância econômica e sanitária, representando perda anual estimada em 3,23 bilhões de dólares (PEREIRA et al., 2014). Além disso, os carrapatos são vetores de vários microrganismos, como *Anaplasma*, *Rickettsia*, *Babesia*, *Erlichia*, entre outros causadores de doenças em mamíferos, incluindo humanos (BLAGBURN; DRYDEN, 2009; DE OLIVEIRA et al., 2019).

O conhecimento sobre os acaricidas e os efeitos destes sobre este parasito constituem parte das estratégias disponíveis para reduzir os prejuízos causados pelos carrapatos. Assim, a aplicação de técnicas de análise morfológica tem se mostrado uma importante ferramenta em avaliações do potencial de compostos acaricidas (CAMARGO-MATHIAS et al., 2017; SREELEKHA et al., 2017).

As alterações observadas nos ovários e no sistema digestório de carrapatos tem sido alvo de estudos e podem fornecer informações importantes de possíveis danos em seu desempenho reprodutivo e alimentar, quando expostos a tratamentos com compostos sintéticos e naturais (REMEDIO et al., 2015). A análise ultraestrutural de ovário de carrapatos, por exemplo, pode ser empregada como ferramenta para avaliar o potencial tóxico de acaricidas químicos, e dessa forma, contribuir no desenvolvimento de novos compostos a serem utilizados no controle deste parasito (SREELEKHA et al., 2017).

O uso prolongado de acaricidas com mesmo princípio ativo favorece o estabelecimento de resistência em populações de carrapatos, gerando ineficiência dos produtos nas gerações futuras. Dessa forma, a avaliação do mecanismo de ação de compostos com potencial de ação no controle desse parasito, se torna essencial para o desenvolvimento de novos produtos acaricidas, em detrimento aos já utilizados (RODRIGUEZ-VIVAS; JONSSON; BHUSHAN, 2018).

Assim, o objetivo desse capítulo foi abordar os efeitos de compostos sintéticos e naturais sobre tecidos de carrapatos do gênero *Rhipicephalus* visando destacar o potencial de princípios ativos alternativos no controle de carrapatos.

2 O GÊNERO *Rhipicephalus*

Carrapatos pertencentes ao gênero *Rhipicephalus* são classificados no filo Arthropoda, possuindo apêndices articulados e exoesqueleto de quitina. Pertencem a classe Arachnida, subclasse Acari, ordem Ixodida e família Ixodidae (KRANTZ; WALTER, 2009).

Na classe Arachnida estão classificados inúmeros ácaros parasitos. Os indivíduos da subclasse Acari se diferenciam morfologicamente por possuírem cabeça/tórax fundidos e apresentam na região anterior do corpo um conjunto de peças bucais quitinizadas (gnatossoma), através do qual o carrapato se fixa no hospedeiro. Constituem indivíduos de corpo com formato variado e podem aumentar consideravelmente de tamanho em função do repasto sanguíneo em seu hospedeiro (REY, 1973; RUPPERT et al., 2005).

O corpo das espécies Ixodidae se caracteriza por ser coberto por uma placa dorsal quitinosa, com superfície contendo manchas, depressões e desenhos (REY, 1973).

O gênero *Rhipicephalus* abrange cerca de 84 espécies de carrapatos (GUGLIELMONE et al., 2010), onde destacam-se as espécies *Rhipicephalus microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* (ANDREOTTI; KOLLER, 2013). São parasitas hematófagos de animais vertebrados e as fases de vida desses carrapatos consistem em: ovo, larva, ninfa e adulto (Figura 1) (ESTRADA-PEÑA, 2015).

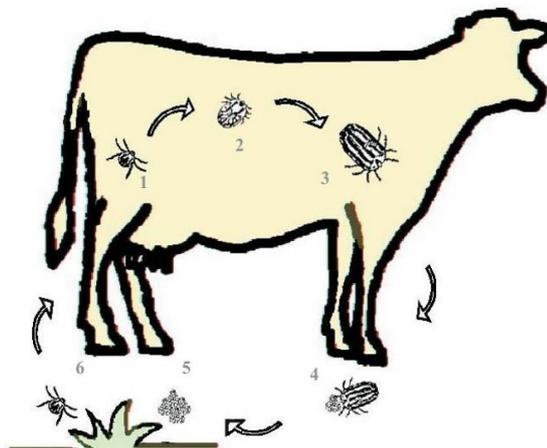


Figura 1: Representação do ciclo de vida do carrapato da espécie *Rhipicephalus microplus*. Fase parasitária: 1) larva infectante realizando a fixação no bovino; 2) ninfa; 3) teleógina em estágio final de ingurgitamento. Fase de vida livre: 4) teleógina logo após desprendimento, em período de postura no solo; 5) ovos, no solo, em período de incubação; 6) larva, no solo, em período de incubação.

Fonte: Andreotti et al., 2002.

Rhipicephalus microplus é uma espécie do subgênero *Boophilus* que ocorre no Brasil, parasitando preferencialmente bovinos (Figura 2A). A espécie foi reclassificada por Murrel e

Barcker (2003), através de estudo molecular e morfologia onde *Boophilus* passou a ser subgênero. E entre os cinco gêneros de ixodídeos encontrados no país (*Rhipicephalus*, *Haemaphysalis*, *Dermacentor*, *Amblyoma* e *Ixodes*), a espécie *Rhipicephalus* (*B.*) *microplus* se destaca em relação ao impacto econômico gerado na pecuária brasileira (ANDREOTTI; GARCIA; KOLLER, 2019).

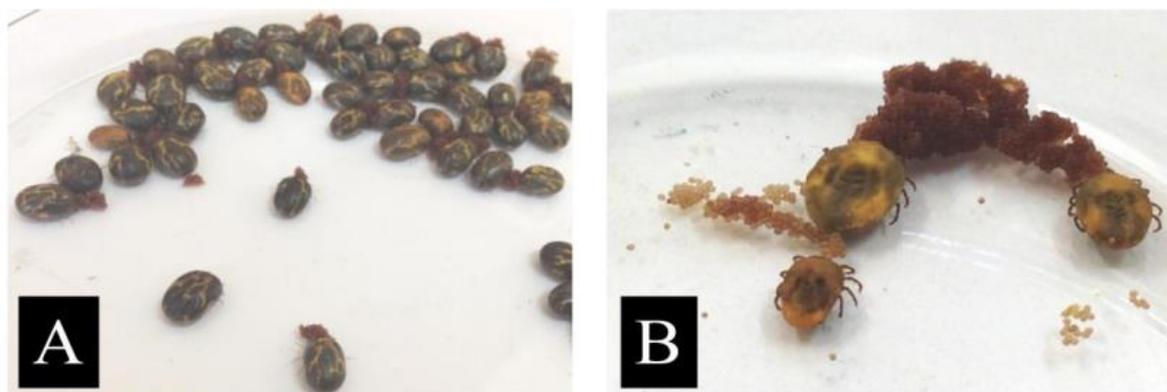


Figura 2: Fêmeas adultas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* (A) e *Rhipicephalus sanguineus* (B) fazendo postura de ovos
Fonte: Araújo 2015.

Já a espécie *Rhipicephalus sanguineus* (Figura 2B), apesar de não causar relevante perda econômica por ter como principal hospedeiro o cão doméstico, tem grande importância sendo responsável por problemas em saúde pública, visto que pode ser transmissora de doenças e parasitar o ser humano (RODRÍGUEZ-VIVAS et al., 2016).

Essas duas espécies do gênero *Rhipicephalus* se diferenciam morfologicamente em função da quantidade de pares de placas adanais e formato do peritrema. Nos carrapatos machos da espécie *R. sanguineus* observa-se um par de placas adanais desenvolvidas e geralmente um par pouco desenvolvido, com peritrema em forma de vírgula (Figura 3A), enquanto os indivíduos machos da espécie *R. microplus* possuem dois pares de placas adanais bem desenvolvidas e peritrema circular (Figura 3B) (MARTINS et al., 2007).

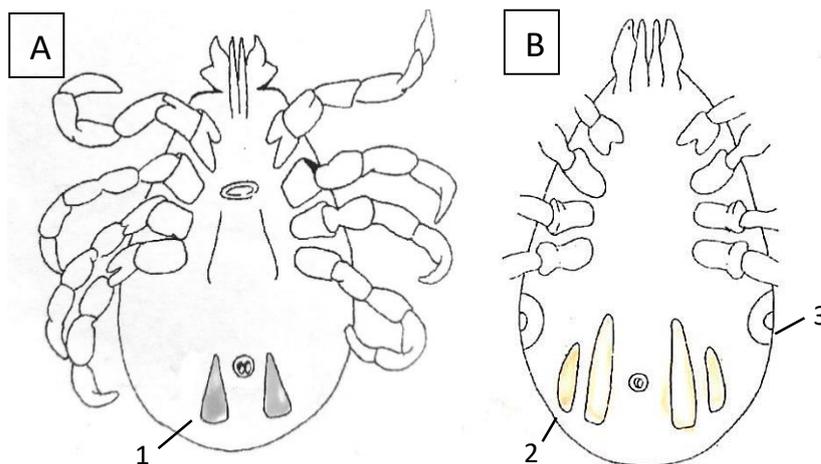


Figura 3: A - Representação de vista ventral do carrapato macho de *Rhipicephalus sanguineus*. 1 - Um par de placas adanais desenvolvidas; e B - do carrapato macho da espécie *Rhipicephalus microplus*. 2 - Segundo par de placas adanais; 3 - Peritreme circular.

Fonte: Adaptado de Martins et al., 2007.

O carrapato é um ectoparasita hematófago obrigatório, gerando prejuízos decorrentes de sua ação direta sobre o hospedeiro causando anemia e lesões na pele, bem como perdas relacionadas à transmissão de patógenos (BIEGELMEYER et al., 2012).

O estudo dos processos reprodutivos e alimentares dos carrapatos pode auxiliar em estratégias de controle e serem utilizados como parâmetros na análise da ação de acaricidas. Assim, as alterações morfológicas em ovários, glândulas salivares e intestino destes animais têm sido utilizadas na avaliação do potencial acaricida de compostos naturais e sintéticos (CAMARGO-MATHIAS et al., 2017; DENARDI et al., 2011; NODARI et al., 2012; PRADO-OCHOA et al., 2014; SOUSA et al., 2014).

As glândulas salivares de carrapatos ixodídeos são órgãos vitais para sua sobrevivência. Estas são consideradas como as principais rotas para a transmissão de patógenos ao hospedeiro, sendo estruturas pares e ramificadas, dispostas anterolateralmente e que se estendem em ambos os lados do corpo do animal. Suas principais funções incluem a absorção do vapor de água do ar, excreção de fluidos para a concentração do sangue ingerido, e secreção de compostos bioativos durante a alimentação (SAUER; ESSENBERG; BOWMAN, 2000). Tais glândulas são formadas por uma porção secretora, composta por ácinos arredondados, e por uma porção excretora, constituída por ductos de transporte da secreção (ARNOSTI et al., 2013). O processo de alimentação do carrapato é de grande importância para a reprodução desse parasito, assim a análise dos efeitos de compostos químicos sobre glândulas salivares é de grande relevância (PEREIRA et al., 2011).

O sistema digestório dos carrapatos está dividido morfo-histologicamente em três regiões: intestino anterior (estomodeu), médio (mesenteron), e posterior (proctodeu), sendo o intestino médio alvo da maior parte dos estudos por sua complexidade e atividades multifuncionais (CAPERUCCI; BECHARA; CAMARGO-MATHIAS, 2010). O intestino médio de carrapatos em jejum consiste de epitélio pseudoestratificado sobre membrana basal e envolto por camadas de músculos distribuídos circular e longitudinalmente em sua região externa. As células digestivas destes são utilizadas para a absorção de componentes (hemoglobina), para a realização da fagocitose das fases fluídas do sangue e em processos de formação e de excreção dos resíduos digestivos (SONENSHINE, 1991).

Já o sistema reprodutor das fêmeas de carrapatos ixodídeos consiste em ovário não pareado em forma de U, dois ovidutos e um único útero, além de glândulas acessórias e uma abertura genital (COONS; ALBERTI, 1999). A fêmea pode colocar de 2000 a 4000 ovos (CAMPOS et al., 2012).

3 ACARICIDAS SINTÉTICOS E NATURAIS

O controle convencional do *Rhipicephalus microplus* nas últimas décadas vem demonstrando ineficácia, o que gerou aumento de populações de carrapatos resistentes às formulações comercialmente disponíveis (BIEGELMEYER et al., 2012; RODRIGUEZ-VIVAS; JONSSON; BHUSHAN, 2018).

Aplicações constantes de acaricidas de uso convencional e o descarte inadequado das embalagens têm contribuído para o aumento da resistência dos carrapatos aos produtos utilizados, intoxicação de animais, resíduos em produtos de origem animal e contaminação de solos e águas. Por outro lado, tais problemas impulsionaram novas pesquisas científicas para o desenvolvimento de métodos alternativos de controle deste parasito (CAMPOS et al., 2012).

No gênero *Rhipicephalus*, a espécie *R. sanguineus* tem como principal hospedeiro o cão, e podem parasitar os seres humanos. Isso traz sérias consequências, pois os carrapatos podem transmitir microrganismos patogênicos para animais domésticos, de companhia e selvagens, podendo até exercer o papel de reservatórios de zoonoses (DE OLIVEIRA, 2019). Considerando a importância dos carrapatos na saúde pública, a dificuldade de controle destes ectoparasitas, e as perdas econômicas causadas por eles, a busca por novos métodos de controle

e novos compostos capazes de incapacitar a continuidade do ciclo do parasito tem sido de grande relevância para a comunidade científica (CAMARGO-MATHIAS et al., 2017).

3.1 ACARICIDAS SINTÉTICOS

O início da utilização de acaricidas sintéticos ocorreu por volta do ano de 1949 com o desenvolvimento de carrapaticidas arsênicos (FURLONG; MARTINS; PRATA, 2004). Atualmente no mercado estão disponíveis carrapaticidas químicos de contato (piretróides sintéticos, organofosforados, fenilpirazóis e amidínicos) e os carrapaticidas sistêmicos (lactonas macrocíclicas e difluorobenzoilureia) (HIGA et al., 2019).

Os piretróides foram os acaricidas mais vendidos nas últimas décadas, correspondendo a, aproximadamente, um terço de todos os pesticidas utilizados no mundo (CAMPOS et al., 2012). Originalmente o composto piretrina era obtido de plantas do gênero *Chrysanthemum*, sendo desenvolvidos posteriormente os piretróides sintéticos, que possuíam vantagem de serem mais estáveis, menos tóxicos, não acumularem no tecido animal e com efeito mais duradouro (SODERLUND et al., 2002).

Já para as lactonas macrocíclicas, foram disponibilizados no mercado dois grupos: as avermectinas (abamectina, ivermectina, doramectina, eprinomectina e selamectina) e a moxidectina. As benzofenilureas agem inibindo a produção de quitina, impedem mudança de fase e crescimento do carrapato e a eclosão de ovos, controlando assim a população de carrapatos na pastagem (FURLONG; MARTINS; PRATA, 2007).

A administração incorreta dos acaricidas, como a superdosagem ou o uso constante do mesmo princípio ativo, pode causar o desenvolvimento de populações de carrapato resistentes aos produtos comerciais disponíveis no mercado, fazendo com que o controle da espécie seja praticamente inviável nesta situação (LE GALL; KLAFKE; TORRES, 2018).

Mudanças no metabolismo e eliminação do ingrediente ativo, redução na taxa de penetração e alterações no local de ação do produto são alguns dos mecanismos em que as populações de carrapatos podem sobreviver a aplicação de carrapaticidas. A resistência de uma população de carrapatos a determinado produto pode ainda estender-se para outros produtos químicos da mesma família ou grupo químico (FURLONG; MARTINS; PRATA, 2007).

Os carrapaticidas organofosforados, amidínicos, piretróides sintéticos e fenilpirazóis, de aplicação tópica, podem ser aplicados por meio de pulverização, imersão ou “pour on”. Após a aplicação, o produto penetra pelos orifícios ou pela cutícula do carrapato promovendo a

intoxicação e a morte do parasito. Já carrapaticidas sistêmicos são metabolizados e distribuídos pelo corpo do hospedeiro, chegando até aos parasitos por meio da circulação e promovendo a intoxicação destes. Estes carrapaticidas podem ser aplicados por meio de injeções intramusculares ou subcutâneas, por derrame dorsal no lombo do bovino, ou também por pulverização (FURLONG; MARTINS; PRATA, 2007).

Então, por razões como a resistência dos carrapatos aos produtos químicos, o alto custo destes, resíduos tóxicos na carne e no leite e também a contaminação do ambiente, têm-se buscado novos métodos alternativos no controle do carrapato, como a utilização de princípios ativos naturais (DE OLIVEIRA et al., 2019).

3.2 ACARICIDAS NATURAIS

A necessidade de se encontrar alternativas ecologicamente seguras e sustentáveis para o controle de pragas, em substituição ao controle químico convencional, tem alavancado o estudo de biopesticidas, principalmente aqueles derivados de espécies vegetais (BRAHMACHARI, 2004).

Estudos visando identificar compostos com propriedades inseticidas e ou acaricidas em plantas vem ganhando importância sendo, a utilização de plantas medicinais, considerada uma alternativa a resistência recorrente aos produtos químicos carrapaticidas (PARVEEN et al., 2014).

Dentre as vantagens da utilização de substâncias extraídas de plantas no controle de parasitos, comparado ao emprego de compostos sintéticos, pode-se citar a rápida degradação dos pesticidas naturais, o fácil acesso e obtenção, baixo custo de produção, além de não deixar resíduos em alimentos. Mas, uma das principais vantagens é que o desenvolvimento de resistência dos parasitos a esses compostos se torna um processo lento, devido a sua composição variada contendo, muitas vezes, vários princípios ativos (ROEL, 2001).

Segundo Jacobson (1989), as espécies botânicas mais usadas como plantas acaricidas pertencem às famílias Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Annonaceae, Lamiaceae e Canellaceae. E, em vários países, extratos vegetais de folhas, frutos e sementes da família Meliaceae têm sido estudados para o controle de parasitos, entre eles, o carrapato bovino (BROGLIO-MICHELETTI et al., 2009). As plantas com atividade acaricida podem atuar

inibindo a oviposição e alimentação, prejudicando o desenvolvimento e acarretando em infertilidade e mortalidade nas diversas fases do parasito (ROEL, 2001).

A utilização de óleos essenciais no controle de carrapatos tem sido um dos focos principais de pesquisas demonstrando resultados promissores. Estes óleos são considerados misturas complexas, podendo conter entre dois e 60 componentes químicos diferentes incluindo monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides (CAMPOS et al., 2012). Segundo Romero (2008), os óleos essenciais que apresentam compostos como timol, carvacrol, geraniol, citronelal e linalool, apresentam efeito antiparasitário comprovado.

A utilização de óleos de plantas de forma integrada com acaricidas sintéticos para o controle do carrapato podem contribuir para a redução de riscos de contaminação alimentar e ambiental, promover baixa toxicidade a animais e o lento desenvolvimento de populações de parasitos resistentes a estes biopesticidas (ROEL, 2001).

4 EFEITOS DE COMPOSTOS SINTÉTICOS E NATURAIS SOBRE TECIDOS DE CARRAPATOS DO GÊNERO *Rhipicephalus*

4.1 COMPOSTOS SINTÉTICOS

O fipronil, agente químico acaricida usado em produtos veterinários, atua inibindo o complexo do ácido gama-aminobutírico (GABA), o que resulta em atividade não controlada do sistema nervoso central e morte dos carrapatos (DENNY, 2001). Outros estudos apontam que o composto também tem ação sobre o sistema reprodutivo dos carrapatos, causando mudanças morfológicas e funcionais das células germinativas (OLIVEIRA et al., 2009).

Em estudo realizado por Pereira et al. (2011), foi verificado que as fêmeas adultas de *Rhipicephalus sanguineus*, submetidas a 10 ppm de fipronil apresentaram danos extensos nas glândulas salivares, resultando em alteração na sua morfologia, que passou de redonda para completamente irregular (Figura 4). O estudo ainda mostrou que o fipronil acelerou o processo de degeneração natural das glândulas salivares e diminuiu o número de ácinos presentes, prejudicando a função do órgão. Isso comprova que este acaricida não atua somente no sistema nervoso, mas também influencia no processo de alimentação dos carrapatos.

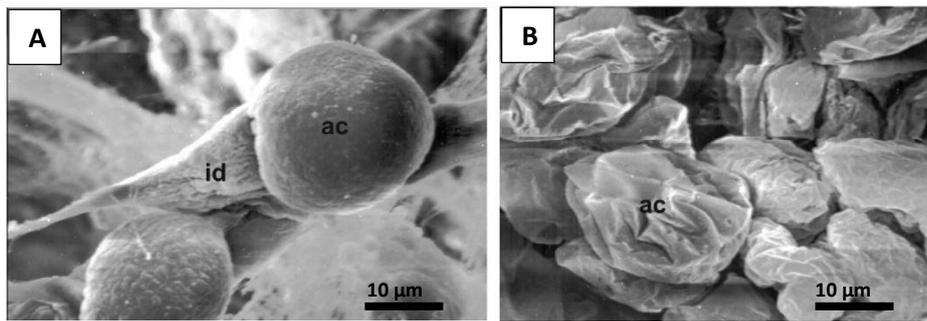


Figura 4: Micrografias eletrônicas de varredura (MEV) de glândulas salivares de fêmeas semi-ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus sanguineus*, grupo controle e grupo tratado com fipronil (10 ppm). (A) grupo controle. Acinos inteiros (ac) e ductos intermediários (id). (B) Grupo submetido a 10 ppm de fipronil. Acino (ac) com perda de turgescência ou completamente enrugado (encolhido) e de forma irregular.
Fonte: Adaptado de Pereira et al. (2011).

De Oliveira; Bechara; Camargo-Mathias (2008) observaram que a exposição de fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus* ao fipronil leva a danos e suscetibilidade de seus ovócitos em vários graus de desenvolvimento, reduzindo a fertilidade desses ectoparasitas. Uma das alterações apresentadas nos grupos expostos ao fipronil foi a presença de vacúolos no citoplasma dos oócitos, o que não ocorreu no grupo controle (Figura 5).

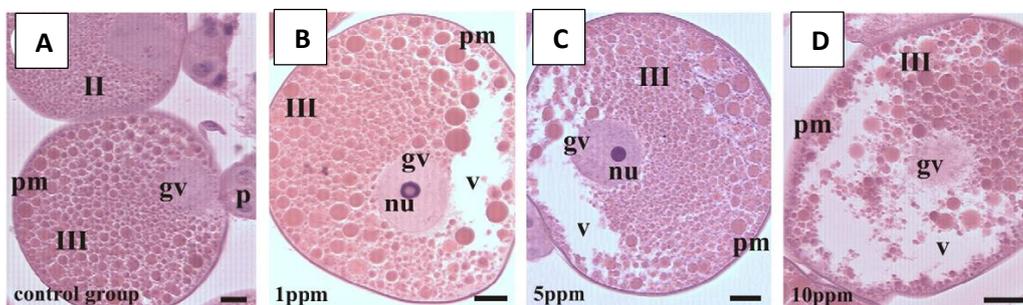


Figura 5: Cortes histológicas de ovário de *Rhipicephalus sanguineus* corados por H-E, grupo controle e grupos tratados com fipronil. (A) Detalhe dos oócitos estágios II e III do grupo I (controle). (B) Detalhe do oócito III do grupo II (1 ppm). (C) Detalhe do oócito III do grupo III (5 ppm). (D) Detalhe do oócito III do grupo IV (10 ppm). gv = vesícula germinativa; I = oócito estágio I; II = oócito estágio II; III = oócito estágio III; IV = oócito estágio IV; V = oócito estágio V; nu = nucléolo; p = pedicelo; pm = membrana plasmática; v = vacúolos. Barras: A – D = 0,02 mm.

Fonte: Adaptado de Oliveira; Bechara; Carmago-Mathias, 2008.

Em estudo avaliando a ação de dois etil carbamatos sintéticos (4-bromofenil e 4-clorofenil) sobre os órgãos reprodutivos de *Rhipicephalus microplus*, Prado-Ochoa et al. (2014) verificaram alterações morfológicas nos órgãos reprodutivos prejudicando a viabilidade das células germinativas ovarianas. O epitélio ovariano apresentou vacuolização e achatamento e os ovos produzidos pelos carrapatos tratados apresentaram alteração de aparência e diminuição de tamanho (Figura 6).

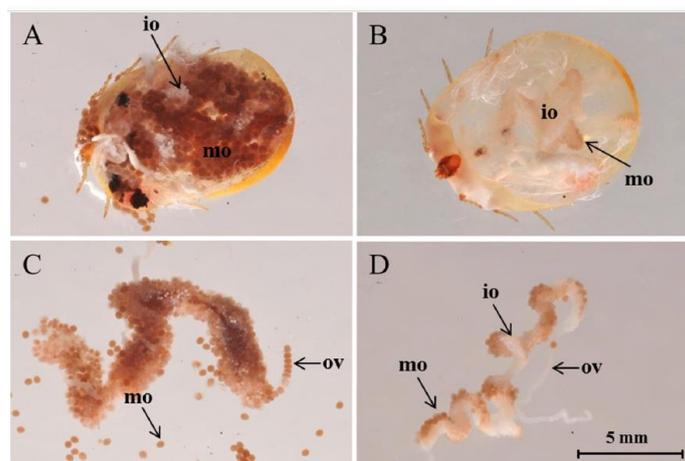


Figura 6: Observação estereoscópica dos órgãos reprodutores de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* do grupo tratado 5 dias após tratamento. A) Vista dorsal de fêmea ingurgitada do grupo não tratado (controle). B) vista dorsal de fêmea ingurgitada tratada com etil- (4-bromofenil) carbamato. C) Ovário de fêmea ingurgitada do grupo controle. D) ovário de fêmea do grupo tratado com etil- (4-bromofenil) carbamato. mo = oócitos maduros; io = oócitos imaturos; ov = oviduto.

Fonte: Prado-Ochoa et al. (2014).

Avaliando as alterações histológicas no intestino de fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus* expostas a selamectina, agente químico utilizado em antiparasitários, Araujo (2012) constatou que esse princípio ativo provocou desorganização do epitélio intestinal alterando a morfofisiologia das células digestivas dos carrapatos, levando-os a morte. Outra substância comumente presente em acaricidas é a permetrina. Esta substância causa distúrbios de impulsos nervosos, podendo os carrapatos sofrer desde excitação, até paralisia e morte (CAMARGO-MATHIAS, 2012). Em estudo que avaliou a ação da permetrina em fêmeas semi-ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*, Nodari et al. (2012), relataram a ocorrência de mudanças significativas no metabolismo da glândula salivar, acelerando o processo de degeneração dos tecidos e reduzindo a capacidade de secreção do órgão. Os autores concluíram que essas mudanças impedem as fêmeas de finalizarem o processo de alimentação e darem continuidade ao ciclo reprodutivo.

4.2 ACARICIDAS NATURAIS

Em estudos realizados com o óleo da semente de neem (*Azadirachta indica*) observou-se que este exerce influencia sobre a morfologia e a fisiologia de carrapatos. Remedio et al., (2016), em estudo avaliando as alterações morfológicas em glândulas salivares de carrapatos da espécie *Rhipicephalus sanguineus* expostos a este óleo, observaram a ocorrência de danos

morfológicos que podem indicar modificações na fisiologia das glândulas salivares. Os autores observaram que a vacualização ocorrida nas estruturas das glândulas salivares pode ter sido causada pelo efeito dos compostos do óleo de neem (Figura 7) sobre ácinos glandulares. Efeito este que apresenta semelhança às alterações observadas em carrapatos expostos ao fipronil e permetrina.

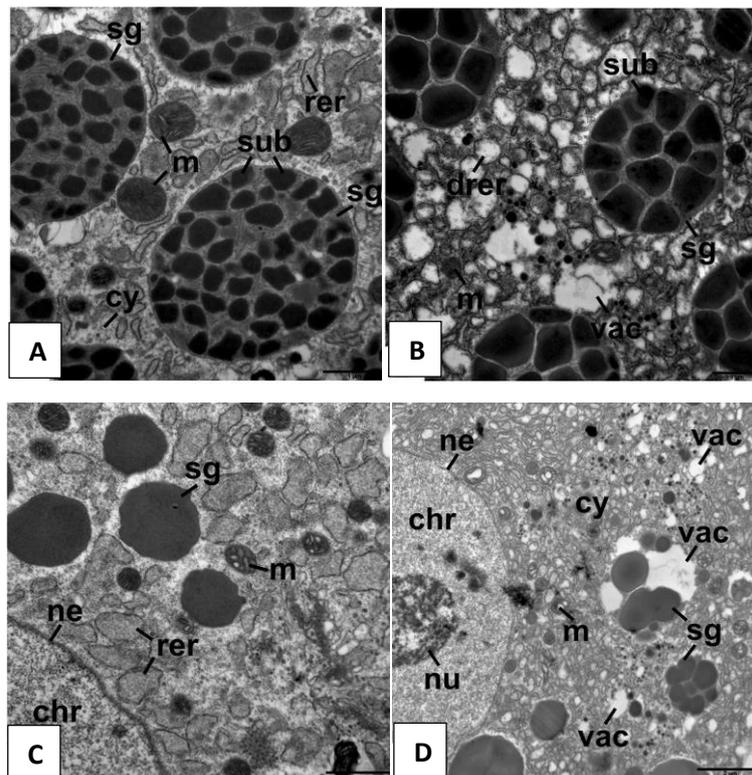


Figura 7: Micrografias eletrônicas de ácinos em glândulas salivares de carrapatos *R. sanguineus* do grupo controle, captadas por microscopia eletrônica de transmissão. Acino glandular grupo controle (A e C). Acino glandular grupo tratado (B e D). Legendas: (chr) cromatina, (cy) citosol, (m) mitocôndria, (ne) envoltório nuclear, (nu) nucleolo, (rer) retículo endoplasmático rugoso, (sg) grânulos de secreção, subunidades de grânulos secretórios (sub), (vac) vacualização.

Fonte: Remedio et al. (2016).

O éster do ácido ricinoléico do óleo de mamona (*Ricinus communis*), têm demonstrado eficiência no controle de ectoparasitas. Alguns estudos demonstraram que esses ésteres atuam na hidrólise de sacarídeos e na dissolução de lipídios em diferentes sistemas biológicos (CAMARGO-MATHIAS, 2012; MANDELBAUM; SANTIS; MANDELBAUM, 2003).

Em estudo realizado por Arnosti et al. (2011), os autores observaram a interferência de ésteres obtidos a partir do óleo de mamona sobre glândulas salivares de carrapatos *Rhipicephalus sanguineus*. Estas substâncias interferiram no ciclo secretório das glândulas, provocando alterações degenerativas e, conseqüentemente, efeitos colaterais danosos no processo de alimentação dos parasitos.

Acmella oleracea, popularmente conhecida como Jambu, é uma planta da família Asteraceae que apresenta diferentes atividades farmacológicas (FAVORETO; GILBERT, 2010). De Oliveira et al. (2019) investigaram os efeitos de diferentes concentrações do extrato de *A. oleracea* sobre processos digestivos de fêmeas semi-ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*. Estes autores constataram que os efeitos de *A. oleracea* foram semelhantes aos observados pela ação de produtos químicos reconhecidos como eficazes no controle de carrapatos. Nesse estudo as células germinativas foram danificadas apresentando, entre outros danos, desorganização estrutural e vacuolização, comprometendo o desenvolvimento destas células e impedindo as fêmeas de originar novos indivíduos.

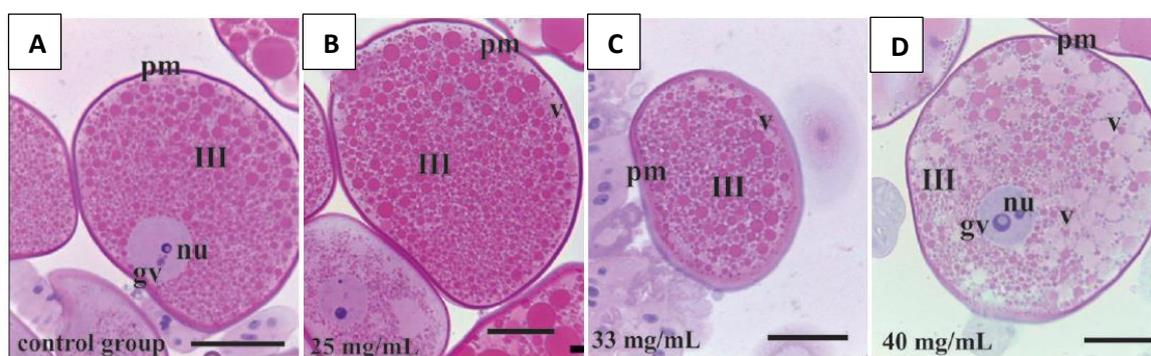


Figura 8: Secções histológicas de óocitos III de ovário de *Rhipicephalus sanguineus* tratados com extrato de *Acmella oleracea*. Coloração H e E. III: óocito estágio III. A) grupo controle. B) grupo tratado (25 mg / mL). C) grupo tratado (33 mg / mL). D) grupo tratado (40 mg / mL). gv: vesícula germinativa; nu: nucléolo; pm: membrana plasmática; v: vacúolos. Barras (A-D) 50 μ c.

Fonte: De Oliveira et al., 2019.

Andiroba (*Carapa guianensis*) é uma planta pertencente à família Meliaceae e o óleo extraído de sua semente é utilizado pelas comunidades locais do norte do Brasil no tratamento de doenças e como repelente de insetos (HAMMER; JOHNS, 1993). Vendramini et al., (2012) realizaram a análise dos efeitos do óleo de andiroba sobre ovários de fêmeas semi-ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*. Nesse estudo, os autores observaram que o óleo de andiroba é capaz de promover mudanças estruturais em óocitos com alterações estruturais nas células, bem como o comprometimento do material genético. Além disso, observou-se que o epitélio do ovário apresentou desorganização estrutural com células vacuolizadas e núcleos picnóticos. Sendo um agente natural, os autores concluíram que o óleo de andiroba representa uma alternativa em potencial para o controle da reprodução de carrapatos.

Outro estudo utilizando planta da família Meliaceae foi realizado por Barbosa et al., (2016). Nesse estudo foi avaliado o efeito do 3b-O-tigloylmelianol, extraído de *Guarea kunthiana*, sobre a oogênese em fêmeas de carrapatos da espécie *Rhipicephalus (B.) microplus*.

Os autores observaram que o 3b-O-tigloylmelianol promoveu redução significativa no número e alterações morfológicas em oócitos (vacuolização e irregularidade do córion) (Figuras 9 e 10).

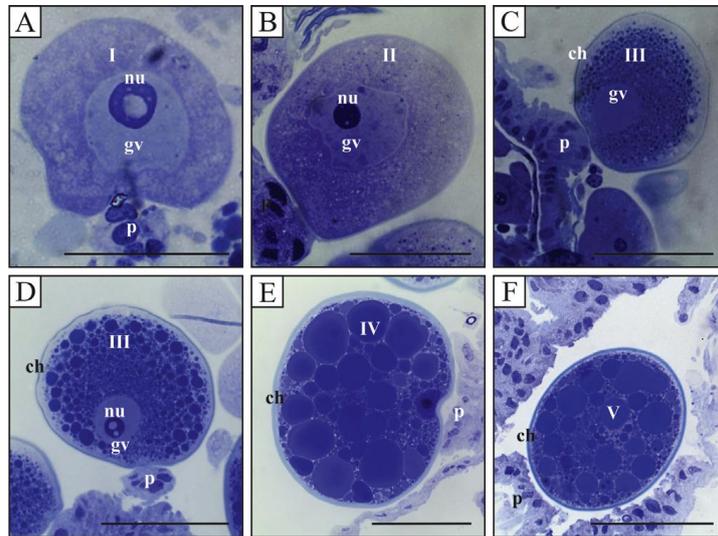


Figura 9: Secções histológicas dos ovários de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* do grupo controle (tratadas com 5% de DMSO e água) e coradas com azul de toluidina. Oócito estágio I (A); oócito estágio II (B); oócito estágio III (C, D); oócito estágio IV (E); oócito estágio V no oviduto (F). Corion (ch); vesícula germinativa (gv); nucleolo (nu); pedicelo (p) (barra de escala= 100 μ m).

Fonte: Barbosa et al., 2016.

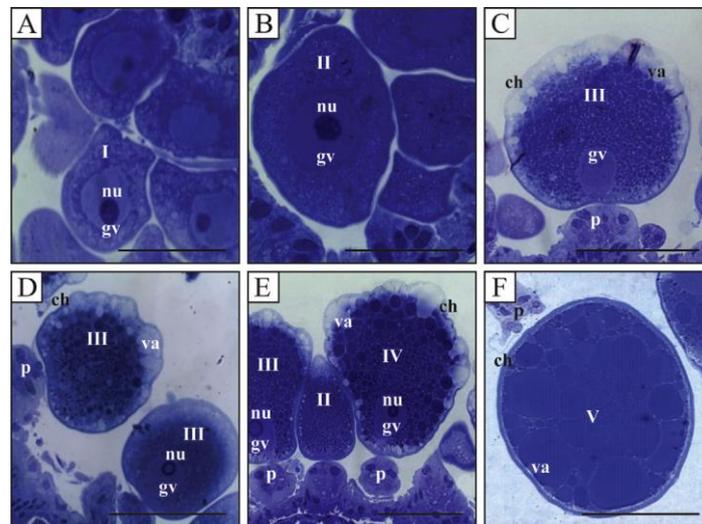


Figura 10: Secções histológicas dos ovários de fêmeas ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus microplus* expostas ao 3b-O-tigloylmelianol (0,01%) e coradas azul de toluidina. Oócito estágio I (A); oócito estágio II (B); oócito estágio III (C, D); oócitos estágios III / IV (E); oócito estágio V (F). Corion (ch); vesícula germinal (gv); nucleolo (nu); pedicelo (p); vacúolos (va) (barra de escala= 100 μ m).

Fonte: Barbosa et al., 2016.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento de populações resistentes aos produtos químicos disponíveis comercialmente para o controle de carrapatos tem estimulado a busca por alternativas ao controle convencional.

A análise do efeito de diferentes compostos sobre tecidos de carrapatos utilizando testes morfológicos tem se mostrado uma ferramenta essencial para identificação de possíveis acaricidas alternativos no controle deste parasito.

Apesar da relevância no desenvolvimento e aprimoramento de produtos veterinários utilizados no controle desse ectoparasita, estudos que avaliam o potencial acaricida de novos compostos sobre tecidos de carrapatos ainda são escassos. Neste sentido, novos trabalhos de pesquisas, utilizando a análise morfológica, devem ser realizadas a fim de auxiliar na descoberta de novos acaricidas.

6 AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelo auxílio financeiro.

7 REFERÊNCIAS

ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. Apresentação. In: Andreotti, R.; Koller, W. Carrapatos no Brasil: Biologia, Controle e Doenças transmitidas. Brasília: **Embrapa Gado de Corte**, 2013.

ANDREOTTI, R. et al. **Controle do carrapato por meio de vacina – situação atual e perspectivas**. Campo Grande: Embrapa gado de corte, 2002. 58 p.

ANDREOTTI, R.; GARCIA, M. V.; KOLLER, W. W. **Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos**. 1ª ed., Brasília: Embrapa, 2019. 240 p.

ARAUJO, A. M. **Alterações histológicas no intestino de fêmeas de carrapatos**. **Orientador: Maria Izabel Camargo Mathias**. 2012. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2012.

ARAÚJO, L. X. **Atividade do Timol, Carvacrol e Eugenol sobre larvas de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) e *Rhipicephalus sanguineus* s.l. (Acari: Ixodidae) em condições laboratoriais e semi-naturais.** Orientador: Caio Márcio de Oliveira Monteiro. 2015. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas-Comportamento e Biologia Animal) – Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2015.

ARNOSTI, A. et al. Effects of *Ricinus communis* oil esters on salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Experimental Parasitology**, v. 127, n. 2, p. 569–574, 2011.

ARNOSTI, A. et al. **Glândulas Salivares.** In: MATHIAS, M. I. C. Guia básico de morfologia interna de carrapatos ixodídeos. São Paulo: Unesp, 2013, p.39-74.

BARBOSA, C. DA S. et al. In vitro activity of 3 β -O-tigloylmelianol from *Guarea kunthiana* A. Juss (Meliaceae) on oogenesis and ecdysis of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae). **Experimental Parasitology**, v. 164, p. 5–11, 2016.

BIEGELMEYER, P. et al. Bovine resistance to *Rhipicephalus (boophilus) microplus* ticks. **Archivos de zootecnia**, v. 61, n. 0, p. 1–11, 2012.

BLAGBURN, B. L.; DRYDEN, M. W. Biology, Treatment, and Control of Flea and Tick Infestations. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 39, n. 6, p. 1173–1200, 2009.

BRAHMACHARI, G. Neem – An omnipotent plant: a retrospection. **Chemistry and Biochemistry**, v. 5, p. 408-421, 2004.

BROGLIO-MICHELETTI, S. M. F. et al. Plant extracts in control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) in laboratory. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 18, n. 4, p. 44–48, 2009.

CAMARGO-MATHIAS, M. I. Comparative Results of Action of Natural and Synthetic Acaricides in Reproductive and Salivar Systems of *Rhipicephalus sanguineus* - Searching by a Sustainable Ticks Control. In: Farzana Perveen. (Org.). **Insecticides- Advantages in integrated pest management.** 1 ed. 2012, v. x, p. 391-410.

CAMARGO-MATHIAS, M. I. et al. Deltamethrin as inductor agent of precocious ovarian degeneration in *Rhipicephalus sanguineus* s.l. (Acari: Ixodidae) ticks. **Experimental and Applied Acarology**, v. 72, n. 2, p. 161–169, 2017.

CAMPOS, R. N. S. et al. Óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas no controle do carrapato *Rhipicephalus microplus*. **Archivos de Zootecnia**, v. 61, p. 67-78, 2012.

CAPERUCCI, D.; BECHARA, G. H.; CAMARGO MATHIAS, M. I. Ultrastructure features of the midgut of the female adult *Amblyomma cajennense* ticks Fabricius, 1787 (Acari: Ixodidae) in several feeding stages and subjected to three infestations. **Micron**, v. 41, n. 7, p. 710–721, 2010.

- COONS, L. B., ALBERTI, G. The acari-ticks. In: HARRISON, F. W., FOELIX, R. **Microscopic Anatomy of Invertebrates. Chelicerate Arthropoda**, Wiley-Liss, New York. 1999. p. 267-514.
- DE OLIVEIRA, P. R. et al. Cytotoxic effects of extract of *Acmella oleracea* in the ovaries and midgut of *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806 (Acari: Ixodidae) female ticks. **Journal of Microscopy and Ultrastructure**, v. 7, n. 1, p. 28, 2019.
- DE OLIVEIRA, P. R.; BECHARA, G. H.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Evaluation of cytotoxic effects of fipronil on ovaries of semi-engorged *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) tick female. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 7, p. 2459–2465, 2008.
- DENARDI, S. E. et al. Inhibitory action of neem aqueous extract (*Azadirachta indica* A. Juss) on the Vitellogenesis of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) ticks. **Microscopy Research and Technique**, v. 74, n. 10, p. 889–899, 2011.
- DENNY, D. J. B. Efficacy of fipronil against ticks. **Veterinary Recherche**, n. 148, p. 124, 2001.
- ESTRADA-PENÑA, A. Ticks as vectors: taxonomy, biology and ecology. **Revue Scientifique et Technique de l'OIE**, v. 34, n. 1, p. 53–65, 2015.
- FAVORETO, R.; GILBERT, B. *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen (Asteraceae) – Jambu *Acmella*. **Revista Fitos**, v. 5, p. 83–91, 2010.
- FURLONG, J.; MARTINS, J. R. S.; PRATA, M. C. A. Controle estratégico do carrapato dos bovinos. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 23, n. 137, p. 53-56, 2004.
- FURLONG, J.; PRATA, M. C. A.; MARTINS, J. R. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar?. **A Hora Veterinária**, v. 27, n. 159, p. 26-32, 2007.
- GUGLIELMONE A. A.; et al. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. **Zootaxa**, p. 1-28, 2010.
- HAMMER, M. L. A.; JOHNS, E. A. Tapping an Amazônian plethora: four medicinal plants of Marajó island, Pará (Brazil). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 40, n. 1, p. 53–75, 1993.
- HIGA, L. O. S. et al. Controle do Carrapato-do-boi por meio de Acaricidas. In: ANDREOTTI, R.; GARCIA, M. V.; KOLLER, W. W. **Carrapatos na Cadeia Produtiva de Bovinos**. Brasília: Embrapa Gado de Corte, 2019. p.137-147.
- JACOBSON, M. Botanical pesticides: past, present and future. In: ARNASON, J. T.; PHILOGENE, B. J. R.; MORAND, P. **Insecticides of plant origin**. Washington: American Chemical Society. p.1-10, 1989.
- KRANTZ, G. W.; WALTER, D. E. **A Manual of Acarology**. Lubbock: Texas Tech University Press, 2009. 807p.
- LE GALL, V. L.; KLAFKE, G. M.; TORRES, T. T. Detoxification mechanisms involved in

ivermectin resistance in the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–10, 2018.

MANDELBAUM, S. H.; SANTIS, É. P. DI; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte II. **Feridas: tratamento e cicatrização**, v. 78, n. 5, p. 103–14, 2003.

MARTINS, I. V. F. **Caderno de parasitologia veterinária**. Vitória: Edufes, 2007.

MURRELL, A.; BARKER, S. C. Synonymy of *Boophilus* Curtice, 1891 with *Rhipicephalus* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). **Systematic Parasitology**, v. 56, n. 3, p. 169–172, 2003.

NODARI, E. F. et al. Action of permethrin on *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) semi-engorged females: Morpho-physiological evaluation of salivary glands. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 3, n. 4, p. 219–226, 2012.

OLIVEIRA, P. R. DE et al. Action of the chemical agent fipronil on the reproductive process of semi-engorged females of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). Ultrastructural evaluation of ovary cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 6, p. 1255–1264, 2009.

PARVEEN, S. et al. In vitro evaluation of ethanolic extracts of *Ageratum conyzoides* and *Artemisia absinthium* against cattle tick, *Rhipicephalus microplus*. **Scientific World Journal**, 2014.

PEREIRA, C. P. M. et al. Fipronil-induced cell death in salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) semi-engorged females. **Experimental Parasitology**, v. 127, n. 2, p. 481–489, 2011.

PEREIRA, J. B. et al. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 2, p. 150–156, 2014.

PRADO-OCHOA, M. G. et al. The action of two ethyl carbamates on acetylcholinesterase and reproductive organs of *Rhipicephalus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 199, n. 3–4, p. 215–224, 2014.

REMEDIO, R. N. et al. Morphological effects of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed oil with known azadirachtin concentrations on the oocytes of semi-engorged *Rhipicephalus sanguineus* ticks (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 114, n. 2, p. 431–444, 2015.

REMEDIO, R. N. et al. Morphological alterations in salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* ticks (Acari: Ixodidae) exposed to neem seed oil with known azadirachtin concentration. **Micron**, v. 83, p. 19–31, 2016.

REY, L. **Parasitologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 633-641, 1973.

RODRÍGUEZ-VIVAS, R. I. et al. Ticks collected from humans, domestic animals, and wildlife in Yucatan, Mexico. **Veterinary Parasitology**, v. 215, p. 106–113, 2016.

RODRIGUEZ-VIVAS, R. I.; JONSSON, N. N.; BHUSHAN, C. Strategies for the control of

Rhipicephalus microplus ticks in a world of conventional acaricide and macrocyclic lactone resistance. **Parasitology Research**, v. 117, n. 1, p. 3–29, 2018.

ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. Interações: **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**. v. 1, n. 2, p. 43-50, 2001.

ROMERO, C.G. **Fitoterapia em Ganaderia ecológica/orgânica flora medicinal de Espanha y Panamá**. Madri: Agrícola Española, S.A., p.111, 2008

RUPPERT, E. E.; FOX, R. S.; BARNES, R. D. **Zoologia de invertebrados**. São Paulo: Roca, 7. ed. 2005.

SAUER, J. R.; ESSENBERG, R. C.; BOWMAN, A. S. Salivary glands in ixodid ticks: Control and mechanism of secretion. **Journal of Insect Physiology**, v. 46, n. 7, p. 1069–1078, 2000.

SONENSHINE, D. E. **Biology of ticks**, Oxford University Press, v. 1, p. 159-187, 1991.

SOUSA, L. A. D. et al. Ovary histology and quantification of hemolymph proteins of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* treated with *Melia azedarach*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 3, p. 339–345, 2014.

SODERLUNG, D. M. et al. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. **Toxicology**, v. 171, 3-59 p, 2002.

SREELEKHA, K. et al. Ultrastructural analysis of oocytes of *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* during postengorgement period as a tool to evaluate the cytotoxic effects of amitraz and deltamethrin on the germinative cells. **Veterinary Parasitology**, v. 247, n. October, p. 113–120, 2017.

VENDRAMINI, M. C. R. et al. Cytotoxic effects of andiroba oil (*Carapa guianensis*) in reproductive system of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) semi-engorged females. **Parasitology Research**, v. 111, n. 5, p. 1885–1894, 2012.



Capítulo

18

Descarte domiciliar de medicamentos de uso veterinário: legislação e impactos

Renato Almeida Brambati ¹
Gabriela de Oliveira Resende ²
Gabriela Rocha de Assunção ³
César Oliveira Liesner ⁴
Vanderson de Ataíde Paulucio ⁵
Winner Duque Rodrigues ⁶
Leilliany Araújo Silva Brambati ⁷
Janaina Cecília Oliveira Villanova ⁸
Juliana Aparecida Severi ⁹

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

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

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

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: cesarliesner01@hotmail.com

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: vandersonpaulucio.zoo@gmail.com

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: winner.duque@gmail.com

⁷ Faculdade Pitágoras - Guarapari, e-mail: leillyaraujo@gmail.com

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

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

1 INTRODUÇÃO

Com o cenário atual de crescimento populacional, o consumo de medicamentos de uso humano vem experimentando um grande aumento no Brasil e no mundo. Neste cenário, o gerenciamento dos resíduos de fármacos, substâncias químicas responsáveis pelo efeito terapêutico dos medicamentos, oriundos dos serviços de saúde e de uso doméstico, tem gerado cada vez mais preocupação, se caracterizando como um problema de saúde pública e acarretando sérios danos ao meio ambiente (MIRANDA et al., 2018). Aliado a este panorama, o aumento na população animal para fins alimentícios e animais de companhia, contribui para o excesso de resíduos de fármacos dispostos no meio ambiente. O descarte de insumos empregados em laboratórios farmacêuticos e farmácias magistrais para o preparo de medicamentos e cosméticos; águas de lavagem dos equipamentos e acessórios utilizados na fabricação destes; esgoto de hospitais, clínicas e postos de saúde; resíduos oriundos de medicamentos que são descartados inadequadamente no lixo comum ou no esgoto; e, os metabólitos ou fármacos livres eliminados pelo organismo após utilização, são as principais fontes dos resíduos de fármacos encontrados na natureza (FEITOSA; DE AQUINO, 2017).

A automedicação, em humanos e animais é um dos grandes responsáveis pela deposição dos resíduos no meio ambiente, tanto em função da manufatura dos medicamentos como da eliminação de metabólitos ou do fármaco livre do organismo. A automedicação se refere à utilização de medicamentos por conta própria ou por indicação de pessoas não habilitadas, sem avaliação e prescrição por um profissional de saúde. Souza Júnior et al. (2016) observaram que a maior parte dos medicamentos dispensados nos estabelecimentos agropecuários eram comercializados sem a prescrição do profissional médico veterinário. Segundo Zielke et al. (2018), o uso de fármacos em animais de companhia sem orientação profissional inclui a prescrição realizada por pessoas não qualificadas, o uso de formulações caseiras e a automedicação orientada - quando o tutor reutiliza prescrições antigas.

A falta de informação da população acerca do descarte domiciliar de medicamentos, associada ao desinteresse dos governantes em implantar planos de conscientização voltados ao descarte adequado de medicamentos, leva os usuários a descartarem sobras de medicamentos e/ou medicamentos vencidos, no lixo comum e no esgoto domiciliar (vasos sanitários, pias ou tanques). No entanto, sabe-se que estações de tratamento de esgoto não possuem a capacidade de retirar resíduos de substâncias químicas, especialmente as solúveis, do solo e da água, uma vez que estes permanecem dissolvidos ou em suspensão, não existindo metodologia, a um custo adequado, disponível para tal (CHAVES, 2014). De acordo com Miranda et al. (2018), apesar

de necessária a disponibilização de métodos de tratamento de água efetivos para a retirada dessas substâncias, o custo elevado dos métodos impossibilita tal iniciativa, o que gera enorme preocupação.

Dada a complexidade do tema e ausência de literatura disponível no país, o presente capítulo tem o intuito de abordar aspectos do descarte domiciliar de medicamentos de uso veterinário, no que diz respeito à legislação e aos impactos causados pela prática. Desta forma, espera-se contribuir para a regulamentação do descarte de medicamentos de uso domiciliar no Brasil, tendo em vista que esta não é objeto de ampla discussão na atualidade.

2 DISPOSIÇÃO DE PRODUTOS FARMACÊUTICOS E SEUS RESÍDUOS NO MEIO AMBIENTE

Medicamentos e produtos de higiene e beleza, bem como seus resíduos, são considerados poluentes emergentes (BORRELY et al., 2012). Tais substâncias, enquanto resíduos presentes no meio ambiente e sujeitos as condições adversas de umidade, temperatura e luz, podem se transformar em substâncias potencialmente tóxicas, provocando desequilíbrio ambiental, modificando ciclos biológicos e alterando teias e cadeias alimentares (PINTO et al., 2014).

A contaminação por este tipo de resíduo ocorre tanto na zona rural quanto zona urbana. Nesta última, o principal responsável é o consumo de medicamentos, com excreção de metabólitos ou dos fármacos inalterados pela urina ou fezes e, também, pelo descarte dos produtos não utilizados no lixo ou na rede de esgoto doméstico. Estes compostos não são removidos a partir dos sistemas convencionais de tratamento de água (PINTO et al., 2014).

Inúmeras pesquisas relatam a presença de fármacos provenientes de medicamentos no meio-ambiente e atribuem os crescentes relatos deste tipo de contaminação em função do fenômeno da automedicação, do aumento da média de idade da população e do maior acesso da população aos medicamentos, culminando com o aumento do descarte incorreto (CARVALHO et al., 2009). Um levantamento realizado por Melo et al. (2005), constatou que cerca de 75% de pessoas entrevistadas relataram descartar medicamentos no lixo doméstico e cerca de 6,5%, o fazem na pia ou no vaso sanitário. Figueiredo et al. (2011) encontraram resultados semelhantes ao entrevistar 2000 indivíduos, visto que 30,45% relataram efetuar o descarte das sobras de medicamentos no lixo urbano, sendo cerca de 89% no lixo seco e 7,5% no lixo úmido. Um fato ressaltado pelos autores é que alguns catadores de lixo, muitas vezes, utilizam os medicamentos descartados e sofrem intoxicações, colocando em risco a saúde dos

mesmos. Kheir e colaboradores (2011), realizaram um estudo exploratório sobre o descarte de medicamentos em domicílios e constataram que a maioria da população entrevistada realiza o descarte de medicamentos no lixo comum. Feitosa e De Aquino (2017) avaliaram o comportamento da população em relação ao procedimento adotado com as sobras dos medicamentos e observaram que 9,74% dos entrevistados disseram devolver os medicamentos à unidade ou ao agente de saúde; 46,31% relataram guardar as sobras para usar novamente; 22,63% realizavam o descarte no lixo comum; 4,74% doam aos vizinhos, amigos e/ou parentes; e, somente 16,58% afirmam que não ocorrem sobras de medicamentos após os tratamentos. Para os autores, amenizar os riscos de contaminação ambiental pelo descarte incorreto de medicamentos, se faz necessário a minimização da geração destes resíduos mediante a realização de prescrições racionais e do cumprimento dos tratamentos de forma completa por parte dos usuários.

Na zona rural, além do descarte de produtos farmacêuticos, deve-se considerar a deposição de resíduos oriundos do uso dos medicamentos em animais de estimação e nos animais produtores de alimentos (SORENSEN et al., 1998). O Brasil é um país com ampla atividade agropecuária e o seu rebanho bovino é o segundo maior do mundo, com mais de 200 milhões de animais. Além disso, é válido salientar o aumento crescente produção de suínos e aves. A prestação de serviços à saúde animal é responsável por gerar resíduos como, seringas, agulhas, embalagens e até sobras de medicamentos, recebendo a classificação de Resíduos de Serviço de Saúde (RSS), que possuem alta periculosidade, sendo de extrema importância a adoção de cuidados especiais desde sua aquisição até a disposição final, pois qualquer manejo feito de forma inadequada pode acarretar danos à saúde humana e animal (GONÇALVES et al., 2015).

Produtores rurais de diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul durante o evento Noite da Pecuária, foram submetidos a uma coleta de dados pessoais e questionados sobre o manejo de resíduos de medicamentos veterinários. De acordo com a pesquisa, cerca de 60% dos entrevistados disseram não existir qualquer tipo de coleta destes tipos de resíduos. Ainda, 42% dos produtores que participaram do estudo alegaram ser a queima o destino final dado aos resíduos. A queima de resíduos sem licença de um órgão competente é caracterizada crime ambiental e, a combustão destes produtos, libera substâncias potencialmente tóxicas para o meio ambiente e a saúde (GONÇALVES, et al., 2016). Segundo Spisso, Nobrega e Marques (2009), medicamentos veterinários utilizados de forma indevida podem contaminar tanto o alimento consumido pela população quanto ao meio ambiente. De acordo com Zapparoli, Camara e Beck

(2011), a contaminação ocasionada pelos produtos de uso veterinário é de grande impacto, já que a eliminação é feita diretamente no ambiente, sem qualquer tratamento prévio.

3 RESÍDUOS DE HORMÔNIOS E ANTIBIÓTICOS NO MEIO AMBIENTE

Diversos estudos relatam a presença de hormônios, antibióticos, anti-inflamatórios, analgésicos, antipiréticos, antilipidêmicos, anti-hipertensivos e tensoativos, em reservatórios de água localizados no Brasil e no mundo. No reservatório Billings, localizado município de São Paulo, o diclofenaco de sódio, o ibuprofeno e a cafeína foram os fármacos identificados em maior concentração (ALMEIDA; WEBER, 2005). Os hormônios e os antibióticos merecem atenção especial no que diz respeito à presença de resíduos em função dos graves impactos ambientais, econômicos e de agravos à saúde humana (VAZ; FREITAS; CIRQUEIRA, 2011).

3.1 HORMÔNIOS

Segundo Tannus (2017), a contaminação do meio ambiente por hormônios, a partir da utilização na farmacoterapia veterinária, é acentuada, visto que as excreções dos animais contendo resíduos é feita diretamente no solo, sem qualquer tipo de tratamento. Assim como os antibióticos, resíduos de hormônios podem provocar sérios danos ao meio ambiente e na saúde humana e animal, podendo ocasionar problemas fisiológicos que afetam principalmente as funções endócrinas dos seres humanos, animais e espécies aquáticas (GUIMARÃES, 2005).

O estrogênio, a testosterona e a progesterona são os principais hormônios sexuais empregados na prática veterinária, sendo utilizados como contraceptivos ou como suplementos nutricionais, com vistas à potencializar o crescimento da população de animais empregados para fins alimentícios (FILHO; ARAÚJO; VIEIRA, 2006; TORRES, 2009).

Compostos esteróides usados como contraceptivos orais e de reposição, podem causar efeitos biológicos irreversíveis, mesmo quando presentes em baixas concentrações, sendo responsáveis pelas elevadas taxas de masculinização e feminização em peixes em diversos ambientes aquáticos ao redor do mundo (EDWARDS; MOORE; GUILLETTE, 2006). Os peixes, por sua inerente importância ecológica e econômica, estão entre os organismos mais empregados para investigação da influência da presença de hormônios na natureza, uma vez que a fisiologia de seu sistema reprodutivo é regulada por hormônios, semelhante ao que ocorre

nos mamíferos (MILLS; CHICHESTER, 2005). O 17 α -etinilestradiol (17- α -EE2) e o 17- β -estradiol (17- β -E2) interferem de maneira antagônica no sistema reprodutivo de espécies aquáticas. Como estes hormônios não são totalmente removidos nas estações de tratamento de esgotos, têm sido demonstrados através de pesquisas em laboratório a presença deles em ecossistemas aquáticos, provocando a feminilização de machos expostos (TORRES, 2009). Alterações no sistema endócrino dos peixes, provenientes da ingestão de produtos químicos sintéticos, se devem à capacidade destas substâncias imitarem os hormônios naturais e suas funcionalidades. Tal perturbação pode estar relacionada a modificações na síntese, secreção, transporte, ligação, metabolismo e eliminação dos hormônios naturais (TANNUS, 2017).

Evidências apontam que a exposição frequente à estrógenos, através do consumo de água e alimentos, tem sido uma das principais causas do aumento da incidência de câncer testicular em jovens e o elevado número de homens diagnosticados com câncer de próstata (LOPES, et al., 2008). Estudos têm demonstrado que a exposição a estrógenos sintéticos contribui para o surgimento de câncer endometrial em mulheres pós-menopausa e mulheres jovens podem manifestar puberdade precoce (TANNUS, 2017). Dados preocupantes publicados sobre a fertilidade masculina relatam que em 50 anos de um estudo realizado na Dinamarca, foi observada uma redução de 45% na contagem dos espermatozoides em conjunto com uma diminuição de 25% no volume de esperma ejaculado, ao mesmo tempo em que triplicou o número de homens com taxa baixa de esperma e reduziu o número de homens com altas taxas de esperma (SCHLINDWEIN, 2005).

3.2 ANTIBIÓTICOS

Netto et al. (2005), em um levantamento acerca dos principais fármacos utilizados em rebanhos leiteiros do estado do Paraná, observaram que os antibióticos foram os mais consumidos. A utilização de medicamentos antimicrobianos é uma prática comum na pecuária, correspondendo a cerca de 50% da utilização mundial destes medicamentos (KORB, et al., 2011). Segundo Gonzales et al. (2012), antibióticos são utilizados de maneira disseminada para promoção do crescimento e prevenção de infecções em animais.

A contaminação dos recursos hídricos através do incorreto descarte dos resíduos e o desenvolvimento de bactérias multiresistentes são os dois principais problemas provenientes do uso indiscriminado dos antibióticos (BILA; DEZOTTI, 2003). O descarte inadequado, o lançamento dos antibióticos por indústrias farmacêuticas, hospitais e centros médicos no

ambiente, a excreção de metabólitos e fármacos inalterados por animais na água e solo através de fezes e urina levam a poluição da água, visto que estes resíduos têm sido encontrados em águas subterrâneas e suprimentos de água potável (ALBANAZ, et al., 2017; TANNUS, 2017).

A principal via de entrada de agentes antibióticos que leva a contaminação de ambientes aquáticos e terrestres consiste na elevada disseminação de uso destes fármacos como aditivos de alimentação na aquicultura e criação de suínos e na promoção do crescimento em rebanhos bovinos e manejo de aves. Os ecossistemas aquáticos são alvos de mudanças prejudiciais quando os antibióticos são lançados diretamente nas águas superficiais acarretando em elevada carga residual levando ao acúmulo de sedimentos. Ainda, de forma direta os antibióticos podem atingir o ambiente por meio de excreções dos animais em pastejos e de maneira indireta pela aplicação de esterco animal no solo de lavouras. No solo estes resíduos por processos de escoamento superficial ou lixiviação alcançam o ambiente aquático afetando organismos tanto aquáticos quanto terrestres (REGITANO; LEAL, 2010).

Um estudo realizado no estado de São Paulo por Locatelli (2011) objetivou o desenvolvimento de uma metodologia analítica para determinação de antibióticos em matrizes aquosas. Por meio desta metodologia de análise foram encontradas concentrações significativas de antibióticos como cefalexina e amoxicilina em amostras coletadas de diferentes pontos ao longo do Rio Atibaia contemplando os municípios de Atibaia e Campinas.

A resistência bacteriana cruzada pode surgir quando os mesmos antibióticos utilizados nas infecções humanas são usados nas infecções em animais e, as bactérias causadoras destes agravos, passam a se tornar resistentes, afetando tanto a saúde humana quanto animal (KORB, et al., 2011). A resistência bacteriana aumenta os agravos nos quadros clínicos de pacientes hospitalizados e prejudica a saúde pública de um ponto de vista econômico, dado que aumenta o tempo de internação, leva a falhas no tratamento de pacientes com infecções simples e em alguns casos requer a utilização de uma associação medicamentosa para minimizar a infecção (LOUREIRO et al., 2016). Dentre os parâmetros de maior contribuição para evolução e desenvolvimento da resistência bacteriana tem-se a presença de genes de resistência e sua transferência entre as bactérias e a pressão seletiva exercida pelo uso abusivo e indiscriminado dos antibióticos (NEVES, et al., 2007).

4 LEGISLAÇÃO SOBRE O DESCARTE DE MEDICAMENTOS NO BRASIL

De acordo com estudos científicos e pesquisas voluntárias, a estimativa é que cerca de 10 mil toneladas de medicamentos são descartadas anualmente no Brasil e, grande parte da população guarda medicamentos e/ou sobras de tratamentos anteriores, descartando seu medicamento, na maioria das vezes, de forma aleatória, como em lixos urbanos ou em rede pública de esgoto (RIBEIRO; BINSFELD, 2013). Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2008, cerca de 50% dos municípios brasileiros usavam os vazadouros a céu aberto para dar a destinação final dos lixos urbanos, nos quais podem ser encontrados resíduos hospitalares e restos de medicamentos descartados pela população (IBGE, 2008).

Ao longo dos anos, o tema vem sendo amplamente discutido e inúmeras tentativas de regulamentação já foram propostas com intuito organizar o recolhimento e a destinação correta das sobras de medicamentos, vencidos ou não, no país (BRASIL, 2015). A resolução normativa N° 005, de 5 de agosto de 1993, do Conselho Nacional do Meio Ambiente, categoriza os resíduos de medicamentos no grupo B, os quais englobam os resíduos químicos (CONAMA).

Associada a Resolução RDC N°306 de dezembro de 2004 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que dispõe sobre o gerenciamento de resíduos de saúde, a Resolução N° 358 de 2005 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), que dispõe sobre o tratamento e disposição final dos resíduos de serviços de saúde, são as regulamentações que direcionam as políticas de descarte de medicamentos no país. De acordo com estas normas, os responsáveis pelo gerenciamento dos resíduos gerados nos serviços de saúde, são os próprios estabelecimentos, devendo estes, atender às normas e exigências legais, desde o momento de sua geração até a destinação final (BRASIL, 2005; BRASIL, 2006). Os estabelecimentos aos quais a legislação se aplica compreendem os necrotérios, funerárias, serviços de medicinal legal, drogarias e farmácias em geral; estabelecimentos de ensino e pesquisa na área de saúde; centros de controle de zoonoses; distribuidoras de produtos farmacêuticos, importadoras, distribuidoras e produtoras de materiais e controles para diagnóstico *in vitro*; unidades móveis de atendimento à saúde; serviços de acupuntura; serviços de tatuagem, dentre outros similares (BRASIL, 2004).

O Plano de Gerenciamento de Resíduos Sólidos (PGRS) é um documento técnico, previsto na Política Nacional de Resíduos (PNRS - Lei 12.305/10), que tem por objetivo destinar corretamente os resíduos gerados nos estabelecimentos industriais, comerciais, de serviços de saúde, de infraestrutura e nos municípios. O gerenciamento do PGRS constitui-se

como um conjunto de procedimentos de gestão, planejados e implementados a partir de bases científicas e técnicas, normativas e legais, com o objetivo de minimizar a produção de resíduos e proporcionar aos resíduos gerados, um encaminhamento seguro, de forma eficiente, visando proteger os trabalhadores e preservar a saúde pública, dos recursos naturais e do meio ambiente (BRASIL, 2010). Percebe-se que a legislação brasileira existente é direcionada apenas aos estabelecimentos de saúde e não engloba diretamente a população, o que dificulta o entendimento sobre os impactos decorrentes do descarte doméstico de medicamentos (ALVARENGA; NICOLETTI, 2011). Os órgãos de vigilância sanitária e ambiental são as entidades responsáveis, legalmente, pela fomentação de políticas e pela fiscalização do gerenciamento de resíduos.

Uma medida já proposta é a que envolve um modelo de logística reversa, no qual a responsabilidade pelo ciclo de vida dos produtos é compartilhada. Em fevereiro de 2011, o Projeto de Lei Complementar Nº 595/11 foi apresentado ao Senado, com vistas a acrescentar o Artigo 6º na Lei Nº 5.991 de 1973, cujo intuito é regulamentar a logística reversa pós-consumo de medicamentos, visando compartilhar a responsabilidade pelo descarte dos medicamentos. Neste processo, o retorno dos medicamentos em desuso ou vencidos para seu ponto de origem é previsto, mediante recolhimento pelos estabelecimentos comerciais, que os devolveriam para os laboratórios farmacêuticos, que seriam os responsáveis pela disposição final dos resíduos, de modo considerado ambientalmente correto (LACERDA, 2002). No caso dos medicamentos manipulados, as farmácias magistrais ou outros locais como as vigilâncias sanitárias, seriam as responsáveis pelo recebimento dos produtos. Pela proposta, sobras de insumos e de medicamentos de qualquer natureza, inclusive de uso doméstico, devem ser recolhidos e encaminhados para a queima, em usinas de incineração. Outra estratégia em estudo é submeter estas sobras a um tratamento químico, capaz de degradar substratos orgânicos à estruturas moleculares menores e mais simples, facilmente biodegradáveis. A tecnologia baseia-se, em termos gerais, em processos oxidativos, promovendo a degradação química.

Segundo Falqueto, Kligerman e Assumpção (2010), seis diretrizes podem ser apontadas para a implantação de programas de recolhimento de medicamentos de uso doméstico, sendo estes, corresponsabilidade na cadeia de fabricação e distribuição de medicamentos. São elas: 1. minimização de resíduos gerados; 2. realização de um programa piloto de descarte; 3. investigação e classificação dos resíduos gerados; 4. envolvimento de todas as esferas do governo; 5. realização de campanhas educacionais; 6. sensibilização e conscientização da comunidade.

Não existe no Brasil, na atualidade, um programa de recolhimento de medicamentos de uso domésticos não utilizados ou vencidos, implantado em nível nacional (BRASIL, 2001). No entanto, o descarte correto é uma prática tão importante quanto a sua produção e distribuição para a população (WANNMACHER, 2012). Para preencher esta lacuna, alguns municípios e estados adotam legislação própria que, contudo, não são bem esclarecidas, causando confusão e impossibilidade para aplicação de normas eficientes (AGUILAR; SÁNCHEZ; VÁZQUEZ, 2001; JOÃO, 2011). Um exemplo é a Lei Municipal N° 3378 de 2016, aprovada pela câmara municipal de Alegre (ES), que dispõe sobre a obrigatoriedade de Farmácias e Drogarias disponibilizarem recipientes para armazenar medicamentos e perfumarias com o prazo de validade vencido ou não utilizados, para descarte no município. Apesar da existência da Lei, as ações de recolhimento não foram implantadas na localidade até o momento e, a forma de disposição final a ser dada para os produtos recolhidas não foi adequadamente prevista na legislação.

De acordo com Sisino e Rosália (2000), impedir que fármacos oriundos de medicamentos tenham contato com o meio ambiente e interfiram na saúde humana, é desafiador, uma vez que, as normas existentes possuem lacunas que necessitam ser preenchidas. A legislação é compreendida como principal ferramenta para mitigar problemas relacionadas à saúde e meio ambiente. Contudo, enquanto não entram em vigor, deve-se levar em consideração a importância da conscientização da população e o dever de cada indivíduo no processo, uma vez que a Constituição Federal prevê no Artigo 225, que todos têm direito à gozar de um meio ambiente ecologicamente equilibrando, devendo preservá-lo de forma coletiva e individual. Segundo Vargas (2014), as ações em busca de soluções para uma gestão ambientalmente correta de resíduos, têm como objetivos fundamentais, a não geração, a redução, a reutilização, a reciclagem e a destinação ambientalmente adequada de sobras e rejeitos. No entanto, tais premissas nem sempre se aplicam aos produtos farmacêuticos em geral, especialmente, do uso de medicamentos no âmbito domiciliar, tanto de uso humano quanto animal.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No complexo cenário da geração de resíduos emergentes, nomeadamente, substâncias químicas provenientes de medicamentos e cosméticos, encontrar soluções para o descarte adequado dos medicamentos veterinários de uso doméstico, carece de constantes discussões em busca de normatizações que atendam a todos os setores da cadeia produtiva e de usuários. Ações

educativas para a população, bem como ações preventivas e fiscalizadoras por parte dos governos e de órgãos sociais, demandando comprometimento de todos, se configuram como essenciais para a proposição e implementação que regulamentam o descarte. Dotada de informações acerca dos impactos ambientais e na saúde gerados a partir da presença de fármacos na água e no solo, a população possui maiores subsídios para se organizar e cobrar dos governantes, em todas as esferas, medidas efetivas para a redução dos níveis de fármacos no meio ambiente, de forma semelhante àquelas já existentes para determinadas categorias de produtos, como pneus, pilhas, baterias, embalagens com agrotóxicos e lâmpadas fluorescentes.

6 REFERÊNCIAS

AGUILAR, G. R.; SÁNCHEZ, J. M. F.; VÁZQUEZ, R. R. Resíduos peligrosos: Grave riesgo ambiental. **Avance y Perspectiva**, v. 20, p. 151-58, 2001.

ALBANAZ, H. F. et al. Descarte de medicamentos: uma panorâmica da atual situação. **Revista Gestão em Foco**, v. 1, n. 9, p. 276-290, 2017.

ALMEIDA, G. A.; WEBER, R. R. Fármacos na represa Billings. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 6, n. 2, p. 7-13, 2005.

ALVARENGA, L. S. V.; NICOLETTI, M. A. Descarte doméstico de medicamentos e algumas considerações sobre o impacto ambiental decorrente. **Revista Saúde**, v. 4, n. 3, p. 34-39, 2011.

BILA, D.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p.523-530, 2003.

BORREL, Y. et al. Contaminação das águas por resíduos de medicamentos: ênfase ao cloridrato de fluoxetina. **O Mundo da Saúde**, v. 36, n. 4, p. 556-563, 2012.

BRASIL. **Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990**. Institui o Código de Defesa e Proteção do Consumidor. Diário Oficial da União: Brasília, DF, 1990. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L8078.htm>. Acesso em: 20 jul. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política nacional de medicamentos 2001**. Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde, Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. **RDC 306, de 7 de dezembro de 2004**. Dispõe sobre o regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Brasília, DF. 2004.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA 358, de 29 de abril de 2005. Dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde e dá outras providências.** Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Brasília, DF. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.** Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. **Lei nº 12.035, de 2 de Agosto de 2010.** Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos. Diário Oficial da União: Brasília, DF, 2010. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2010/Lei/L12305.htm>. Acesso em: 19 jul. 2019.

BRASIL. **Descarte de medicamentos:** responsabilidade compartilhada. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), 2011. Disponível: <<http://www.visatx.com.br/2011/08/descarte-de-medicamentos.html>>. Acesso em: 20 jul. 2019.

BRASIL. **Uso racional de medicamentos:** temas selecionados. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2012.

BRASIL. **Lei nº 13.236, de 29 de dezembro de 2015.** Altera a Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976. Diário Oficial da União: Brasília, DF. 2015. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2015-2018/2015/Lei/L13236.htm>. Acesso em: 15 jul. 2019.

BRASIL. [Constituição (1988)]. **Constituição da República Federativa do Brasil de 1988.** Brasília: Presidência da República, [2016]. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Constituicao/Constituicao.htm>. Acesso em: 20 jul. 2019.

BRASIL. **Lei Municipal Nº 3.378, de 22 de março de 2016.** Câmara Municipal de Alegre. Alegre/ES: Câmara Municipal de Alegre, 2016.

CARVALHO, E. V. et al. Aspectos legais e toxicológicos do descarte de medicamentos. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 22, n. 1-2, p. 1-8, 2009.

CHAVES, A. M. M. **Descarte de medicamentos e seus impactos socioambientais.** 2014. 32 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.

CONAMA. **Resolução Nº 5, de 5 de Agosto de 1993.** Define as Normas Mínimas para Tratamento de Resíduos Sólidos Oriundos de Serviços de Saúde, Portos, Aeroportos e Terminais Rodoviários e Ferroviários. Brasília: Conselho Nacional do Meio Ambiente. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legislacao/CONAMA_RES_CONS_193_005.PDF>. Acesso em: 16 jul. 2019.

EDWARDS, T. M.; MOORE, B. C.; GUILLETTE Jr, L. J. Reproductive dysgenesis in wild life: a comparative view. **International Journal of Andrology**, v. 29, n. 1, p. 109-121, 2006.

FALQUETTO, E.; KLIGERMAN, D. C; ASSUMPCÃO, R. F. Como realizar o correto descarte de resíduos de medicamentos? **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 15, n. 2, p. 3283-3293, 2010.

FEITOSA, A. D. V.; DE AQUINO, M. D. Descarte de medicamentos e problemas ambientais: o panorama de uma comunidade no município de Fortaleza/CE. **Ciência e Natureza**, v. 38, n. 3, p. 1590-1600, 2017.

FIGUEIREDO, M. C. et al. Armazenagem de medicamentos em domicílios pelos moradores do bairro Figueirinha, em Xangri-Lá, RS. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 10, n. 2, p. 140-145, 2011.

GONÇALVES, A. M. M. et al. **Resíduos dos produtos de uso veterinário em propriedades rurais: diagnóstico do descarte**. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS AGROPECUÁRIOS E AGROINDUSTRIAIS, Rio de Janeiro, 2015. Anais do IV Simpósio Internacional Sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais. Rio de Janeiro, 2015. p. 1-4.

GONÇALVES, T. L. et al. Manejo de resíduos veterinários em propriedades rurais do Rio Grande do Sul. **Salão de Pesquisa**, v. 8, n. 2, p. 1-2, 2016.

GONZALES, E.; MELLO, H. H. C.; CAFÉ, M. B. Uso de antibióticos promotores de crescimento na alimentação e produção animal. **Revista UFG**, v. XIII, n. 13, p. 48-53, 2012.

GUIMARÃES, J. R. P. F. **Disruptores endócrinos no meio ambiente: um problema de saúde pública e ocupacional**. 2005. Disponível em: <http://acpo.org.br/disruptores_endocrinos.pdf>. Acesso em: 27 jul. 2019.

IBGE. **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico**. 2008. Disponível em: <https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaoodevida/pnsb2008/defaulttabpdf_esgot_san.shtm>. Acesso em: 20 jul. 2019.

JOÃO, W. S. J. Descarte de medicamentos. **Pharmacia Brasileira**, v. 82, p. 6-8, 2011.

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.

LACERDA, L. **Logística reversa: uma visão sobre os conceitos básicos e as práticas operacionais**. Rio de Janeiro: COPPEAD/UFRJ, 2002.

LOCATELLI, M. A. F. **Avaliação da presença de antibióticos e drogas ilícitas na bacia do Rio Atibaia**. 2011. 191 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Programa de Pós-graduação em Química Analítica Ambiental, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

LOPES, L. G. et al. Hormônios estrogênicos no ambiente e eficiência das tecnologias de tratamento para remoção em água e esgoto. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 13, n. 4, p. 123-131, 2008.

LOUREIRO, R. J. et al. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v. 34, n. 1, p. 77-84, 2016.

MELO, V. et al. **Descarte de Medicamentos vencidos por usuários residentes na cidade de São Paulo**. In: XIV Congresso Paulista de Farmacêuticos - VI Seminário Internacional de Farmacêuticos e EXPOFAR, 2005, São Paulo. Anais do XIV Congresso Paulista de Farmacêuticos - VI Seminário Internacional de Farmacêuticos e EXPOFAR. São Paulo: Faculdades Oswaldo Cruz, 2005.

MILLS, L. J., CHICHESTER, C. Review of evidence: are endocrine-disrupting chemicals in the aquatic environment impacting fish populations? **Science of The Total Environment**, v. 1, n. 1-3, p. 1-34, 2005.

MIRANDA, A. C. et al. Avaliação do conhecimento dos consumidores de duas cidades da grande São Paulo, Brasil, sobre os impactos causados pelo descarte incorreto de medicamentos. **Interciência**, v. 43, n. 8, p. 580-584, 2018.

NETTO, D. P. et al. Levantamento dos principais fármacos utilizados no rebanho leiteiro do Estado do Paraná leiteiro do Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 27, n. 1, p. 145-151, 2005.

NEVES, M. C. et al. Detecção de genes de resistência antimicrobiana em cromossomos e plasmídeos de *Staphylococcus* spp. **Arquivo Instituto de Biologia**, v. 74, n. 3, p. 207-213, 2007.

PIERINI, F. G. **Avaliação do uso de medicamentos veterinários e destinação de resíduos na microbacia do Mutum - APA do Rio Uberaba-MG**. 2017, 87 f. Dissertação (Mestrado Profissional) - Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade Socioeconômica Ambiental, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2017.

PINTO, G. M. F. et al. Estudo do descarte residencial de medicamentos vencidos na região de Paulínia (SP), Brasil. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v. 19 n. 3, p. 219-224, 2014.

REGITANO, J. B.; LEAL, R. M. P. Comportamento e impacto ambiental de antibióticos usados na produção animal brasileira. **Revista Brasileira de Ciência e Solo**, v. 34, p. 601-616, 2010.

RIBEIRO, M. A.; BINSFELD, P. C. Descarte de medicamentos vencidos ou não utilizados: riscos e avanços recentes. 2013. Disponível em: <<http://www.cpgls.pucgoias.edu.br/8mostra/Artigos>>. Acesso em: 15 jul. 2019.

SCHLINDWEIN, M. N. Problemas ambientais relacionados aos estrogênios miméticos: perda de fertilidade, câncer e outros riscos a saúde humana como resultado dos produtos da sociedade de consumo. **Revista Uniararas**, v. 9, n. 1, p.171-78, 2005.

SISINNO C. L.; OLIVEIRA, R. M. **Resíduos sólidos, ambiente e saúde: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2000.

SORENSEN, B. H.; et al. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment - A reiew. **Chemosphere**, v. 36, n. 2, p. 357-393, 1998.

SOUZA JÚNIOR, L. O. 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**. In: Congresso Nacional do Conhecimento, 2016, Porto Seguro. Anais do Congresso Nacional do Conhecimento. Porto Seguro, 2106, p. 1-13.

SPISSO, B. F. et al. 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.

TANNUS, M. M. Poluição ambiental causada por fármacos para usos humanos e veterinários. **Revista Acadêmica Oswaldo Cruz**. v. 4, n. 15, p. 2357-8173, 2017.

TORRES, N.H. **Monitoração de resíduos dos hormônios 17 α etnilestradiol, 17 B-estradiol e estriol em águas de abastecimento urbano da cidade de Piracicaba, SP**. 2009, 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2009.

VARGAS, J. A. **Descarte de medicamentos: desafios e possibilidades na implementação da logística reversa de medicamentos no município de Vitória, Espírito Santo**. 2014. 110 f. Dissertação (Mestrado em Políticas Públicas e Desenvolvimento Local), Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, Vitória. 2014.

VAZ, K. V. et al. Investigação sobre a forma de descarte de medicamentos vencidos. **Cenarium Pharmaceutico**, v. 4, n. 4, p. 1984-3380, 2011.

ZAPPAROLI, D.; CAMARA, M. R. G.; BECK, C. Medidas mitigadoras para a indústria de fármacos comarca de Londrina – PR, Brasil: Impacto ambiental do despejo de resíduos em corpos hídricos. In: 3rd International Workshop - Advances in Cleaner Production, 2011, Londrina. Disponível em: <http://www.advancesincleanerproduction.net/third/files/sessoes/6A/3/Zapparoli_ID%20-%20Paper%20-%206A3.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2019.

ZIELKE, M. et al. Avaliação do uso de fármacos em animais de companhia sem orientação profissional. **Science and Animal Health**, v. 6, n. 1, p. 29-46, 2018.



Capítulo

19

Uma abordagem sobre os cães-guia

Raphaella Pereira Paixão¹
Mayara Fernanda da Silva²
Luiz Filipe Simão Soares³
Karen Carvalho Machado⁴
Franciely Mota de Oliveira⁵
Maria Aparecida Zaché⁶
Paulo Sérgio Cruz de Andrade⁷
Karina Preising Aptekmann⁸

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: raphapaixao28@gmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mayara.fernanda201@gmail.com

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

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: karen.carvalho@hotmail.com.br

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: francielymota94@gmail.com

⁶ Mestre em educação pela Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: maria.zache@ifes.edu.br

⁷ Instituto Federal do Espírito Santo - Campus de Alegre, e-mail: mvpaulojr@gmail.com

⁸ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: kapreising@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

Um cão-guia é um cão doméstico que é especificamente treinado para fornecer suporte de mobilidade para uma pessoa deficiente visual (PETER et al., 2017). A utilização desses cães melhora a qualidade de vida dessas pessoas, podendo dar a elas o poder de independência. Os cães-guia facilitam a socialização, oferecem uma locomoção com segurança, trazem benefícios a sua autoestima, geram um equilíbrio físico e emocional, e se tornam uma companhia diária (CÃO GUIA BRASIL, 2017). Deficientes visuais que possuem cães-guia apresentam uma maior independência e melhor relação social com a população (AUDRESTCH et al., 2015).

Alguns centros de treinamento e organizações não-governamentais (ONGs) estão implantados no Brasil com a formação desses cães-guia. Porém, o número de cães-guia no Brasil é pequeno em relação às pessoas que poderiam ser beneficiadas (CÃO GUIA BRASIL, 2017).

2 QUEM SÃO OS CÃES-GUIA?

O cão guia é um cão de serviço, treinado para conduzir seu tutor, deficiente visual. São animais dóceis, treinados para não comer, brincar ou fazer suas necessidades fisiológicas durante o serviço. No momento em que estão conduzindo seus tutores, devem utilizar uma guia, contendo um colete com informações: nome do cão, nome do tutor e o CNPJ do projeto de onde foi treinado. Enquanto estão em serviço, esses animais não devem ser tocados, ou estimulados a brincadeiras, para evitar esse tipo de interação, são usados lenços com aviso “Estou trabalhando, não me toque”. Assim, ao serem colocadas as suas guias, eles entendem que estão em serviço e devem conduzir seu tutor da melhor maneira (TAVARES, 2013).

As raças de cães para melhor treinamento para cães-guia são o Pastor Alemão, o Labrador Retriever, o Golden Retriever, e o cruzamento entre essas duas raças - o Flat Coated Retriever. A escolha dessas raças é devido ao seu temperamento calmo, obediência, boa adaptação, capacidade de aprendizagem e facilidade de interação social devido sua aparência (CARMO; FONSECA; ROSA, 2014; ENNIK et al., 2006).

O Labrador apresenta uma excelente companhia devido sua tolerância, necessidade de brincar, ter uma personalidade jovem. Já o Golden Retriever, sua principal característica é devido a sua calma, confiança, sendo um cão muito obediente e inteligente. O Flat-Coated

Retriever é um cão muito usado no Reino Unido, devido manter sua juventude e apresenta uma grande característica em agradar seu dono (HELEN KELLER, 2019).

3 SELEÇÃO DOS CÃES-GUIA E AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO

Para a seleção de cães-guia é feita uma triagem com os animais ainda filhotes. É feita uma seleção analisando o fator comportamental, genético, saúde, interação entre outros animais e com fatores ambientais até a oitava semana de vida (IRIS, 2019). Os cães passam por diversos estímulos controlados para avaliar suas reações e prever como será seu possível comportamento no futuro. Avalia-se ainda se o animal conseguirá se adaptar a família ou a sua atividade como guia (HARVEY et al., 2016).

O ideal para realização da triagem é que seja feita entre 9 e 18 semanas de idade, mas alguns testes são sugeridos serem feitos entre 6 e 8 semanas, pois é o momento em que o cão começa a ter contato com desconhecidos, permitindo avaliar seu comportamento. Esta avaliação com os filhotes é denominada como Avaliação do Perfil do Filhote, em inglês *Puppy Profiling Assessment* (PPA), onde são registradas as reações desses animais, em relação aos estímulos ambientais realizados. A capacidade de resposta do cão aos estímulos realizados refletirá no seu treinamento como guia, sendo um método para selecionar potenciais cães-guia no futuro (ASHER et al., 2013).

Harvey et al. (2016) descreveram alguns testes que ajudam na seleção de animais jovens, analisando o comportamento de futuros cães-guia. O estudo foi realizado no período de cinco e oito meses de idade, com animais de raças Labrador Retriever, Golden Retriever e Flat Coated Retriever. Foram avaliados frente a pessoas estranhas, resposta a comandos (parar, sentar, largar), risco de perigo (áreas escorregadias), sensibilidade corporal, uso de objetos sobre o animal, alimentos pelo caminho, uso de brinquedos, pombos de plástico e distração humana. Dessa maneira, analisavam as reações dos cães como: obediência, responder aos comandos, reações frente a uma pessoa estranha, distrações, agitação, arranhões e entre outros.

Por meio dos testes utilizados, foi possível identificar animais que teriam aptidão para se tornar um cão-guia. Analisando o comportamento de cada um, os animais que não respondiam aos comandos, que se distraíam facilmente, ou não associavam o risco de perigo, não foram selecionados. Os animais que não são selecionados são retirados do programa e vivem como animais pet. Mesmo com todo período de testes, pode ser que com decorrer do

amadurecimento do animal ocorram mudanças nessas respostas, devido seu desenvolvimento neurológico incompleto enquanto jovens (HARVEY et al., 2016).

O sucesso de um cão-guia está relacionado com seu comportamento individual de cognição (memória, raciocínio, atenção, percepção) e seu temperamento (agressividade, obediência, tranquilidade). Além de se perceber a influência materna sobre os resultados finais. Cadelas que cuidavam com maiores esforços dos filhotes, produziam animais com grande sucesso no momento dos testes para cães-guia. Ao contrário das cadelas que não apresentavam tanto cuidado com seus filhotes, fazendo com que esses animais tivessem uma falha durante o teste (BRAY et al., 2017b).

4 DINÂMICA DA FORMAÇÃO E UTILIZAÇÃO DOS CÃES-GUIA

Após a seleção dos filhotes, antes de iniciar o treinamento específico para o cão-guia, os animais são socializados, sendo recebidos por família socializadoras. Essas famílias são pessoas voluntárias que se disponibilizam a ficar com o cão durante 15 meses aproximadamente. Para receber o cão, essas pessoas passam por entrevistas, visitas e uma seleção. Os animais devem acompanhar essa família para todos os lugares, como: supermercados; lojas; universidades; bancos e todas as rotinas comuns do dia-a-dia, para que o animal tenha maior socialização. Durante o processo de socialização, todos os gastos com o cão, são custeados pelo centro de treinamento (informação verbal)¹.

A seleção dos cães deve ser realizada antes de serem destinados às famílias socializadoras, pois os cães são separados e ficam isolados, indo para várias casas diferentes, sendo submetidos a diferentes atividades no cotidiano, não tendo por isso, uma avaliação do grupo em geral (BRAY et al., 2017a).

Após a socialização, o animal volta para o centro e inicia o treinamento durante três a cinco meses. Durante o processo, o cão usa um tipo de colete, indicando que está em serviço. Os treinadores ensinam os comandos básicos para o animal se tornar um cão-guia: identificar degraus, obstáculos, veículos, entre outros. Os exercícios são realizados diariamente para se tornar um hábito para o animal, onde voltará a sua vida de animal pet, só após a retirada do colete de serviço (IRIS, 2019).

¹ Notícia fornecida pelo Treinador e Instrutor de Cães-Guia | IFC - Campus Camboriú, em outubro de 2017

Durante o processo de treinamento, é feita a escolha do futuro tutor que formará a dupla com o cão-guia. Para determinar qual cão será destinado ao deficiente visual, é analisado o perfil de ambos. Por exemplo, caso o futuro tutor tenha a caminhada mais rápida, seja mais agitado, o animal deve apresentar o mesmo perfil para acompanhar sua rotina. Além de ser realizada uma entrevista para determinar o melhor perfil de cão-guia que será destinado a ele (IRIS, 2019).

Na última etapa do treinamento, o cão-guia e o deficiente visual passam por um processo de adaptação e treinamento em conjunto. A dupla passa por um tempo no instituto onde serão feitas adaptações de caminhada, o tutor aprende a seguir os comandos do cão e após adaptação e todo processo de aprendizagem, são liberados e realizam alguns treinamentos para ajustes, quando necessário (IRIS, 2019).

Os cães, ao atingirem a idade de oito a dez anos, são aposentados e param seu trabalho como guia. Alguns animais podem se aposentar mais cedo antes de atingirem a velhice, devido a problemas de saúde, por exemplo, pois se tornam incapazes de realizar suas funções no trabalho. Razões para a aposentadoria precoce seriam alterações musculoesqueléticas, seguida por alterações sensoriais nervosas e dermatite atópica (CARON-LORMIER et al., 2016).

5 LEGISLAÇÃO

Conforme a legislação brasileira 11.126 de 2005, a circulação de cães-guia em locais públicos ou privados de uso coletivo de acordo com decreto em 21 de Setembro de 2006, nº 5.904. Todo deficiente visual, família socializadora ou treinador, acompanhado de um cão-guia, possui direito de circular em áreas esportivas, comerciais, educacionais, financeiras, de saúde, entre outras (BRASIL, 2006).

O cão deve apresentar identificação como nome, CNPJ do centro de treinamento, carteira de vacinação atualizada, e seus equipamentos. Áreas como isolamento hospitalar, manipulação de alimentos, centro cirúrgico, entre outros, impedem a circulação do animal. Em casos de transportes públicos, possuem preferencialmente lugares mais espaçosos (BRASIL, 2006).

A lei assegura de que ocorra maior mobilidade de pessoas acompanhadas com esses cães-guia, acarretando em multa no descumprimento da lei. Desde impedir o acesso dos animais nas áreas liberadas, até em cobrança de taxa para entrada desses animais (BRASIL, 2006).

6 DEFICIENTES VISUAIS NO BRASIL

No Brasil, dentre os tipos de deficiências, a deficiência visual foi a mais representativa na população, com taxa de 3,6% da população no ano de 2103. De acordo com o último censo do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2010, o Brasil apresentava 6,5 milhões de pessoas com algum tipo de deficiência visual. As pessoas consideradas com perda de visão total, eram cerca de 528 mil. Em contrapartida, 6 milhões de pessoas apresentavam baixa visão, ou perda parcial (IBGE, 2017).

Dados mais recentes de pesquisa em saúde, realizada pelo Governo Federal em 2013, revelaram que 16,0% da população com deficiência visual apresenta grau intenso ou muito intenso de limitações ou não consegue realizar suas atividades habituais; e dentre estas pessoas, apenas 6,6% fazem uso de algum recurso para auxiliar a locomoção, como bengala articulada ou cão-guia (PESQUISA NACIONAL DE SAÚDE, 2013).

7 INSTITUTOS E CENTROS DE TREINAMENTO PARA FORMAÇÃO DE CÃES-GUIA

Em outubro de 1927, nos Estados Unidos, Dorothy Harrison Eustis escreveu um artigo sobre a escola de cães-guia que havia conhecido na Alemanha. Devido a essa publicação, vários deficientes visuais foram em busca de como adquirir um cão-guia. Por essa grande demanda, através de Dorothy Harrison Eustis, em 1929, foi criada a primeira escola para cães-guia, nos Estados Unidos (FISHMAN, 2003).

O Instituto IRIS, foi criado em 2002 pela advogada Thays Martinez, localizado em São Paulo (SP), onde atualmente a instituição apresenta uma lista de pessoas à espera de um cão-guia. É uma das poucas ONGs que apresenta instrutor reconhecido pela Federação Internacional de Escolas de Cães-guia (*International Guide Dog Federation*, Inglaterra) e qualificado pela *Royal New Zealand Foundation For The Blind – Guide Dog Services* (Nova Zelândia) (IRIS, 2019).

A Escola de Cães Guias Helen Keller foi fundada em 8 de julho de 2000, em Florianópolis - Santa Catarina, pelo Dr. Augusto Luiz Gonzaga, Médico Catarinense. Devido às dificuldades para se manter a escola em Florianópolis, no dia 8 de março de 2008, ocorreu sua transferência para Balneário Camboriú-SC. No período de 2013 a 2015, junto ao Instituto Federal Catarinense (campus Camboriú), a escola Helen Keller foi responsável pela formação dos cães-guia no programa Federal (HELEN KELLER, 2019).

Em 2010, o Núcleo de Atendimento às Pessoas com Necessidades Especiais (NAPNE), recebendo o apoio da Secretaria de Educação Profissional e Tecnológica (SETEC/MEC) e da Secretaria Nacional de Promoção dos Direitos da Pessoa com Deficiência (SNPD/SDH) deram início ao Projeto Cães-guia. O Centro de Formação de Treinadores e Instrutores de cães-guia está localizado no Instituto Federal Catarinense-Campus Camboriú (MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO, 2017). Em 2015, o Instituto Federal do Espírito Santo (IFES) - Campus Alegre, foi o segundo a estabelecer uma unidade (MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO, 2017).

Há também o Instituto Magnus, criado em 2016, localizado em Salto de Pirapora, no interior de São Paulo. Foram adquiridos vinte e oito cães da raça Labrador Retriever e Golden Retriever (INSTITUTO MAGNUS, 2019).

8 IMPACTOS SOCIAIS DOS CÃES-GUIA

As pessoas que apresentam necessidades especiais, como deficiência visual, são geralmente mais solitárias por restringirem seu convívio com a população. Algumas pessoas se queixam de solidão, apresentam depressão e a chegada de um cão muda sua rotina, aumenta sua autoestima e qualidade de vida. Em estudo realizado no Reino Unido, verificou-se que cerca de um quinto das pessoas com necessidade especial, portadora de deficiência visual, não saem de suas casas devido às dificuldades de mobilidade no cotidiano (WHITMARSH, 2009).

O resultado de estudo realizado com 57 usuários de cães-guia demonstrou que 92% desses usuários tiveram uma melhora em suas vidas após a chegada do animal. A interação com a sociedade, através da presença de um cão treinado, permitiu a essas pessoas terem novos amigos, maior comunicação com as pessoas que pararam para ver o cachorro, maior respeito a elas, trazendo um bem-estar a esses deficientes visuais. Ainda se verificou que 90% dos tutores desses cães-guia afirmaram uma melhora em relação à segurança, independência e comunicação com pessoas estranhas, confirmando que o uso de se ter um cão de serviço para assistência é uma importante vantagem de benefício emocional (WHITMARSH, 2009).

9 REFERÊNCIAS

ASHER, L. et al. A standardized behavior test for potential guide dog puppies: Methods and association with subsequent success in guide dog training. **Journal of Veterinary Behaviour**, v. 8, p. 431-438, 2013.

AUDRESTCH, H. M. et al. Recognizing the value of assistance dogs in society. **Disability and Health Journal**, v. 8, n. 4, p. 469-474, 2015.

BRASIL. Decreto nº 5904, de 21 de Setembro de 2006. **Diário Oficial da União**, Brasília, 22 set. 2006. Seção 1, p. 01.

BRAY, E. E. et al. Characterizing early maternal style in a population of guide dogs. **Frontiers Psychology**, v. 8, p. 1-13, 2017a.

BRAY, E. E. et al. Effects of maternal investment, temperament, and cognition on guide dog success. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 34, p. 9128-9133, 2017b.

CÃO GUIA BRASIL, **O Cão-guia**. Disponível em: <<http://www.caoguiabrasil.com.br/page/ocaoguia.asp>>. Acesso em: 12 maio 2017.

CARMO, S. A. P. do; FONSECA, I. M. S. P. da; ROSA, I. M. N. G. Caracterização dos cães de assistência (cães-guia, cães para surdos e cães de serviço) em Portugal. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 109, p. 43-50, 2014.

CARON-LORMIER, G. et al. Using the incidence and impact of health conditions in guide dogs to investigate healthy ageing in working dogs. **The Veterinary Journal**, v. 207, p. 124-130, 2016.

ENNIK, I. et al. Suitability for field service in 4 breeds of guide dogs. **Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research**, v. 1, n. 2, p. 67-74, 2006.

FISHMAN, G. A. When your eyes have a wet nose: the evolution of the use of guide dogs and establishing the seeing eye. **Survey of Ophthalmology**, v. 48, n. 4, p. 452-458, 2003.

HARVEY, N. D. et al. Test-retest reliability and predictive validity of a juvenile guide dog behavior test. **Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research**, v. 11, p. 65-76, 2016.

HELEN KELLER. **Escola de cães-guias**. Disponível em: <<http://www.caoguia.org.br/>>. Acesso em: 15 jul. 2019.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo demográfico-2000-Tabulação avançada- Resultados Preliminares da amostra**, 2002. Disponível em: <<https://ww2.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/08052002tabulacao.shtm>>. Acesso em: 15 jul. 2019.

INSTITUTO MAGNUS. **Instituto Magnus - cães-guia**. Disponível em: <<https://www.institutomagnus.org/instituto>>. Acesso em: 18 jul 2019.

IRIS. **Conheça mais sobre o instituto IRIS**. Disponível em: <http://www.iris.org.br/quemsomos?gclid=CjwKCAjw9qfZBRA5EiwAiq0AbYiuEBijf27owip5bFXXL92tCqSo0Q1rilgYmqtXbewgN2cLh__eShoCPE0QAvD_BwE>. Acesso em: 15 jul. 2019.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO. **Institutos federais promovem formação de técnicos de excelência para adestrar cães-guia**. Disponível em: <<http://portal.mec.gov.br/ultimas-noticias/209-564834057/37171-institutos-federais-promovem-formacao-de-tecnicos-de-excelencia-para-adestrar-caes-guia>>. Acesso em: 16 maio 2017.

PESQUISA NACIONAL DE SAÚDE – 2013. **Ciclos de vida, Brasil e grandes regiões**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 2015. 92 p.

PETER, J. et al. “She’s a dog at the end of the day”: Guide dog owners’ perspectives on the behaviour of their guide dog. **Plos One**, v. 12, n. 4, p. 01-19, 2017.

TAVARES, L. B. Tecnologia assistiva. In: NÓBREGA, A. et al. **Livro acessibilidade**. 1.ed. Recife: Cepe Companhia Editora de Pernambuco, 2013. p. 41- 42.

WHITMARSH, L. The benefits of guide dog ownership. **Visual Impairment Research**, v. 7, n. 1, p. 27-42, 2009.



Capítulo

20

**Anatomia e histologia do trato digestório de tartaruga-
verde (*Chelonia mydas*): revisão de literatura**

Adriano Lima Stelzer Bindaco¹
César Oliveira Liesner²
Antônio de Calais Júnior³
Louisiane de Carvalho Nunes⁴

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: adrianostelzer48@gmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: cesarliesner01@hotmail.com

³ Universidade Estadual do Norte Fluminense, e-mail: vetcalais@hotmail.com

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

1 INTRODUÇÃO

A tartaruga-verde ou aruanã (*Chelonia mydas*) pertence à Classe Reptilia, Ordem Testudines e Família Cheloniidae. Possui distribuição circunglobal, habitando mares tropicais e subtropicais, sendo considerada a espécie de tartaruga marinha com maior população no Brasil. São animais altamente migratórios e utilizam como áreas de desova, ilhas oceânicas brasileiras, com destaque para a Ilha de Trindade (ES), a qual abriga o maior número de desova de *C. mydas* (ALMEIDA et al., 2011).

É a única, dentre as tartarugas marinhas, a apresentar hábito alimentar herbívoro. Entretanto, quando filhote, esses animais são onívoros com tendência carnívoras, se tornando exclusivamente herbívoros nas fases juvenil e adulta, na qual se alimentam de gramíneas marinhas e macroalgas. Entretanto é comum o consumo incidental de invertebrados, que são associados a espécies de algas. E devido a sua dieta, passam a maior parte do seu ciclo de vida em baías rasas e áreas próximas a costa, onde a vegetação marinha é abundante, adquirindo hábitos mais costeiros, principalmente os juvenis (ROMANINI, 2014).

O trato gastrointestinal de *C. mydas* é adaptado de acordo com seu hábito alimentar e ambiente que vive, diferenciando-se dos demais testudíneos. Apresenta um tubo digestório longo e com especializações, que promovem o aumento da superfície de absorção do alimento, que é de difícil digestão. Entre as adaptações destacam-se a presença de papilas esofágicas queratinizadas e de vilosidades na mucosa intestinal (MAGALHÃES et al., 2010; WYNEKEN, 2001).

Diante deste cenário, objetivou-se realizar uma revisão de literatura sobre as características anatômicas e histológicas dos órgãos que constituem o trato digestório de *C. mydas*, tendo em vista que o mesmo apresenta adaptações e particularidades, que são de extrema importância para estudos que envolvem esta espécie.

2 ANATOMIA E HISTOLOGIA DO TRATO DIGESTÓRIO DE TARTARUGA-VERDE (*Chelonia mydas*)

Neste capítulo o trato digestório será dividido em: bico, boca, tubo digestório (esôfago, estômago, intestino delgado e grosso e cloaca) e glândulas anexas (fígado e pâncreas).

2.1 BICO (RANFOTECA)

O bico é uma estrutura queratinizada que recobre os ossos da mandíbula superior e inferior, sendo denominada ranfoteca superior e inferior, respectivamente. Em *Chelonia mydas* as bordas são serrilhadas com processos pontiagudos, tendo a finalidade de apreender e cortar o alimento, que no caso da espécie, se trata de vegetação marinha, principalmente macroalgas (WYNEKEN, 2001).

2.2. BOCA (CAVIDADE ORAL)

A boca (cavidade oral) abriga estruturas como mandíbulas, faringe, palato, língua, esôfago, glote, tubas de Eustáquio e coanas internas (WYNEKEN, 2001).

2.2.1 Língua

A língua é um órgão muscular que está fixado no assoalho da cavidade oral e auxilia a tartaruga-verde durante a deglutição do alimento. Apresenta formato de losângulo e superfície áspera contendo pequenas projeções. Em sua porção final está localizada a glote e em sua porção basal tem-se o início do esôfago (MELO et al., 2019; WYNEKEN, 2001).

Histologicamente é constituída por mucosa de reveste extensa camada de músculo estriado esquelético. O epitélio é estratificado pavimento queratinizado e forma projeções curtas e achatadas de queratina, sem a formação de uma estrutura papilar, como no esôfago (descrito a seguir). A lâmina própria é de tecido conjuntivo frouxo e denso (MELO et al., 2019).

2.3 TUBO DIGESTÓRIO

2.3.1 Esôfago

O esôfago de *Chelonia mydas* é um órgão tubular musculomembranoso, adjacente a traqueia, com localização medial na região cervical, e desvio lateral para a esquerda (próximo ao coração) na cavidade celomática. É anatomicamente dividido em região proximal (P), medial

(M), distal (D) e junção gastroesofágica (JGE) e tem a função de transportar o alimento da boca ao estômago e expulsar o excesso de água. O seu comprimento médio varia de 17,25 a 20,47 cm em indivíduos juvenis e de 24,70 a 55,6 cm em adultos (CALAIS JÚNIOR; DAVID; NUNES, 2015; MAGALHÃES et al., 2007; MAGALHÃES et al., 2010; WYNEKEN, 2001).

A mucosa esofágica é caracterizada por papilas cônicas e pontiagudas, que se orientam no sentido do estômago, tornando-se progressivamente maiores em direção à região caudal do órgão. São numerosas e delgadas na região proximal, e de tamanho e diâmetro aumentados na região medial e distal, nesta apresentando também a redução do seu número. As papilas estão ausentes na região gastroesofágica, sendo substituídas por pregas reticulares longitudinais, que após o estreitamento da musculatura formam o esfíncter gástrico, caracterizando a transição do esôfago para o estômago (CHEN et al., 2015; CALAIS JÚNIOR; DAVID; NUNES, 2015; PRESSLER et al., 2003; WYNEKEN, 2001).

As papilas esofágicas facilitam a deglutição e retêm o alimento recém-ingerido, impedindo o seu refluxo durante a contração do esôfago para expelir do excesso de água (VALENTE et al., 2007; WYNEKEN, 2001). Em contrapartida, as papilas podem favorecer a ingestão acidental de resíduos sólidos de origem antrópica, uma vez que o plástico, por exemplo, ao ser ingerido, pode permanecer retido juntamente com o alimento (CALAIS JÚNIOR; DAVID; NUNES, 2015; MACEDO et al., 2011).

Histologicamente o esôfago de *C. mydas* é constituído por mucosa, muscular externa, adventícia e serosa. A mucosa esofágica das regiões proximal, medial e distal apresenta papilas revestidas por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado e lâmina própria aglandular de tecido mixóide. Na região gastroesofágica observa-se mucosa pregueada constituída pelo mesmo epitélio citado anteriormente e lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo contendo nódulos linfóides e glândulas produtoras de muco (CALAIS JÚNIOR; DAVID; NUNES, 2015). Este tipo de epitélio protege a mucosa contra atritos decorrentes da passagem do alimento pelo esôfago, enquanto que as glândulas auxiliam no transporte da ingesta para o estômago (CALAIS JÚNIOR; DAVID; NUNES, 2015; JUNKEIRA; CARNEIRO, 2013).

Na transição do esôfago para estômago é observada a mudança de epitélio estratificado pavimentoso para colunar estratificado e, por fim, colunar simples (CHEN et al., 2015).

A muscular é composta de músculo estriado esquelético, entremeado por abundante tecido conjuntivo frouxo, com sua disposição relacionada com a função e variando entre as porções esofágicas. Os feixes musculares são observados em forma circular e longitudinal, sendo responsáveis pela constrição e dilatação do esôfago, respectivamente. As regiões

proximal e medial possuem uma camada circular interna e uma longitudinal externa. Enquanto que as regiões distal e gastroesofágica, apresentam uma espessa camada longitudinal interna e uma delgada camada circular externa (CALAIS JÚNIOR; DAVID; NUNES, 2015; MAGALHÃES et al., 2012).

Externamente, o esôfago é recoberto por uma adventícia de tecido conjuntivo denso na porção inicial da região proximal e por serosa (revestida por mesotélio) de tecido conjuntivo do tipo denso na região medial, do tipo frouxo na região distal e na junção gastroesofágica (CALAIS JÚNIOR; DAVID; NUNES, 2015; MAGALHÃES et al., 2010).

Vale ressaltar a existência de um divertículo esofágico, observado por Magalhães et al. (2010), Wyneken (2001) e Work (2000). A ocorrência da estrutura é rara, sendo relatada em poucos animais, e caracterizando-se por uma saculação com mucosa lisa, na região gastroesofágica. Acredita-se que o divertículo esofágico atua como local para armazenamento de alimento ou câmara de fermentação e permite que o animal mantenha a ingesta por mais tempo no trato gastrointestinal com digestão completa do conteúdo (MAGALHÃES et al., 2010; WORK, 2000).

2.3.2 Estômago

O estômago é um órgão sacular com fundo cego, em forma de “J”, localizado a esquerda na cavidade celomática, com desvio para direita, quando se aproxima da primeira alça intestinal. Liga-se dorsalmente aos lobos pulmonar e hepático esquerdos, por meio dos ligamentos gastropulmonar e gastrohepático, respectivamente. Após o esfíncter gástrico, o estômago apresenta forma de “S” e mostra uma curvatura para esquerda (região cárdica) com posterior formação de uma grande bolsa (região fúndica), em seguida ascende para direita (região pilórica) e termina no esfíncter pilórico, que antecede o duodeno (CALAIS JÚNIOR; DAVID; NUNES, 2015; MAGALHÃES et al., 2007; MAGALHÃES et al., 2010; WYNEKEN, 2001). Em tartarugas-verdes o comprimento do estômago é de 78,50 cm nos adultos e nos juvenis varia de 22,37 a 26,38 cm (CHEN et al., 2015; MAGALHÃES et al., 2007; MAGALHÃES et al., 2012).

Por apresentar hábito alimentar herbívoro, *C. mydas* possui estômago complexo, pois funciona como reservatório ou câmara fermentativa. A mucosa é caracterizada por pregas longitudinais lisas nas regiões cárdica e pilórica (que desaparecem com a distensão do órgão) e estão completamente ausentes na região fúndica. A transição do estômago para o duodeno é

caracterizada por um esfíncter pilórico com pregas longitudinais na mucosa (MAGALHÃES et al., 2010; PARSONS; CAMERON, 1977).

Histologicamente é dividido em mucosa, muscular da mucosa, submucosa, muscular e serosa (MAGALHÃES et al., 2010).

A mucosa é constituída por epitélio colunar simples com grânulos mucosos (epitélio mucoso) e lâmina própria contendo tecido linfóide e glândulas túbulo-acinosas. O epitélio gera invaginações para dentro da lâmina própria, formando as fossetas gástricas, que são mais rasas na região cárdica e profundas na região pilórica. No fundo destas depressões ocorre a abertura das glândulas. A espessa camada muscular da mucosa é constituída de músculo liso (GEORGE; CASTRO, 1998; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; MAGALHÃES et al., 2010).

As glândulas da região cárdica são formadas por epitélio colunar e células produtoras de muco. Na região fúndica, local no qual essas estruturas são abundantes, há divisão entre zona superior, cujas glândulas possuem células epiteliais colunares e células do colo mucoso, e zona inferior, em que a produção de muco não é evidenciada. A região pilórica apresenta epitélio glandular colunar, com ou sem células mucosas (CHEN et al., 2015).

Na submucosa observa-se tecido conjuntivo frouxo bem vascularizado. A muscular é de músculo liso que se apresenta como uma camada circular interna e uma longitudinal externa. Nas regiões cárdica e fúndica a camada circular é formada por grupamentos de fibras musculares lisas, entremeados por tecido conjuntivo frouxo. Na região pilórica, há septos de fibras colágenas que se ramificam entre as fibras musculares lisas. Devido ao peristaltismo se propagar para região pilórica, as fibras de colágeno presentes, são flexíveis e resistentes a força de tração e, portanto, auxiliam neste processo. A camada externa longitudinal se difere, e apresenta fibras lisas contínuas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; MAGALHÃES et al., 2010; SIKIWA et al., 2013).

A serosa é de tecido conjuntivo sob mesotélio e, na região cárdica, são observadas adipócitos (MAGALHÃES et al., 2010).

2.3.3 Intestinos

Os intestinos de *Chelonia mydas* são divididos em intestino delgado e intestino grosso e apresentam o tamanho médio de 153,23 cm. Independente da divisão anatômica, todo o

segmento intestinal é composto de mucosa e muscular da mucosa, submucosa, muscular e serosa (CHEN et al., 2015).

O intestino delgado é um tubo longo com circunvoluções, que se inicia no esfíncter pilórico e termina no esfíncter ileocecal. É composto pelo duodeno (região inicial), jejuno e íleo, que são diferenciados internamente. O duodeno apresenta mucosa com pregas reticulares dispostas em “favo-de-mel”, estas que se tornam retilíneas e justapostas e caracterizam o jejuno e o íleo. Essas duas últimas regiões são de difícil diferenciação macroscópica (CHEN et al., 2015; MAGALHÃES et al., 2010; MAGALHÃES et al., 2012).

A mucosa possui vilosidades que aumentam a superfície de contato do intestino e permitem alta absorção. As estruturas apresentam-se como longas e filiformes (duodeno), curtas e digitiformes (jejuno) e foliadas (íleo). O epitélio é colunar simples com células caliciformes, que repousa sobre uma lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo vascular, que contém glândulas na região do duodeno e nódulos linfóides no jejuno. As células absorptivas possuem microvilosidades, que são longas e densas no duodeno e jejuno e diminuem no íleo. A camada muscular da mucosa consiste em fibras musculares lisas longitudinais (CHEN et al., 2015; MAGALHÃES et al., 2010).

A submucosa é de tecido conjuntivo frouxo vascularizado. A camada muscular possui uma camada circular interna e uma longitudinal externa. A serosa é responsável pelo revestimento externo do órgão (CHEN et al., 2015).

Intestino grosso é dividido em ceco, cólon e reto. Apresenta saculações e estreitamentos. As regiões saculares internamente são lisas e os estreitamentos apresentam pregas retilíneas (CHEN et al., 2015; MAGALHÃES et al., 2010; WORK, 2000).

Internamente o ceco possui pregas retilíneas longitudinais (semelhantes ao íleo) que se tornam transversais no cólon, que por vezes, são entremeadas por estruturas retilíneas. Na região do reto, observa-se predomínio de pregas retilíneas e longitudinais bem evidentes (CHEN et al., 2015; MAGALHÃES et al., 2010).

A mucosa é pregueada e composta de epitélio colunar simples e abundante células caliciformes. A lâmina própria é de tecido conjuntivo frouxo com presença de tecido linfóide difuso na região do reto. A camada muscular da mucosa é de músculo liso longitudinal. A submucosa é de tecido conjuntivo frouxo vascularizado e a camada muscular é dividida em uma circular interna e uma longitudinal externa, todas de músculo liso. Externamente o órgão é revestido por serosa (CHEN et al., 2015).

2.3.4 Cloaca

A cloaca é uma cavidade comum aos sistemas digestório e urogenital, participando na defecação, excreção e cópula dos répteis no geral. É constituída por três compartimentos, o coprodeu (região proximal), que faz parte do trato gastrointestinal, sendo responsável pelo recebimento de fezes oriundas do reto; o urodeu (região medial), que capta a urina; e o proctodeu (região distal) responsável pela cópula (WYNEKEN, 2001).

2.4 GLÂNDULAS ANEXAS

2.4.1 Fígado e vesícula biliar

O fígado de *Chelonia mydas* é um órgão com superfície lisa e homogênea de coloração roxa a marrom. É considerado o maior órgão visceral e está localizado na região ventral da cavidade celomática. É composto de dois lobos (direito e esquerdo) conectados por faixas de tecido hepático. O lobo hepático direito é o maior e, abriga em sua superfície ventral, a vesícula biliar. O parênquima hepático é responsável pelo metabolismo de carboidratos, proteínas e gorduras, remoção de toxinas, além da produção de albumina e de fatores de coagulação (WORK, 2000; WYNEKEN, 2001).

Os hepatócitos ainda produzem a bile, que por meio dos ductos biliares, é encaminhada para vesícula biliar, para armazenamento e posterior liberação. A vesícula biliar geralmente é verde-escura e se apresenta convexa quando cheia e côncava quando vazia. A bile armazenada atua na degradação de gorduras, sendo transportada até o duodeno por meio do ducto biliar comum, que se abre no lúmen duodenal por meio de uma papila, a ampola de Vater (WYNEKEN, 2001).

2.4.2 Pâncreas

O pâncreas de *Chelonia mydas* é liso, brilhante de coloração rósea e está localizado ao longo do duodeno, aderido ao mesentério, tendo contato com o baço em sua extremidade distal. Tem início após o esfíncter pilórico, passa pelo ducto biliar comum e termina na altura do baço

ou posterior ao mesmo. Apresenta um ducto biliar comum que conduz as enzimas pancreática para o intestino também por meio da ampola de Valter (WORK, 2000; WYNEKEN, 2001).

3 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. P. et al. Avaliação do estado de conservação da tartaruga marinha *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, v. 1, n. 1, p. 18-25, 2011.
- CALAIS JÚNIOR, A.; DAVID, J. O. A.; NUNES, L. C. Caracterização morfológica do esôfago de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 1, p. 127-135, 2015.
- CHEN, H. et al. Structure and function of the gastrointestinal tract of the green turtle (*Chelonia mydas*) Hatchling. **Asian Herpetological Research**, v. 6, n. 4, p. 317-330, 2015.
- GEORGE, L. L.; CASTRO, R. R. L. **Histologia comparada**. 2. ed. São Paulo, Roca, 1998.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.
- MACEDO, G. R. et al. Ingestão de resíduos antropogênicos por tartarugas marinhas no litoral norte do estado da Bahia, Brasil. **Ciência Rural**, v. 41, n. 11, p. 1938-1943, 2011.
- MAGALHÃES, M. S. et al. Análise comparativa do tubo digestório de tartarugas marinhas das espécies *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) e *Lepidochelys olivacea* (Escholtz, 1829). In: **ENCONTRO DE ZOOLOGIA DO NORDESTE – EZN**, 16, 2007, Garanhuns. Anais do XVI Encontro de Zoologia do Nordeste. Recife: Universidade de Pernambuco, 2007. v. único.
- MAGALHÃES, M. S. et al. Morfologia do tubo digestório da tartaruga verde (*Chelonia mydas*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 8, p. 676-684, 2010.
- MAGALHÃES, M. S. et al. Anatomy of the digestive tube of sea turtles (Reptilia: Testudines). **Zoologia**, v. 29, n. 1, p. 70-76, 2012.
- MELO, L. F. de. et al. Morphological description of the green turtle tongue (*Chelonia mydas*). **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, v. 6, n. 5, p. 291-296, 2019.
- PARSONS, T. S.; CAMERON, J. E. The internal relief of the digestive tract. In: GANS, G.; PARSONS, T. S. **Biology of the reptilia**. New York, Academic Press, 1977, p. 159-200.
- PRESSLER, B. M. et al. Endoscopic evaluation of the esophagus and stomach in three loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) and a Malaysian giant turtle (*Orlitia borneensis*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 34, n. 1, p. 88-92, 2003.

ROMANINI, E. **Ecologia alimentar de tartarugas-verdes, *Chelonia mydas* (Linnaeus 1758), em Ilhabela e Ubatuba – litoral norte de São Paulo, Brasil.** 2014. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

SIKIWA, T. et al. Histological study of *postmortem* juvenile green sea turtle (*Chelonia mydas*) from royal thai navy sea turtle nursery, Phang-nga, Thailand. **International Journal of Bioengineering and Life Sciences**, v. 7, n. 8, p. 771-774, 2013.

VALENTE, A. L. et al. Ultrasonographic imaging of loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). **Veterinary Record**, v. 161, n.7, p. 226-232, 2007.

WYNEKEN, J. **The anatomy of sea turtles.** U.S. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470. 2001. 172 p.

WORK, T. M. **Manual de necropsia de tortugas marinas para biólogos en refugios o areas remotas.** National Wildlife Health Center, Hawaii Field Station. 2000, 25p.



Capítulo

21

**Aplicações biotecnológicas das microalgas na
produção animal**

Silvia Pope de Araújo¹
Layon Carvalho de Assis²
Gilberto Rodrigues dos Santos³
Alison Zanete de Castro⁴
Pedro Pierro Mendonça⁵

¹ Universidade Federal do Rio de Janeiro, e-mail: silviapopedearaujo@gmail.com

² Instituto Federal do Espírito Santo – Campus de Alegre, e-mail: layoncdeassis@gmail.com

³ Instituto Federal do Espírito Santo – Campus de Alegre, e-mail: gilbertosprojetos@gmail.com

⁴ Instituto Federal do Espírito Santo – Campus de Alegre, e-mail: alisonzcastro@hotmail.com

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: ppierrom@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

As microalgas são reconhecidas como um dos organismos, mas antigos no planeta Terra. Segundo Lourenço (2006), o interesse na produção de biomassa de microalgas para diversas aplicações iniciou-se há mais de cem anos. O uso de microalgas por humanos data de 2000 anos atrás, em que os Chineses foram os primeiros a utilizarem *Nostoc* para sobreviverem (SPOLAORE et al., 2006). As aplicações mais simples e antigas de microalgas compreendem seu uso na alimentação de animais em aquicultura e na alimentação humana (DERNER et al., 2006). As microalgas são conhecidas da humanidade há séculos: existem registros de sua utilização como suplemento alimentar pelos Astecas no México no século XVI, assim como por populações africanas no Chade e Etiópia desde o século IX. Atualmente são consumidos milhares de toneladas de biomassa de microalgas como suplementos, principalmente obtidas a partir de cultivos comerciais de espécies de *Chlorella* e *Spirulina*, cultivadas em tanques e lagoas abertas (GOLDEMBERG, 2011). As pesquisas sobre produção em larga escala da biomassa de microalgas começaram por volta de 1960 e o número de artigos científicos relacionados à fotobiorreatores no período de 1990 a 2010 teve crescimento linear, de acordo com dados da revisão de Grobbelaar (2010).

No Brasil, o desenvolvimento de pesquisas com microalgas voltadas á produção em larga escala com objetivos em aplicações biotecnológicas ainda é, relativamente, recente. No Rio Grande do Sul, desde 1998 o Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande desenvolve trabalhos em escala piloto com microalgas do gênero *Arthrospira* (*Spirulina*) como fonte de proteínas (COSTA; DE MORAIS, 2011; MORAIS et al., 2009) e mais tarde iniciou-se a utilização na aquicultura e extração de óleo visando a produção de biocombustível.

A abordagem dos próximos tópicos tem como contexto os principais produtos da biomassa de microalgas, como pigmentos, carboidratos, proteínas, lipídios e suas aplicações biotecnológicas em diferentes áreas.

2 MICROALGAS

Embora o termo microalgas não possua valor taxonômico, é comumente utilizado pelos cientistas para a denominação de micro-organismos capazes de realizar fotossíntese, possuindo clorofila *a* e outros pigmentos acessórios (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001). As

microalgas são formadas por grupos distintos, sendo os mais abundantes os eucariotos, compreendendo as diatomáceas (Bacillariophyceae), as algas verdes (Chlorophyceae) e as algas douradas (Chrysophyceae). Além disso, há também as cianobactérias (Cyanophyceae ou algas verde-azuladas), que são organismos procariotas, embora consideradas no grupo das microalgas. A maioria das microalgas é autotrófica e organismos fotossintéticos, mas também existem microalgas heterotróficas (ENZING et al., 2014). As microalgas heterotróficas são facilmente cultivadas e controladas em biorreatores, elas utilizam carbono orgânico em vez de luz solar como fonte de energia. São capazes de usar fontes de carbono economicamente vantajosas para a produção de biomassa (HAN; MIAO; WU, 2006). Entretanto, as microalgas autotróficas são capazes de usar o dióxido de carbono como fonte de carbono e luz solar como fonte de energia, contribuindo para a fixação de carbono na biomassa (CHRISTI, 2007). Necessitam principalmente de três componentes principais para o crescimento, incluindo luz solar, a água e a fonte de carbono (NIGAM; SINGH, 2011). Através dos nutrientes obtidos nos habitats aquáticos, da luz absorvida do sol, do CO₂ capturado do ar, produzem cerca de 50% do oxigênio atmosférico, sendo um sistema biológico eficiente, para a produção de compostos orgânicos (SINGH; GU, 2010). Seu potencial fotossintético é reconhecido, na produção de compostos valiosos ou para energia, devido ao aproveitamento eficiente da energia solar, superando as plantas superiores. A literatura aponta que as microalgas são responsáveis por pelo menos 60% da produtividade primária global do planeta (SCHMITZ; MAGRO; COLLA, 2012).

Para o crescimento, as algas requerem uma ampla variedade de nutrientes minerais, além de luz, água e carbono. O nitrogênio e o fósforo são nutrientes essenciais necessários por algas em grandes quantidades (GRAHAM; GRAHAM; WILCOX, 2009). O nitrogênio é um componente indispensável de muitos componentes celulares de algas, tais como aminoácidos, nucleotídeos, clorofila e ficobilinas (RAVEN; GIORDANO, 2016). A maioria das espécies de microalgas é capaz de utilizar uma variedade de fontes de nitrogênio, nomeadamente de nitrogênio orgânico e de nitrogênio inorgânico (por exemplo, amônia, nitrato, nitrito) (LOURENÇO et al., 2002). O fósforo desempenha um papel importante nos processos metabólicos celulares, tais como transferência de energia (ATP) e constitui muitos componentes estruturais e funcionais necessários para o crescimento e desenvolvimento, como DNA, RNA e fosfolípidos (DYHRMAN, 2016). A composição bioquímica da célula pode ser manipulada pela concentração e forma de suprimento dos nutrientes (BOROWITZKA, 2016). As condições de cultivo das microalgas também podem influenciar na composição bioquímica da biomassa. A maioria das microalgas sofre mitose durante um intervalo definido, com

exceção das diatomáceas. Essas alterações impostas nos conteúdos celulares de proteínas, carboidratos, lipídeos e pigmentos, podem ser observados quando as culturas ficam sob uma luz de 12h:12h ciclo escuro, onde o nitrogênio é assimilado á noite, e o carbono é consumido sobre lipídios. No entanto, os macronutrientes e pigmentos foram acumulados durante o período de luz (FÁBREGAS et al., 2002). Em situações de limitação de nutrientes, o teor lipídico total pode ser superior a 40%. O nitrogênio em caso de limitação pode aumentar a produção de lipídeos, especialmente TAGs, contendo ácidos graxos saturados e monoinsaturados. No caso de altas irradiância e limitação de nutrientes (nitrogênio e fósforo), há um aumento no tamanho da fração lipídica e estimulam a acumulação de TAG, mas em caso de baixas irradiância, ocorre acúmulo de lipídeos polares (fosfolipídios e glicolipídeos), acumulando estruturalmente funcionalmente associados às membranas celulares (VILLARRUEL-LÓPEZ et al., 2017).

Microalgas apresenta uma enorme diversidade de formas e funções ecológicas, sendo mais de 100.000 tipos diferentes de espécies de microalgas presentes nos oceanos e na água doce (lagos, lagoas e rios), entre estas espécies, apenas 30.000 foram estudadas (RICHMOND, 2004). O estudo de microalgas é menos desenvolvido que o de macroalgas marinhas, mas suas vantagens de crescimento mais rápido, maior eficiência fotossintética e produção interna oferecem uma oportunidade para pesquisa de novos produtos nutricionais e suas aplicações econômicas (DRAGONE et al., 2011).

3 APLICAÇÕES ECONÔMICAS DAS MICROALGAS

Uma grande versatilidade de aplicações biotecnológicas pode ser atribuída às microalgas. Na área de bioenergia, as microalgas têm sido alvo de inúmeros estudos nos últimos anos visando à produção dos biocombustíveis (CHRISTI, 2007; LI et al., 2015; SINGH; GU, 2010) e outros lipídeos como os ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) com alto valor de mercado, como os ômega 3 e ômega 6 (KOLLER; MUHR; BRAUNEGG, 2014). Os pigmentos constituem outro grupo de biomoléculas com alto valor de mercado que pode ser extraído a partir de microalgas. Eles são considerados como os produtos de maior potencial para o sucesso comercial da biomassa das microalgas (GRANADO-LORENCIO et al., 2009; SPOLAORE et al., 2006). As microalgas também têm sido consideradas como promissoras para produção fermentativa de álcoois, principalmente etanol, em função da composição da parede celular e da capacidade de acumular amido como produto de reserva (LI et al., 2015). Além da utilização da biomassa de microalgas para atender às finalidades descritas, as microalgas ainda podem

produzir enzimas, esteróis, vitaminas, como, por exemplo, tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, piridoxina, biotina e ácido fólico. Além desses, encontra-se relatada à presença de compostos que atuam na resposta imune, anticancerígenos, antiinflamatórios e antibióticos (ABED; DOBRETSOV; SUDESH, 2009; PASQUET et al., 2011).

Além de todas essas utilidades econômicas, as microalgas também têm sido utilizadas como suplementos nutricionais para humanos e animais. Suplementos nutricionais produzidos a partir de microalgas tem sido o foco primário da biotecnologia de microalgas (SUGANYA et al., 2016). Além das microalgas serem utilizadas como alimento há centenas de anos por humanos, elas ainda apresentam proteínas de alto valor nutricional, maiores que as proteínas de outras fontes vegetais, por exemplo, trigo, arroz e legumes. Por outro lado, as microalgas são mais pobres que fontes de proteínas animais, como leite e carne (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010). A biomassa seca de microalgas dos gêneros *Chlorella*, *Dunaliella*, e *Spirulina* tem dominado o mercado. Esses produtos são dirigidos principalmente para o mercado nutracêutico e de alimentos saudáveis podendo gerar centenas de milhões de dólares (GOUVEIA et al., 2010).

Uma expansão na pesquisa sobre a utilização desta biomassa para alimentos, rações e biocombustível tem crescido bastante ao longo dos anos (CHEW et al., 2017). Além disso, a biodiversidade das microalgas permite aumentar o número de diferentes fontes de compostos bioativos, como carboidratos, lipídios, proteínas e pigmentos, micronutrientes, aditivos alimentares e cosméticos, ingredientes e suplementos dietéticos para alimentação animal e humana (PRIYADARSHANI; RATH, 2012).

Além da grande importância na natureza, as microalgas também são aproveitadas em atividades econômicas. A elevada gama de aplicações comerciais das microalgas está relacionada à elevada taxa de crescimento, condição que proporciona uma alta produção de biomassa em curtos intervalos de tempo, e à sua composição química, balanço dos componentes majoritários (proteínas, lipídeos e carboidratos) ou pelas concentrações de substâncias específicas (pigmentos fotossintéticos e ácidos graxos) (LOURENÇO, 2006).

A grande variabilidade de espécie possibilita que as microalgas sejam exploradas como fonte ilimitada de produtos. A imensa biodiversidade, aliada ao emprego de melhoramento genético e ao estabelecimento de tecnologias de cultivo em grande escala, vem permitindo que as microalgas sejam utilizadas em diversas aplicações biotecnológicas (BARCELLOS et al., 2012).

Becker (2004) relatou que as microalgas são uma fonte abundante de vitaminas e minerais, como as vitaminas A, B1, B2 e C e E, nicotinato, biotina, ácido fólico, ácido

pantotênico, niacina, iodo, potássio, ferro, magnésio e cálcio. Sendo assim, uma dieta nutricional equilibrada é necessária para a saúde e deve conter vitaminas, minerais, PUFA. A biomassa de microalgas é rica em vitaminas, podendo acumular α/β -tocoferol, α -tocotrienol (vitamina E) e fenóis lipossolúveis com propriedades antioxidantes. A vitamina E tem uma ampla aplicação biotecnológica, utilizado nos tratamentos de câncer, doenças cardíacas, doenças oculares, doenças de Alzheimer, Parkinson (PHAM-HUY; HE; PHAM-HUY, 2008; RUNNING, SEVERSON; SCHNEIDER, 2002).

As espécies de microalgas *D. tertiolecta* e *Tetraselmis suecica* quando cultivadas em condições de privação de nitrogênio aumentam a produção de vitamina E (DURMAZ, 2007). As microalgas também podem ser utilizadas na indústria alimentícia, como aditivo e conservante, que melhora a saúde e fotoproteção em cremes para a pele (ALBERTS et al., 1996).

A cobalamina (vitamina B12) é uma vitamina solúvel em água que pode ser produzida por algumas microalgas, um exemplo é a *Spirulina* sp., que pode chegar a produzir quantidades de vitamina B12 maiores quando comparado com alimentos vegetais ou animais. A vitamina C (ácido ascórbico) podem ser acumulados por algumas espécies de microalgas, que é uma vitamina hidrossolúvel com propriedades antioxidantes. A vitamina C é utilizada na biossíntese de colágeno, nitrina e neurotransmissores (RUNNING; SEVERSON; SCHNEIDER 2002).

A Figura 1 fornece uma visão geral esquemática dos principais produtos de microalgas, como lipídios, pigmentos, proteínas, carboidratos, biopolímeros, compostos bioativos, oxigênio ou bio-hidrogênio. Também, são indicadas as áreas de aplicações desses produtos, como aquicultura, aplicações farmacêuticas, nutrição humana e animal, entre outras aplicações.

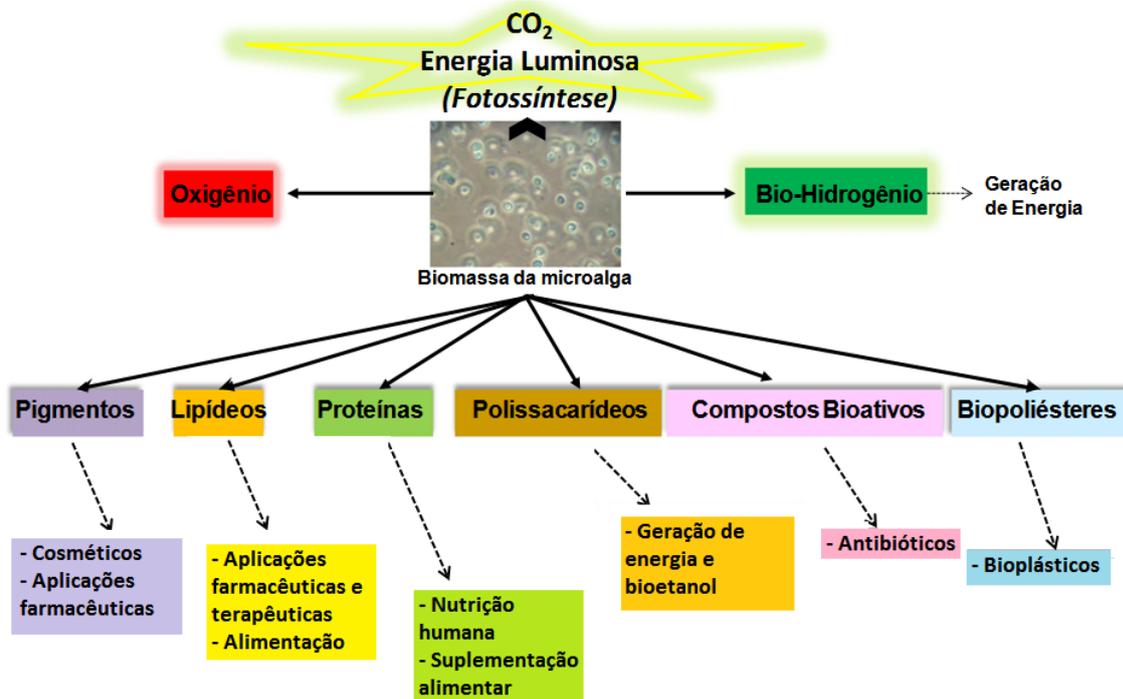


Figura 1: Visão geral dos produtos sintetizados por cepas de microalgas e áreas de aplicação. Traduzido e modificado de Miller, Muhr e Brauneegg 2014.

As microalgas são consideradas uma fonte natural notável, são utilizadas há mais de 2000 anos pelos chineses como alimento, mais tarde, as formas comerciais de microalgas (*Chlorella* sp. e *Spirulina* sp.), foram consumidas como alimentos saudáveis no Japão. Atualmente, a maioria dos produtos comercializados de microalgas está disponível nos mercados como alimento saudável, nas formas de comprimidos, cápsulas e líquidos, e seus produtos misturados com pastas, salgadinhos, balas, gomas, macarrão, vinho, bebidas e cereais matinais (PULZ; GROSS, 2004). Algumas espécies de microalgas merecem uma avaliação, mais focada, devido ao seu potencial. A *Chlorella*, é considerada uma importante fonte de nutrientes em muitas áreas, sendo amplamente vendida para suplementos para seres humanos e utilizados para animais aquáticos (BISHOP; ZUBECK, 2012). A concentração de proteína da biomassa seca de *Chlorella* pode chegar a uma faixa de 50 a 60% do seu peso seco, sendo sua qualidade semelhante a farinha de soja, proteína do leite e levedura (KOVAČ et al., 2013). Existem mais de 70 empresas envolvidas no cultivo de *Chlorella*, e o maior produtor é a Taiwan Chlorella Manufacturing and Co., que produz 400 toneladas de biomassa seca/ano, sendo que as vendas anuais de *Chlorella* excedem US\$ 38 bilhões. Barrow e Shahidi (2008) observaram que o extrato de *Chlorella* sp. apresentou vários benefícios a saúde, por exemplo, aumentou a concentração e hemoglobina, baixou os níveis de açúcar no sangue. *Isochrysis galabana*

pertence ao grupo de microalgas promissoras na indústria de alimentos e rações devido ao seu alto conteúdo lipídico, com uma fonte valiosa de PUFA n-3 de cadeia longa (BATISTA et al., 2013). *Spirulina* tem um alto teor de proteína e excelente valor nutricional e ganhou popularidade mundial como suplemento alimentar. Tem um teor de aminoácidos de 62% e é uma rica fonte natural de vitaminas A, B1, B2, B12, bem como pigmentos, incluindo carotenoides e xantofilas. Além disso, possui uma considerável quantidade de ácidos graxos essenciais e ácidos linolênicos, que não podem ser sintetizados por humanos (COLLA et al., 2007; SPOLAORE et al., 2006). A produção de *Spirulina* para consumo humano é superior a 1000 toneladas anuais. A Hainan Simai Enterprising é a maior produtora de *Spirulina* do mundo, ela está localizada na China e possui uma produção anual de pó de algas de 200 toneladas. Os Estados Unidos produzem vários produtos à base de *Spirulina*, principalmente em forma de pílulas e pó seco em spray (SPOLAORE et al., 2006). Da mesma forma, a empresa Cyanotech (Havaí, EUA) produz pó puro de *Spirulina*, de onde é extraído a ficocianina, conhecida comercialmente como “linha azul”, é usada como corante azul para alimentos e cosméticos (KANNAUJIYA et al., 2019).

Estes organismos são fontes de macro e micronutrientes e sua composição nutricional é geralmente conhecida. A biomassa desses organismos pode fornecer ingredientes naturais de alto valor agregado para suplementação de dietas animais, a fim de atender á crescente demanda de proteína e energia, podendo substituir o uso de aditivos sintéticos na alimentação animal.

4 MICROALGAS NA NUTRIÇÃO ANIMAL

O elevado consumo de proteína leva o ser humano a investir cada vez mais em técnicas de criação de gado, onde se utiliza uma imensa área de solo para pastagem, além de outros cultivarem que são destinados á alimentação complementar desses animais. A produção agrícola, também é outra opção para a obtenção de proteína, que depende de melhoramento genético, onde exigem elevados gastos com sementes, adubações do solo, irrigação e o uso de pesticidas no combate as pragas. Como alternativa, tem-se as microalgas com um alto potencial biotecnológico da sua biomassa, uma vez que estes micro-organismos podem ser cultivados em locais impróprios para a agricultura e pecuária. As condições de saúde do animal, como crescimento, sobrevivência, desenvolvimento, produtividade e fertilidade, dependem de uma alimentação balanceada (RAMARAJ et al., 2019). As microalgas são provedoras de excelentes compostos nutricionais, tais como proteína, lipídios e carboidratos, além de minerais e

antioxidantes, essenciais para as condições de saúde do animal, uma vez que apresentam um papel importante em alimentos para nutrição animal, podendo ser utilizado na aquicultura e animais de fazenda.

A crescente demanda de proteína e energia na dieta animal e a busca pela substituição de aditivos sintéticos colocam as microalgas em posição de destaque para fornecimentos desses ingredientes. O crescente consumo de proteína animal gera uma enorme busca por novas fontes de proteína adequadas para a produção de alimentos. Várias espécies de microalgas apresentam um alto teor de proteína, sendo um dos principais fatores que favorecem sua utilização na produção de rações (KOVÁČ et al., 2013). Na alimentação animal, os valores nutritivos das microalgas variam de acordo com a espécie utilizada e a forma de manipulação do cultivo, e também da própria adaptação animal aos ingredientes (MADEIRA et al., 2017). Muitos estudos têm sugerido que as algas podem ser utilizadas como fontes protéicas na forma de suplemento ou substituindo fontes convencionais, como farelo de soja e farinha de peixe (BECKER, 1994; SPOLAORE et al., 2006).

Segundo Shields e Lupatsch (2012) a utilização das microalgas favorecem o aumento no metabolismo lipídico, na resistência ao estresse, na função intestinal e na melhora do sistema imunológico dos animais. Uma das dez maiores empresas do mundo em nutrição animal, a All Tech, produz rações à base de microalgas, nos Estados Unidos. O produto foi introduzido no Brasil, pela empresa All Tech, no mercado pet. A ração é rica em Ômega 3, atrai pessoas que buscam para os animais de estimação os mesmos benefícios que os compostos proporcionam à saúde humana.

A suplementação dietética com microalgas aumentou a qualidade nutricional dos músculos de cordeiro em relação a ácidos graxos poli-insaturados e saturados, ácidos linoleicos e Omega 3 e 6 (DÍAZ et al., 2017). As dietas que incorporam produtos a base de microalgas, apresentaram ser mais eficientes do que as formuladas com produtos vegetais, elas elevam o conteúdo de PUFA de cadeia longa (EPA (C22:5n3) e DHA) (DÍAZ et al., 2011). Outros estudos anteriores relatam o efeito da suplementação de cordeiros, utilizando microalgas na composição de ácidos graxos, PUFA n3 de cadeia longa (HOPKINS et al., 2014; PONNAMPALAM et al., 2016).

Avaliações nutricionais e toxicológicas têm sido realizadas para a adequação da utilização da biomassa de algas como suplemento alimentar (BECKER, 2004). A biomassa algacea possui grandes perfis de vitaminas naturais, minerais e ácidos graxos essenciais, que melhora a resposta imunitária, o controle do peso e aparência externa, como pele saudável e uma pelagem brilhante nos animais (CERTIK; SHIMIZU, 1999).

Na alimentação das aves, as microalgas podem ser utilizadas na substituição das fontes convencionais de proteína, com uma taxa de incorporação de 5 a 10%. A incorporação desta biomassa algacea na avicultura traz uma perspectiva promissora da sua utilização no uso comercial na alimentação animal. Estudos realizados com a espécie de *Porphyridium* sp. na alimentação de aves, mostrou níveis baixos (10%) de colesterol nas gemas, e intensidade na coloração da gema devido á maior quantidade de carotenóides (BECKER, 2007; GINZBERG et al., 2000; SPOLAORE et al., 2006). Carotenóides são pigmentos lipofílicos com estruturas isoprenóides que ocorrem em plantas superiores e microalgas, utilizados como corante natural de alimentos e na alimentação de animais, são também conhecidos por seu valor terapêutico, incluindo atividades antiinflamatória e anticancerígenas, em grandes partes atribuídas às suas propriedades antioxidantes, que são em grande parte atribuídas ao seu forte efeito antioxidante que é usado para proteger os organismos contra estresse oxidativo (CHU, 2013; TAKAICHI, 2011).

Os lipídios produzidos pelas microalgas são um nutriente inestimável. O enriquecimento de ração com os lipídios LCPUFA de cadeia longa n-3 que são benéficos para a saúde, assim como o EPA e DHA, torna esse nutriente fundamental na dieta dos animais. Ovos de galinhas enriquecidos com DHA e leite de vaca enriquecido com LCPUFA n-3, ácidos graxos obtidos de diferentes espécies de microalgas, já podem ser encontrados nos mercados (BRUNEEL et al., 2013; RAPOSO; DE MORAIS; DE MORAIS, 2013). Hadley, Bauer e Milgram (2017) estudaram a microalga *Schizochtrium*, rica em ácidos graxos poli-insaturados, ômega-3 de cadeia longa (n-3 LCPUFA), incluindo p ácido docosaheptaenoico (DHA), um importante nutriente para o cérebro. O estudo foi realizado com cães já envelhecidos para avaliar o estado de memória de trabalho dos cães. Eles obtiveram resultados consistentes em relação a utilização da microalga como fonte de nutrição de ácido graxos em grandes mamíferos, trazendo uma função cerebral saudável para os cães.

Os carboidratos de microalgas compreendem uma grande parte da fibra dietética o que pode ser benéfico para o intestino dos animais (GUTIÉRREZ-SALMEÀN et al., 2015). A concentração de carboidratos em microalgas depende das condições de cultivo. Além disso, no caso da microalga *Arthrospira*, há ingestão eficiente de sua fração de carboidratos pelos ruminantes deve ser usada em níveis de ate 20% do consumo total de ração, quando comparado a outros tipos de rações de algas, como *Scenedesmus obliquus* e *Chlorella* (GOUVEIA et al., 2008). A utilização das microalgas em ruminantes tem sido como ingrediente ou suplemento alimentar para melhorar o desempenho do crescimento dos animais. Estudo realizados por Holman; Kashani; Malau-Aduli, (2012), demonstrou a utilização de *Arthrospira platensis* como

ingrediente, para ganho de peso de cordeiro desmamados foi alcançada no nível de 10%. El-Sabagh et al. (2014), aplicaram a mesma espécie de microalga como complemento de ração, e concluíram que poderia ser incorporado com sucesso em dietas como aditivo alimentar para crescimento em vacas leiteiras. Kovač et al. (2013) relata que nas rações os carboidratos são os principais contribuintes e energia para os animais, exibindo um papel importante em manter o trato gastrointestinal saudável.

O uso de microalgas como ingrediente alimentar é muito promissor, como alternativa de culturas alimentares básicas, como soja e milho, contribuindo com a cadeia alimentar humana e para a sustentabilidade da agricultura. As microalgas também destacam como alternativa sustentável na aquicultura, contribuindo contra a exploração pesqueira excessiva e para a produção de animais e a promoção da saúde humana (MADEIRA et al., 2017).

5 MICROALGAS NA AQUICULTURA

Aquicultura é o processo de produção em cativeiro de organismos com “habitat” predominantemente aquático em qualquer fase de desenvolvimento, ou seja, ovos, larvas, pós-larvas, juvenis ou adultos (VALENTI, 2000). As microalgas são essenciais para a criação comercial destes animais, especialmente para larvas e juvenis de moluscos bivalves, camarões e zooplâncton (HEASMAN et al., 2000; MULLER-FEUGA, 2000). O cultivo integrado das microalgas para tratamento de águas residuais e o emprego da biomassa para alimentação de animais em aquicultura parece ser uma atividade atrativa e bastante promissora, ao reduzir os custos de cultivo do aquicultor e permitir um retorno financeiro à Estação de Tratamento.

No entanto, para empregar determinada biomassa de algas na nutrição animal é necessário um grande controle da qualidade da biomassa produzida, para garantia de seu valor nutricional. Num consórcio tratamento de efluentes-aquicultura não é possível tal controle devido as possíveis variações na composição química do efluente ao longo do tempo. A determinação da composição bioquímica das microalgas fornece indicações importantes sobre sua qualidade para o uso como alimento, no sentido de estabelecer-se uma dieta adequada para os animais em cultivo (LEONARDOS; LUCAS, 2000). Como a composição bioquímica da microalga é diretamente influenciada pela composição do seu meio de cultivo, a biomassa de algas produzidas por águas residuais não é utilizada para nutrição animal (BOROWITZKA, 2016). As aplicações mais comumente citadas na literatura para a biomassa de algas produzidas

em sistemas de tratamento integrado é sua utilização como biofertilizante e para produção de energia.

Recentemente, a biomassa de microalgas seca foi apresentada como matéria prima em substituição parcial das proteínas e fontes lipídicas nos alimentos para peixes (CHINI ZITTELLI et al., 2013). Muito interesse tem sido focado no potencial biotecnológico das microalgas, principalmente devido à identificação de diversas substâncias sintetizadas por estes micro-organismos. A imensa biodiversidade e a variabilidade da composição da biomassa decorrente das condições de crescimento, aliadas ao emprego de melhoramento genético e ao estabelecimento de tecnologia de cultivo em grande escala, vêm sendo realizado visando à produção de biomassa tanto para uso na elaboração de alimentos quanto para a obtenção de compostos naturais com alto valor no mercado mundial (DERNER et al., 2006). As microalgas em particular, além de suas aplicações na aquicultura, têm atraído atenção crescente para a suplementação alimentar para animais, uma vez que são fonte natural de pigmentos, antioxidante e outros compostos bioativos que lhe dão propriedades nutricionais além de seu alto valor nutricional (SPOLAORE et al., 2006).

As principais aplicações das microalgas na aquicultura estão direta ou indiretamente associadas à nutrição de várias espécies de animais de criação aquática. A utilização de espécies de microalgas na dieta dos peixes pode levar a uma redução de 50% em seu preço e aumentar o valor nutricional. Geralmente, é utilizado numa combinação de duas ou mais espécies de microalgas (SVIRCEV, 2005). As microalgas são utilizadas como alimento para larvas e moluscos juvenis e peixes, e também para criação de zooplâncton necessário para alimentação de animais juvenis (CHEN,2003).

Os gêneros de microalgas mais utilizados na aquicultura são *Spirulina*, *Clhorella*, *Tetraselmis*, *Isochrysis*, *Pavlova*, *Phaeodactylum*, *Nannochloropsis*, *Skeletonema* e *Thalassiosira*. A *Spirulina* é amplamente utilizada em rações na aquicultura, particularmente na alimentação de peixes tropicais, devido as suas ricas quantidades de pigmentos (RICHMOND, 1988). Palmegiano et al. (2005) demonstram que os peixes alimentados com ração a base de *Spirulina* obteve um melhor crescimento. A ficocianina e carotenoides presente na *Spirulina* e *Dunaliella* sp. trazem melhorias de cor em peixes ornamentais. Peixes alimentados com *Spirulina* têm menos gordura abdominal e têm melhor sabor, carne mais firme e pele mais clara, trazendo uma melhora na palatabilidade dos alimentos (MORI, 1987).

Os pigmentos produzidos pelas microalgas influenciam na coloração dos pescados, favorecendo a aceitabilidade do produto obtido a partir deste. A falta de alguns carotenoides na dieta de algumas espécies de pescados de cativeiro, como no caso do camarão e do salmão, faz

com que sua coloração presente seja diferente da coloração do mesmo em seu ambiente natural (MORIEL et al., 2005). As espécies de microalgas *Dunaliella* sp. e *Haematococcus* sp. produzem carotenoides e a luteína, que desempenham um papel importante no crescimento de larvas de peixes (DEL CAMPO et al., 2000). A suplementação da ração com a microalga *Dunaliella salina* para a alimentação da lagosta marrom (*Cherax tenuimanus*) demonstrou um aumento no crescimento e na pigmentação do animal (SOMMER; MORRISSY; POTTS, 2011). Para as espécies de camarão, salmão, truta, ouriço-do-mar, lagosta e peixe ornamental a astaxantina, β -caroteno demonstrou ser essencial para o crescimento, sobrevivência e pigmentação destes organismos no período inicial de alimentação (LAKEH et al., 2010; NIU et al., 2009; SKJANES; REBOURS; LINDBLAD, 2013). A utilização da microalga na alimentação de *Artemia* aumenta a taxa de crescimento devido à dieta com β -caroteno, fornecendo uma correlação positiva entre as taxas de sobrevivência e concentração de pigmentos no tecido do camarão, indicando que o pigmento desempenha um papel vital na melhoria das taxas de sobrevivência dos camarões (CHIEN; JENG, 1992).

Comparados aos outros animais, os peixes exigem uma maior quantidade de proteína dietética. Rações completas para peixes contêm entre 28 a 50% de proteína bruta (PB), dependendo da fase de desenvolvimento, do ambiente e da espécie. Os peixes aproveitam muito bem os carboidratos e as gorduras como fonte de energia. Isto permite poupar a proteína das rações para uso predominante no crescimento. Conhecer a energia digestível dos alimentos é fundamental na formulação de rações suplementares e completas. O balanço entre a energia digestível e a proteína nas rações é fundamental pra maximizar a eficiência alimentar e o crescimento dos peixes (KUBITZA, 2011).

Recentemente, a biomassa de microalgas seca foi apresentada como matéria prima em substituição parcial das proteínas e fontes lipídicas nos alimentos para peixes (CHINIZITTELLI et al., 2013). Muito interesse tem sido focado no potencial biotecnológico das microalgas, principalmente devido à identificação de diversas substâncias sintetizadas por estes micro-organismos. A imensa biodiversidade e a variabilidade da composição da biomassa decorrente das condições de crescimento, aliadas ao emprego de melhoramento genético e ao estabelecimento de tecnologia de cultivo em grande escala, vêm sendo realizado visando à produção de biomassa tanto para uso na elaboração de alimentos quanto para a obtenção de compostos naturais com alto valor no mercado mundial (DERNER et al., 2006).

A grande variedade de produtos a partir do metabolismo das microalgas demonstra a importância deste organismo na produção de biomassa. Porém, os cultivos devem ser feitos de

maneira adequada e eficaz, para que haja produtos eficientes para poderem ser utilizados de forma correta, podendo ser benéfico para a humanidade.

6 REFERENCIAS

ABED, D.; DOBRETSOV, S.; SUDESH, K. Applications of cyanobacteria in biotechnology. **Journal of Applied Microbiology**, v. 106, n. 1, p. 1-12, 2009.

ALBERTS, D. S. et al., Disposition and metabolism of topically administered alpha-tocopherol acetate: a common ingredient of commercially available sunscreens and cosmetics. **Nutrition and Cancer**, v. 26, p. 193-201, 1996.

BATISTA, A. P. et al., Comparison of microalga biomass profiles as novel functional ingredient for food products. **Algal Research**, v. 2, p. 164-173, 2013.

BARCELLOS, A. D. et al., Microalgas e seu potencial de uso. **Caderno de propeção-congresso brasileiro de prospecção tecnológica**. 2012.

BARROW, C.; SHAHIDI, F.; Marine nutraceuticals and functional foods. **Food science & technology**. CRC Press, United State. 2008.

BECKER, E. W. Microalgae as a source of protein. **Biotechnol.** v. 25, p. 207-210, 2007.

_____. Microalgae in human and animal nutrition. In: RICHMOND, A. Editora **Microalgal culture**. Handbook, Blackwell: Oxford. p. 312-351. 2004.

_____. Microalgae Biotechnology and Microbiology. **Cambridge university press**, U.K. 1994.

BISHOP, W. M.; ZUBECK, H. M. Evaluation of microalgae for use as nutraceuticals and nutritional supplements. **Journal of Nutrition and Food Sciences**, v. 25, p. 184, 2012.

BOROWITZKA, M. A. Algal physiology and large-scale outdoor cultures of microalgae. In: BOROWITZKA, M. A.; BEARDALL, J.; RAVEN, J. A. **The physiology of microalgae**. 1. ed. Springer International Publishing: Switzerland. 2016. p. 601-652.

BRUNEEL, C. et al. Impact of microalgal feed supplementation on omega-3 fatty acid enrichment of hen eggs. **Journal Functional Foods**, v. 5, p. 897–904, 2013.

CERTIK, M.; SHIMIZU, S. Biosynthesis and regulation of microbial polyunsaturated fatty acid production. **Journal Bioscience Bioengineering**, v. 87, p. 1–14, 1999.

CHEN, Y. C. Immobilized *Isochrysis galbana* (Haptophyta) for long-term storage and applications for feed and water quality control in clam (*Meretrix lusoria*) cultures. **Journal of Applied Phycology**, v. 15, p. 439–444, 2003.

- CHEW, K.W. et al. Microalgae biorefinery: high value products perspectives. **Bioresource Technology**, v. 229, p. 53–62, 2017.
- CHIEN, Y. H.; JENG, S. C. Pigmentation of kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate. by various pigment sources and levels and feeding regimes. **Aquaculture**, v. 102, p. 333–346. 1992.
- CHINI ZITTELI, G. et al. Photobioreactors for microalgae biofuel production. In: BOROWITZKA, M.; MOHEIMANI, N. **Algae for biofuels and energy**. Springer: London. 2013. p. 115-131.
- CHRISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 25, p. 294–306, 2007.
- CHU, W. Biotechnological applications of microalgae. **Biotechnological Applications of Microalgae**, v. 6, n. 126, p. 24–37, 2013.
- COLLA, L. M. et al. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 1489–1493, 2007.
- COSTA, J. A. V.; DE MORAIS, M. G. The role of biochemical engineering in the production of biofuels from microalgae. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 2-9, 2011.
- DEL CAMPO, J. A. et al. Carotenoid content of chlorophycean microalgae: factors determining lutein accumulation in *Muriellopsis* sp. (Chlorophyta). **Journal Biotechnology**, v. 76, p. 51–59, 2000.
- DERNER, R. B. et al. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciências Rural**, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, 2006.
- DÍAZ, M. T. et al. Feeding microalgae increases Omega 3 fatty acids of fat deposits and muscles in light lambs. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 56, p. 115-123, 2017.
- DÍAZ, M. T. et al. Nutritional and sensory aspects of light lamb meat enriched in n-3 fatty acids during refrigerated storage. **Food Chemistry**, v. 124, p. 147–155, 2011.
- DRAGONE, G. et al. Nutrient limitation as a strategy for increasing starch accumulation in microalgae. **Applied Energy**, v. 88, p. 3331–3335, 2011.
- DURMAZ, Y. Vitamin E (alpha-tocopherol) production by the marine microalgae *Nannochloropsis oculata* (Eustigmatophyceae) in nitrogen limitation. **Aquaculture**, v. 272, p. 717–722, 2007.
- DYHRMAN, S. T. Nutrients and their acquisition: phosphorus physiology in microalgae. In: BOROWITZKA, M. A.; BEARDALL, J.; RAVEN, J. A. **The physiology of microalgae**. 1. ed. Springer International Publishing: Switzerland. 2016. p. 155-183.

EL-SABAGH, M. R. et al. Effects of *Spirulina platensis* algae on growth performance antioxidative status and blood metabolites in fattening lambs. **Journal Agricultural Science**, v. 6, p. 3, 2014.

ENZING, C. et al. Microalgae-based products for the food and feed sector: an outlook for Europe. **JRC Scientific and Policy Reports**, 2014.

FÁBREGAS, J. et al. Changes in the cell composition of the marine microalga, *Nannochloropsis gaditana*, during a light: dark cycle. **Biotechnology**, v. 24, p. 1699–1703, 2002.

GINZBERG, A. et al. Chickens fed with biomass of the red microalga *Porphyridium* sp. have reduced blood cholesterol level and modified fatty acid composition in egg yolk. **Journal Applied Phycology**, v. 12, p. 325–330, 2000.

GOLDEMBERG, S. Produção e utilização de microalgas. **Revista Ecoenergia**. Ed Abr - Jun, 2011.

GOUVEIA, L. et al. Microalgae in novel food products. In: PAPADOPOULOS, K. N. **Food chemistry research developments**. Nova Science Publishers: New York, NY, USA. 2008. p. 1–37.

GOUVEIA, L. et al. Microalgae source of natural bioactive molecules as functional ingredients. **Food Science & Technology Bulletin: Functional Foods**, v. 7, p. 21–37, 2010.

GRAHAM, L. E.; GRAHAM, J. M.; WILCOX, L. W. **Algae**. 2. ed. San Francisco. 2009.

GRANADO-LORENCIO, F. et al. *In vitro* bioaccessibility of lutein and zeaxanthin from the microalgae *Scenedesmus almeriensis*. **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 747-752, 2009.

GROBBELAAR, J. Microalgal biomass production: challenges and realities. **Photosynthesis Research**, v. 106, n. 1-2, p. 136-144, 2010.

GUTIÉRREZ-SALMEÁN, G. et al. Nutritional and toxicological aspects of *Spirulina* (Arthrospira). **Nutricio Hospitalaria**, v. 32, p. 34–40, 2015.

HADLEY, K. B.; BAUER, J.; MILGRAM, N. W. The oil-rich alga *Schizochytrium* sp. as a dietary source of docosahexaenoic acid improves shape discrimination learning associated with visual processing in a canine model of senescence. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 118, p. 10–18, 2017.

HAN, X.; MIAO, X. L.; WU, Q. Y. High quality biodiesel production from heterotrophic growth of *Chlorella protothecoides* in fermenters by using starch hydrolysate as organic carbon. **Journal Biotechnology**, v. 126, p. 499–507, 2006.

HEASMAN, M. et al. Development of extended shelflife micro-algae concentrate diets harvested by centrifugation for bivalve molluscs – a summary. **Aquaculture Research**, v. 31, p. 637-659, 2000.

- HOLMAN, B. W. B.; KASHANI, A.; MALAU-ADULI, A. E. O. Growth and body conformation responses of genetically divergent Australian sheep to *Spirulina (Arthrospira platensis)* supplementation. **Journal of Experimental Agriculture**, v. 2, p. 160–173, 2012.
- HOPKINS, D. L. et al. The impact of supplementing lambs with algae on growth: meat traits and oxidative status. **Meat Science**, v. 98, p. 135–141, 2014.
- KANNAUJIYA, V. K. et al. Phycobiliproteins and their commercial significance. In: **Cyanobacteria**. Academic Press, 2019. p. 207-216.
- KOLLER, M.; MUHR, A.; BRAUNEGG, G. Microalgae as versatile cellular factories for valued products. **Algal Research**, v. 6, p. 52-63, 2014.
- KOVAČ, D. J. et al. Algae in food and feed. **Food Feed Research**, v. 40, p. 21–31, 2013.
- KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. 2. Ed. Jundiaí: F. Kubitza. 2011. 316 p.
- LAKEH, A. A. B. et al. Growth performance, mortality and carotenoid pigmentation of fry offspring as affected by dietary supplementation of astaxanthin to female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) broodstock. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 26, p. 35–39, 2010.
- LEONARDOS, N.; LUCAS, I. A. N. The nutritional value of algae grown under different culture conditions for *Mytilus edulis* L. larvae. **Aquaculture**, v. 182, p. 301-315. 2000.
- LI, J. et al. Biological potential of microalgae in China for biorefinery-based production of biofuels and high value compounds. **New biotechnology**, v. 32, n. 6, p. 588-596, 2015.
- LOURENÇO, S. O. et al. Amino acid composition, protein content and calculation of nitrogen-to-protein conversion factors for 19 tropical seaweeds. **Phycological Research**, v. 50, p. 233-241, 2002.
- LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. Editora Rima: São Carlos. 2006. 588 p.
- MADEIRA, M. S. et al. Microalgae as feed ingredients for livestock production and meat quality: A review. **Livestock Science**, v. 205, p. 111–121, 2017.
- MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 217-232, 2010.
- MILLER, M.; MUHR, A.; BRAUNEGG, G. Microalgas as versátil e celular factores for valued produtos. **Algal Research**, v. 6, p. 52-63, 2014.
- MORAIS, M. G. et al. Pilot scale semicontinuos production of *Spirulina* biomass in southern Brazil. **Aquaculture**, v. 294, n. 1-2, p. 60-64, 2009.
- MORI, T. Pigmentation of cultured sweet smelt fed diets supplemented with a blue green alga *Spirulina* supplemented diet. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v. 59, p. 165, 1987.

- MORIEL, D. G. et al. Effect of feeding methods on the astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* in fed-batch process. **Brazilian Archives of biology and Technology**, v. 48, n. 3, p. 397-401, 2005.
- MULLER-FEUGA, A. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. **Journal of Applied Phycology**, v. 12, p. 527-534, 2000.
- NIGAM, P. S.; SINGH, A. Production of liquid biofuels from renewable resources. **Progress in Energy Combustion Science**, v. 37, p. 52–68, 2011.
- NIU, J. et al. Effect of dietary astaxanthin on growth, survival, and stress tolerance of postlarval shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 40, p. 795–802, 2009.
- PALMEGIANO, G. B. et al. Spirulina as a nutrient source in diets for growing sturgeon (*Acipenser baeri*). **Aquaculture Research**, v. 36, p. 188–195, 2005.
- PASQUET, V. et al. Study on the microalgal pigments extraction process: Performance of microwave assisted extraction. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 1, p. 59-67, 2011.
- PHAM-HUY, L. A.; HE, H.; PHAM-HUY, C. Free radicals, antioxidants in disease and **International Journal of Biomedical**, v. 4, n. 2, p. 89–96, 2008.
- PONNAMPALAM, E. N. et al. Muscle antioxidant (vitamin E) and major fatty acid groups, lipid oxidation, and retail colour of meat from lambs fed a roughage-based diet with flaxseed or algae. **Meat Science**, v. 111, p. 154–160, 2016.
- PRIYADARSHANI, I.; RATH, B. Commercial and industrial applications of micro algae - a review. **Journal Algal Biomass Util**, v. 3, p. 89–100, 2012.
- PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 65, p. 635–648, 2004.
- RAPOSO, M. F.; DE MORAIS, R. M. S. C.; DE MORAIS, A. M. M. B.; Health applications of bioactive compounds from marine microalgae. **Life Sciences**, v. 93, p. 479–486, 2013.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 6. Ed. Ed. Guanabara Koogan S.A.:Rio de Janeiro. 2001. 906 p.
- RAVEN, J. A.; GIORDANO, M. Combined nitrogen. In: BOROWITZKA, M. A.; BEARDALL, J.; RAVEN, J. A. **The physiology of microalgae**. 1. ed. Springer International Publishing, Switzerland. 2016. p. 143-154.
- RICHMOND, A. **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. Blackwell Science: Oxford. 2004. 566 p.
- RICHMOND, A.; *Spirulina*. In: BOROWITZKA, A.; BOROWITZKA, L. **Microalgal biotechnology**. Cambridge University Press: United Kingdom. 1988. p. 83–121.

RUNNING, J. A.; SEVERSON, D. K.; SCHNEIDER, K. J. Extracellular production of L-ascorbic acid by *Chlorella protothecoides*, Prototheca species, and mutants of *P. moriformis* during aerobic culturing at low pH. **Journal Industrial Microbiology Biotechnology**, v. 29, p. 93–98, 2002.

SCHMITZ, R.; MAGRO, C.; COLLA, L. M. Aplicações ambientais de microalgas. **Revista CIAETC – UFP**, v. 4, p. 48-60, 2012.

SHIELDS, R. J.; LUPATSCH, I. Algae for aquaculture and animal feeds. **Technikfol Theorie Praxis**, v. 21, p. 2337, 2012.

SINGH, J.; GU, S. Commercialization potential of microalgae for biofuels production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 9, p. 2596-2610, 2010.

SKJANES, K.; REBOURS, C.; LINDBLAD, P. Potential for green microalgae to produce hydrogen, pharmaceuticals and other high value products in a combined process. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 33, n. 2, p. 172–215, 2013.

SOMMER, T. R.; MORRISSY, N. M.; POTTS, W. T. Growth and pigmentation of marron (*Cherax tenuimanus*) fed a reference ration supplemented with the microalga, *Dunaliella salina*. **Aquaculture**, v. 99, p. 285–295, 2011.

SPOLAORE, P. et al. Commercial applications of microalgae. **Journal Bioscience Bioengineering**, v. 101, n. 2, p. 87–96, 2006.

SUGANYA, T. et al. Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with biofuels production: A biorefinery approach. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 55, p. 909–941, 2016.

SVIRČEV, Z. Microalgae and cyanobacteria in biotechnology. **Faculty of Science, Novi Sad, Serbia**, 2005.

TAKAICHI, S. Carotenoids in Algae: distributions Biosynthesis and Functions. **Marine Drugs**, v. 9, n. 6, p. 1101–1118, 2011.

VALENTI, W. C. Introdução. In: VALENTI, W. C. et al. **Aquicultura no Brasil. Bases para o desenvolvimento sustentável**. CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia, Brasília. 2000. p. 25-32.

VILLARRUEL-LÓPEZ, A.; ASCENCIO, F.; NUNO, K. Microalgae, a potential natural functional food source-a review. **Food Quality and Functionality**, v. 67, n. 4, p. 251-263, 2017.



Capítulo

22

Farinha de insetos na alimentação de peixes

Ana Caroline Figueiredo ¹
Hortência César Gonçalves ²
Hugo da Silva Nascimento ³
Katiussi de Negreiros Silva ⁴
José Geraldo de Vargas Júnior ⁵
Leandro Santos Costa ⁶

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: ana-caroline-figueiredo@hotmail.com

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

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

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

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: jose.vargas@ufes.br

⁶ Universidade Federal de Viçosa, e-mail: leandrocapitoliomg@yahoo.com

1 INTRODUÇÃO

A piscicultura apresenta grande importância em âmbito econômico mundial. De acordo com os dados da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO, 2013) o pescado se destaca como uma das proteínas de origem animal mais consumida no mundo. A produção de peixes em 2017, apresentou aumento de 8% ao ano quando comparado aos anos anteriores, atingindo cerca de 691.700 toneladas, com expectativa de aumento no consumo interno para os próximos anos (PEIXE BR, 2018). No entanto, para continuar a expansão é necessário investir em tecnologias e, dentre estas, tem-se as relacionadas a nutrição e alimentação, para que haja maior eficiência de produção e conseqüentemente, consiga atender a produção animal em função da demanda por peixes no mercado (FAO, 2015).

O custo de produção na piscicultura comercial assim como de outras espécies, é impactado principalmente pelo custo com a alimentação. Cerca de 40 a 70% do custo de produção se deve à alimentação, dependendo do sistema de cultivo empregado, da produtividade alcançada e da escala de produção (ANDRADE et al., 2015). Além disso, o preço da ração depende de diversos fatores, entre eles, as matérias primas, tais como milho, farelo de soja, de trigo, e farinha de peixes (ARAÚJO, 2010).

Através disso, a utilização de insetos e farinha de insetos têm sido avaliados como fonte sustentável e alternativa para a alimentação animal (FAO, 2015). De acordo com Kinyuru et al. (2013) eles possuem composição nutricional adequada para inclusão na dieta de algumas espécies de peixes. Além disso, Henry et al. (2015) relatam que as farinhas de insetos após os métodos de processamento podem apresentar melhoria da palatabilidade e digestibilidade, além de possuírem perfil de aminoácidos bastante significativo na nutrição de peixes.

Segundo Navarro et al. (2006) tanto no ambiente natural quanto em cultivo, os peixes, necessitam de diferentes nutrientes para manutenção da homeostase fisiológica. Na dieta é de extrema importância a proteína e a energia, sendo a parte protéica exigida em maiores quantidades. Os alimentos protéicos representam a maior proporção dos custos da ração em sistemas de cultivo (MEURER et al., 2003) e com isso, a farinha de inseto seria alternativa plausível para redução de tais custos.

De acordo com Collavo et al. (2005), os principais fatores a se utilizarem a farinha de insetos, é pelo fato de que insetos crescem e se reproduzem facilmente, e podem alimentar-se de resíduos orgânicos. A partir do momento que alcançar a produtividade em larga escala será possível baratear o custo da produção e chegar a viabilidade econômica através da substituição

de ingredientes protéicos tradicionais como farinha de peixes e farelo de soja (KHAN; ZUBAIRY, 1971).

2 FARINHA DE INSETOS

Para atender à crescente demanda do mercado são necessárias novas fontes de proteínas em substituição total ou parcial às atuais fontes utilizadas. Para a utilização adequada de ingredientes não convencionais é necessário avaliar a qualidade, disponibilidade, presença de fatores antinutricionais e a composição nutricional desses ingredientes em potencial (VASCONCELLOS, 2010). Ramos et al. (1997), afirmam que de modo geral os insetos podem ser considerados boa fonte de proteína, vitaminas e energia, pois como todo ser vivo, possui em sua composição corporal nutrientes de diferentes classificações que são essenciais à vida. Através disso, os insetos ou suas farinhas podem representar alternativa de alimento não convencional para peixes (RUMPOLD; SCHLÜTER, 2013).

Na dieta animal os alimentos são incluídos em forma de farelos ou farinhas, sendo os farelos obtidos através da moagem de ingredientes após a retirada do óleo e as farinhas obtidas através da moagem de ingredientes inteiros. Diante disso, os insetos utilizados na alimentação animal, passam pelo processo de moagem dos insetos secos e são incluídos na forma de farinha na dieta animal, o que possibilita ao produto maior vida útil. Tal processo elimina estruturas rígidas pertencente aos insetos, como patas e o exoesqueleto de quitina, tornando o alimento mais palatável (VILELLA, 2018). A farinha de insetos possui grande potencial como alimento, devido ao seu valor nutricional de boa qualidade, a proteína e os lipídeos podem apresentar variação de 42 a 63%, necessitando de pouco espaço para criação e boa aceitabilidade (VELDKAMP et al., 2012).

Entre as pesquisas realizadas, é também avaliado as frações digestíveis da farinha de insetos, pois é a partir dessas avaliações que torna se possível descrever a qualidade do ingrediente estudado quantificando o que o animal utiliza para a síntese de tecidos corporais (LIRA, 2015). Conhecendo a digestibilidade, será possível alcançar maior eficiência com a elaboração de rações, com melhores índices de ganho de peso e conversão alimentar (VIDAL JUNIOR et al., 2004) melhorando assim o lucro da atividade.

O uso de insetos como fonte protéica também é vantajoso quando comparado ao uso da soja e outras plantas ricas em proteínas e lipídeos, pois as mesmas contêm fatores

antinutricionais que pode acarretar em processos inflamatórios no trato gastrointestinal (COLLINS, 2014; MERRIFIELD et al., 2011; TACON, 1993).

3 FATOR ANTINUTRICIONAIS

A farinha de inseto pode apresentar a quitina como fator antinutricional, que está presente na carapaça dos insetos, que pode influenciar no metabolismo do animal, interferindo no ganho de peso e na conversão alimentar (SHIAU; EYU, 1999).

A quitina é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, constituído por unidades recorrentes de N-acetil-D-glicosamina em ligação β (BOSCOLO et al., 2004). Olsen et al. (2006) afirma que a quitina atua como efeito benéfico aos peixes, como prebiótico, agindo com as bactérias patogênicas do trato gastrintestinal dos peixes. No entanto, alguns autores relatam que a quitina é um dos fatores que limitam o uso de insetos em rações para peixes, pois está relacionada a redução de consumo e da disponibilidade de nutrientes, portanto, reduz o desempenho zootécnico em ocorrência da menor utilização de nutrientes (KROECKEL et al., 2012).

Chaet al. (2008) diz que a partir da desacetilação da quitina, forma-se a quitosana, que apresentou melhora no sistema imune, além de refletir em melhorias na qualidade da água. No entanto, Rust (2002) descreve que animais não ruminantes não podem digerir esse nutriente, pela ausência e/ou baixa eficiência da quitinase.

4 INSETOS UTILIZADOS NA PRODUÇÃO DE FARINHAS PARA PEIXES

De acordo com a Aquaculture Brasil (2016), pesquisas na área de produção de farinhas de insetos para produção de peixes vem sendo realizadas; entre os insetos mais estudados estão tenébrio (*Tenebrio*), mosca soldado negra (*Hermetia illucens*), bicho da seda (*Bombyx mori*), grilos (*Gryllidae spp.*) e gafanhotos (*Acridídea e Pyrgomorphidae spp.*) (Figura 1).

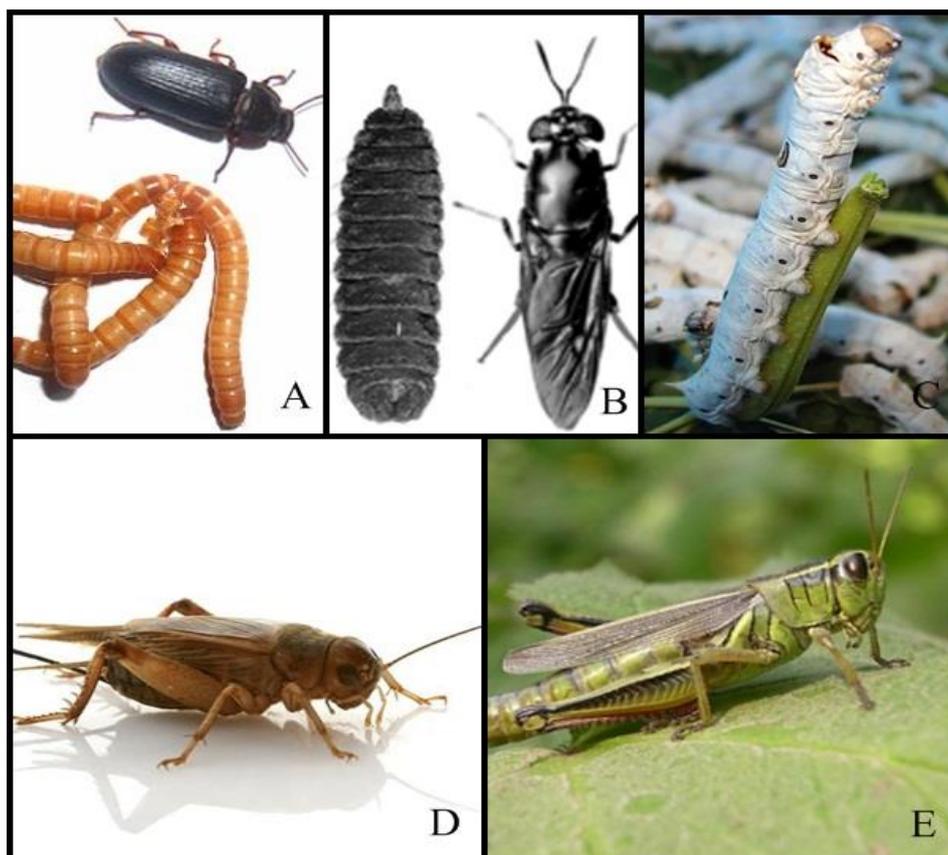


Figura 1: (A) Tenébrio (*Tenebrio*) - fase larval e adulta, (B) Mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) - fase larval e adulta, (C) Bicho da seda (*Bombyx mori*) - fase larval, (D) Grilos (*Gryllidae* spp.), (E) Gafanhotos (*Acridídea e Pyrgomorphidae* spp.).

Fonte: Istockphoto (2019).

4.1 TENÉBRIO

As larvas que dão origem ao besouro do gênero *Tenebrio*, pertencentes a ordem coleóptera, são popularmente conhecidas como “larva da farinha” e os besouros adultos são conhecidos popularmente como “tenebrião”. Possuem hábito noturno, são onívoros e geralmente vivem em habitats secos. Muitos tenebrionídeos povoam grãos secos armazenados, como grãos de cereais e também farinhas. Os besouros que darão origem as larvas utilizadas na alimentação animal, são os besouros amarelos (*Tenebrio molitor*) e os besouros escuros (*Tenebrio obscurus*) (COSTA LIMA, 1952).

O ciclo de vida desse inseto pode sofrer variação de 280 a 630 dias. A eclosão das larvas ocorre entre 10 e 12 dias, em temperatura de 18- 20 ° C e atingem a fase adulta entre 3 e 4 meses. A fase larval pode durar até 18 meses. Em produções comerciais, são incluídos análogos de hormônios juvenis (como fenoxicarbe, metoprene e pyriproxyfen) na alimentação das larvas, que apresenta função de evitar a passagem para a fase adulta, visto que tenebrionídeos em fase

larval são mais fáceis de serem alimentados e acondicionados em caixas plásticas, onde são criados. Esses são conhecidos como “larvas gigantes” e podem atingir 2 cm e pesar mais de 300 mg (FINKE, 2002; MIRANDA; TAKAHASHI, 2002.)

Essas larvas, na dieta de animais, podem ser incluídas vivas ou na forma de farinha (FAO, 2013). De acordo com MAKKAR et al. (2014), para criação das larvas com fim do uso em alimentação animal, são utilizados para o cultivo farelo de milho, farelo de trigo, leite em pó, farinha de soja, legumes e frutas frescas.

O valor de proteína bruta (PB) nesses insetos varia de 47 a 60 %, teor de gordura de 31 a 43 %, apresentam 5,4 % de lisina e 1,5 % de metionina, valores esses em base na matéria seca (MAKKAR et al., 2014)

Na literatura são encontrados trabalhos com substituição de farinha de peixe e de soja por farinha de tenébrio em até 40 %, para várias espécies; porém as dietas das larvas devem ser suplementadas com cálcio com o objetivo de melhorar os níveis desse mineral na farinha a ser fornecida para os peixes; a composição de aminoácidos essenciais presentes na farinha é boa (VILELLA, 2018).

Estudos realizados por Lira (2015) com o uso de farinha de tenébrios na dieta de juvenis de tambaqui, demonstrou que não houve influência na digestibilidade dos nutrientes, fato que ressalva a potencialidade da utilização desse tipo de farinha para peixes, sem prejudicar o aproveitamento dos nutrientes pela espécie utilizada; até 30 % de inclusão de farinha na dieta de tambaquis não a efeito negativo sobre o desempenho, porém níveis mais elevados desse produto devem ser testados.

4.2 MOSCA SOLDADO NEGRA

Pertencente a ordem díptera a mosca soldado negra (*Hermetia illucens*), destaca-se como inseto resistente às condições ambientais adversas, como seca e falta de alimento por longo período de tempo sem que ocorra morte dos mesmos. Esses insetos alimentam-se preferencialmente de resíduos orgânicos em decomposição como: resíduos de grãos, de legumes e frutas (DIENER et al., 2011).

Com dois meses as larvas atingem a maturidade, no entanto a fase larval pode ser prolongada até quatro meses, caso ocorra escassez de alimentos. A duração do estágio de pupa é de aproximadamente 14 dias, sendo afetado assim como o estágio da larva em virtude de condições climáticas adversas e falta de alimentos. As fêmeas acasalam dois dias após a saída

do casulo, em ambientes adjacente a fonte de alimentos (BARROS, 2017; DIENER et al. 2011; HARDOIUN; MAHOUX, 2013)

Normalmente são utilizadas as larvas para a produção das farinhas, uma vez que, na fase final de desenvolvimento larval, elas esvaziam seu trato digestivo e param de se alimentar (DIENER et al., 2011). Os adultos não se alimentam e dependem assim das reservas obtidas na fase larval (DICLARO e KAUFMAN, 2009). Nesse sentido, recomenda-se a formulação das rações de larvas antes de sua etapa final do seu desenvolvimento.

De acordo com Newton et al. (1977) o valor de proteína bruta (PB) presente nas larvas da mosca soldado negra, varia entre 40% a 44%, o teor de gordura entre 15% a 35%, o teor de cinza entre 11% a 28%, de cálcio entre 5% a 8% e de fósforo entre 11% a 28%.

A farinha da mosca soldado negra pode ser utilizada na alimentação de peixes em substituição de 20 a 40 %, reduzindo consideravelmente a utilização de rações comerciais. Contudo, o autor ressalta que as farinhas destes insetos não são capazes de suprir totalmente as exigências em matéria seca e proteína bruta para os peixes (VILELLA, 2018).

4.3 GRILOS E GAFANHOTOS

Dentre os insetos da ordem Orthóptera, estão os Gafanhotos (principalmente *Acridídea e Pyrgomorphidae spp.*) e os grilos (*Gryllidae spp.*). São onívoros e se alimentam de grandes variedades de materiais orgânicos como gramíneas, folhas e cereais. Eles normalmente são consumidos em países como África, América do Sul e Ásia (DEFOLIART, 1989).

O ciclo de vida dos insetos dessa ordem dura em média 100 dias, após a deposição dos ovos, em 30 dias há a eclosão e surgem as formas jovens, que sofrem ecdises e transformam-se em adultos (VILELLA, 2018). De acordo com Hardouin e Mahoux (2013), cerca de 2000 insetos podem ser produzidos em 1m³, sua produção é viável em temperaturas superiores a 20°C e a temperatura ideal é de 28 a 30°C.

A composição química dos insetos da ordem Orthóptera, assim como os gafanhotos, possuem teor de proteína bruta entre 50 a 65%, a matéria seca é de 23 a 35%, o teor de gordura é bastante variável de 5 a 20%. E os teores de fibra podem aumentar com a idade, os grilos adultos contêm até 22% de FDN, 12% nas ninfas (FINKE, 2002).

Os níveis de Ca e de P são muito inferiores em comparação a outros insetos utilizados na alimentação animal. No entanto, a relação Ca: P é maior, principalmente devido ao menor nível de fósforo, quando comparado a farinhas de outros tipos de insetos. Em relação a

composição de aminoácidos essenciais, o nível de lisina em gafanhotos é menor do que em outros insetos, enquanto a cistina e metionina são maiores. Já nos grilos tanto a lisina como o conteúdo de metionina mais cistina são inferiores aos de gafanhotos (VILELLA, 2018).

Alegbeleye et al. (2012) relataram que ao incluir 13% da farinha de gafanhoto na dieta, o crescimento do peixe-gato foi melhorado, podendo atribuir este desempenho ao perfil de ácidos graxos da farinha, que é similar às necessidades da espécie de peixe estudada.

4.4 BICHO DA SEDA

Pertencente a ordem Lepidoptera, o bicho da seda (*Bombyx mori*) são utilizados na produção de seda e se alimentam de folhas de amoreiras. O ciclo larval vai desde a eclosão do ovo até à formação do casulo com duração de 24 dias. No final do ciclo de transformação, a pupa libera uma enzima que cria um buraco no casulo e a mariposa emerge. A fim de retirar a seda sem danos, as pupas são colocadas em água fervente, secando ou embebendo em NaOH antes que produzam enzimas (VILELLA, 2018).

As pupas são um resíduo, descartado na natureza ou usado como fertilizante podendo também ser extraído um óleo utilizado em produtos industriais. Nas áreas de produção de seda ocorre grande eliminação de resíduos de pupas que causam sérios problemas ambientais. A utilização desses na alimentação animal em forma de farinha ou para produção de substâncias biológicas como a quitina e ácidos graxos é uma forma de reduzir o impacto ambiental da produção (FINKE, 2002).

A farinha do bicho da seda é ingrediente rico em proteína e valor nutritivo elevado, o conteúdo em proteína bruta varia de 52 a 72%, enquanto para a refeição desengordurada pode ser superior a 80%. Como outros insetos, a farinha do bicho da seda tem baixo nível de Ca e baixa relação Ca: P. A lisina apresenta cerca de 6 a 7% em 100 g de proteína bruta, e os níveis de metionina + cistina de aproximadamente 4% são particularmente elevados. Por outro lado, o índice de quitina na farinha das pupas é relativamente baixo, aproximadamente 3 a 4% na matéria seca (VILELLA, 2018).

O óleo extraído do bicho da seda contém alta porcentagem de ácidos graxos poli-insaturados, notavelmente ácido linolênico (18:3), com valores variando de 11 a 45% do total de ácidos graxos (IOSELEVICH et al., 2004). A ninhada do bicho da seda parece ter composição extremamente variável, com valores de proteína bruta entre 15 e 58% em matéria

seca (PATIL et al., 2013). Devido ao seu alto teor de proteínas, a farinha foi indicada como alimento para animais não ruminantes (TRIVEDY et al., 2008).

As larvas frescas não são recomendadas, devido ao seu alto teor de água, geralmente as pupas são secas ao sol, a larva de bicho da seda libera odor típico, que foi atribuído à presença de óleos essenciais, este odor afeta a palatabilidade da farinha (FINKE, 2002).

Estudos realizados por Nandeeshet al. (1999) com o uso de farinha de pupa do bicho da seda na alimentação de carpas-comum, demonstrou que houve aumento na digestibilidade lipídica sem aumentar a deposição de gordura na carcaça.

Dentre os insetos mais estudados, cada um possui sua particularidade em relação a valores nutricionais (proteína bruta, fibra bruta, extrato etéreo, cinza, aminoácidos e minerais) e % de matéria seca, mostrados na (tabela 1).

Tabela 1-Valor nutricional dos insetos com base na matéria seca mais utilizados na produção de farinha (continua).

ANÁLISE PRINCIPAL					
	Unidade	Tenébrio	Mosca Soldado Negra	Grilos e Gafanhotos	Bicho da Seda
Matéria seca	%	42,2	91,3	91,7	91,4
Proteína Bruta	%MS	52,8	42,1	57,3	60,7
Fibra bruta	%MS	12,0	7,0	8,5	3,9
Extrato etéreo	%MS	6,5	25,0	8,5	25,7
Cinza	%MS	36,1	20,6	6,6	5,8
Energia bruta	Mcal/Kg MS	6214	5258	5019	5975
MINERAIS					
Cálcio	g/Kg MS	2,7	75,6	1,3	3,8
Fósforo	g/Kg MS	7,80	9,00	1,10	6,0
Potássio	g/Kg MS	8,90	6,9	1,1	-
Sódio	g/Kg MS	0,9	1,3	3,2	-
Magnésio	g/Kg MS	2,3	3,9	1,5	3,7
Manganês	mg/kg MS	9	246	-	18
Zinco	mg/kg MS	116	108	10	224
Cobre	mg/kg MS	16	6	-	15
Ferro	mg/kg MS	57	1370	13	326

Tabela 1-Valor nutricional dos insetos com base na matéria seca mais utilizados na produção de farinha (conclusão).

	Unidade	Tenébrio	Mosca Soldado Negra	Grilos e Gafanhotos	Bicho da Seda
AMINOÁCIDOS					
Alanina	%PB	7,3	7,7	4,6	5,8
Arginina	%PB	4,8	5,6	5,6	5,6
Ác. aspártico	%PB	7,5	11,0	9,4	10,4
Cistina	%PB	0,8	0,1	1,1	1,0
Ác. glutâmico	%PB	11,3	10,9	15,4	13,9
Glicina	%PB	4,9	5,7	4,8	4,8
Histidina	%PB	3,4	3,0	3,0	2,6
Isoleucina	%PB	4,6	5,1	4,0	5,1
Leucina	%PB	8,6	7,9	5,8	7,5
Lisina	%PB	5,4	6,6	4,7	7,0
Metionina	%PB	1,5	2,1	2,3	3,5
Fenilalanina	%PB	4	5,2	3,4	5,2
Prolina	%PB	6,8	6,6	2,9	5,2
Serina	%PB	7,0	3,1	5,0	5,0
Treonina	%PB	4,0	3,7	3,5	5,1
Triptofano	%PB	0,6	0,5	0,8	0,9
Tirosina	%PB	7,4	6,9	3,3	5,9
Valina	%PB	6,0	8,2	4,0	5,5

Fonte: (Adaptado de VILELLA, 2018).

5 REFERÊNCIAS

ALEGBELEYE, W. O. et al. Preliminary evaluation of the nutritive value of the variegated grasshopper (*Zonocerus variegatus*) for African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell. 1822) fingerlings. **Aquaculture Research**, v. 43, n. 3, p. 412-420, 2012.

ANDRADE, C. L. et al. Nutrição e alimentação de tilápias do Nilo. **Revista eletrônica: Nutri time**, v. 12, n. 6, p. 4446-4449, 2015.

ARAUJO, R. J. **Avaliação de alimentos alternativos regionais para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2010. 70f. Dissertação (Mestrado em ciência animal). Universidade Federal do Vale do São Francisco, 2010.

- BARROS, L. M. **Bionomia e morfologia dos estágios imaturos de *Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Stratiomyidae) de interesse forense em Manaus, Amazonas, Brasil.** 2017.100f. Dissertação de mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 2017.
- BOSCOLO, W. R. et al. Digestibilidade aparente da energia e proteína das farinhas de resíduo da filetagem da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e da Corvina (*Plagioscion squamosissimus*) e farinha integral do camarão canela (*Macrobrachium amazonicum*) para a tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 1, p. 8-13, 2004.
- CHA, S. H. et al. Effects of chitosan-coated diet on improving water quality and innate immunity in the olive flounder, *Paralichthys solivaceus*. **Aquaculture**, v. 278, n. 1, p. 100-118, 2008.
- COLLAVO, A. et al. **Ecological Implications of Minilivestock: Role of insects, rodents, frogs and Snails:** for Sustainable development. HoUSA: Science Publishers, 2005.
- COLLINS, S. **Antinutritional factors in modeling plant-based rainbow trout diets.** 2014. 215f. Tese de doutorado - University of Saskatchewan, Saskatoon, 2014.
- COSTA LIMA. **Insetos do Brasil:** Coleoptéros. 9. ed. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, 1952.
- DEFOLIART, G. R. The human use of insects as food and as animal feed. **American Entomologist**, v. 35, n. 1, p. 22-36, 1989.
- DICLARO, J.; KAUFMAN, P. E. **Black soldier fly *Hermetia illucens* (Insecta: Diptera: Stratiomyidae).** Uf: University of Florida IFAS Extension. 2009.
- DIENER, S. et al. Black soldierfly larvae for organic waste treatment – prospects and constraints. **Proceedings of the WasteSafe**, v. 2, p. 13-15, 2011.
- FAO 2013 (Food and Agriculture Organization of United Nations). **Edible insects: Future prospects for food and feed security.** Disponível em <http://www.fao.org/3/i3253e/i3253e.pdf>. Acesso em 06 de julho de 2019.
- FAO 2015 (Food and Agriculture Organization of United Nations). **Insects for food and feed.** Disponível em <http://www.fao.org/forestry/edibleinsects/en/>. Acesso em 08 de julho de 2019.
- FINKE, M. D. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. **Zoo Biology**, v. 21, n. 3, p. 269-285, 2002.
- HARDOUIN, J.; MAHOUX, G. **Zootecnied'insectes-Elevage et utilisation au bénéfice de l'homme et de certains animaux,** 2013.
- HENRY, M. et al. Review on the use of insects in the diet of farm ed fish: Past and future. **Animal Feed Science and Technology**, v. 203, p. 1-22, 2015.

- IOSELEVICH, M. et al. **Nutritive value of silkworm pupae for ruminants**. VDLUFA Kongress, Qualitätssicherung in land wirt schaftlich en Produkti ons systemen, Rostock, 2004
- ISTOCK. Banco de imagens e fotos de Insetos. Arquivo eletrônico situado em <https://www.istockphoto.com/br/fotos/insetos?assettype=image&sort=mostpopular&mediatyp e=photography&phrase=insetos>. Acesso em: 03 de julho de 2019.
- KHAN, S. A.; ZUBAIRY, A. W. Chemical composition and nutritive value of Tusser silk worm pupae. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 41, p. 1070-1072, 1971.
- KINYURU, J. N. et al. G. Mur species of winged termites consumed in western Kenya. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 30, p. 20-124, 2013.
- KROECKEL, S. et al. When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute- growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). **Aquaculture**, v.364/365, p. 345–352, 2012.
- LIRA, J. M. **Avaliação da farinha de tenébrio (*Tenebrio molitor*) na alimentação de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. 2015.53f. Dissertação apresentada ao Programa de PósGraduação da Universidade Nilton Lins em ampla associação com o Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/INPA.2015.
- MAKKAR, H. P. S. et al. State-of-the-art on use of insects as animal feed. **Animal Feed Science and Technology**, v. 197, p. 1-33, 2014.
- MERRIFIELD, D. L. et al. Dietary effect of soybean (*Glycine max*) products on gut histology and microbiota of fish. In: El-Shemy, H. **Soybean and nutrition**. New York: InTech, p. 231-250, 2011.
- MEURER, F. et al. Digestibilidade aparente de alguns alimentos protéicos pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p. 1801-1809, 2003.
- MIRANDA, E. J.; TAKAHASHI, R. B. A. S. Efeito de três análogos do hormônio juvenil aplicados em bicho-da-seda, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 1, p. 19-25, 2002.
- NANDEESHA, M. B. et al. Silkworm pupa oil and sardine oil as an additional energy source in the diet of common carp, *Cyprinus carpio*. **Asian Fisher**, v. 12, n. 701, p. 207-215, 1999.
- NAVARRO, R. et al. Níveis de energia digestível na dieta do piauçu (*Leporinus macrocephalus*) no desenvolvimento testicular em estágio pós-larval. **Zootecnia Tropical**, v. 24, n. 2, p. 153-163, 2006.
- NEWTON, G. et al. Dried *Hermetia illucens* larva meal as a supplement for swine. **Journal of Animal Science**, v. 44, n. 3, p. 395-400, 1977.
- OLSEN, R.E. et al. The replacement of fish meal with Antarctic krill, *Euphausia superba* in diets for Atlantic salmon, *Salmo salar*. **Aquacult Nutr**, v. 1, p. 280-290, 2006.

PATIL, S. R. et al. Utilization of silkworm litter and pupal waste-an eco-friendly approach for mass production of *Bacillus thuringiensis*. **Bioresourcetechnology**, v. 131, p. 545-547, 2013.

PEIXE BR 2018. **Peixe BR da Piscicultura**. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/Anuario2018/AnuarioPeixeBR2018.pdf>. Acesso em 02 de julho de 2019.

RAMOS, J. et al. Nutritional value of edible insects from the state of Oaxaca, Mexico. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 10, n. 2, p. 142-157, 1997.

RUMPOLD, B. A.; SCHLÜTER, O. K. Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.17, p. 1-11, 2013.

RUST, M. B. Nutritional physiology. In HALVER, J. E.; HARDY, R. H. **Fish Nutrition**. 3 ed. Cambridge: Academic Press. 2002. 500 p.

SHIAU, S. Y.; EYU, Y. P. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Aquaculture**, v. 179, p. 439-446, 1999.

TACON, A. G. J. Feed ingredients for warm water fish, fish meal and other processed feedstuffs. **Circular técnica de pesca: FAO**, v. 64, p. 13-32. 1993.

TRIVEDY, K. et al. Protein banding pattern and major amino acid component in de-oiled pupal powder of silkworm, *Bombyx mori*. **Journal Entomology**, v. 5, n. 1, p. 10-16, 2008.

VASCONCELLOS, R. Uso de coprodutos na alimentação de cães e gatos. In: CONGRESSO INTERNACIONAL, 2.; SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 9, 2010, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2010. p. 79.

VELDKAMP, T. et al. Insects as a Sustainable Feed Ingredient in Pig and Poultry Diets: a Feasibility Study = Insectenalsduurzamedieervoedergrondstof in varkens-enpluimveevoeders: eenhaalbaarheidsstudie. Wageningen. **URLivestock Research**, p. 1570-8616, 2012.

VIDAL, JR. et al. Determinação da digestibilidade da matéria seca e da proteína bruta do fubá de milho e do farelo de soja para tambaqui (*Colossoma macropomum*), utilizando-se técnicas com uso de indicadores internos e externos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 2123- 2200, 2004.

VILELLA, L. M. **Produção de insetos para uso na alimentação animal**. Trabalho de conclusão de curso, 69f. 2018. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2018.



Capítulo

23

Qualidade e tecnologia de ovos de poedeiras comerciais

Katiussi de Negreiros Silva ¹
Hugo da Silva Nascimento ²
José Geraldo de Vargas Júnior ³
Ana Caroline Figueiredo ⁴
Hortência César Gonçalves ⁵

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

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

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

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: ana-caroline-figueiredo@hotmail.com

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

1 INTRODUÇÃO

Dentre os segmentos agrícolas existentes no Brasil, o setor avícola destaca-se principalmente pela sua capacidade produtiva, por meio da qualidade de seus produtos, refletindo na importação e exportação, principalmente de carne de frango e ovos, seja na forma “in natura” ou processada, gerando renda para quem produz, e alavancando o PIB nacional. Estes avanços, só foram possíveis devido ao esforço contínuo do meio científico e de setores da indústria em ajustar os produtos às preferências e necessidades do mercado.

Atualmente a avicultura de postura tem sido referenciada de forma ampla, onde a produção de ovos tem sobressaído, obtendo aumento de 1,8% na produção, refletindo também no consumo per capita brasileiro, que atingiu 192 unidades em 2018 (ABPA, 2018). No estado do Espírito Santo, a atividade tem se tornado bastante expressiva, tendo como destaque o município de Santa Maria de Jetibá que se tornou líder na produção de ovos do país, abastecendo demais municípios do estado e regiões circunvizinhas (Figura 1) (AVES, 2018).

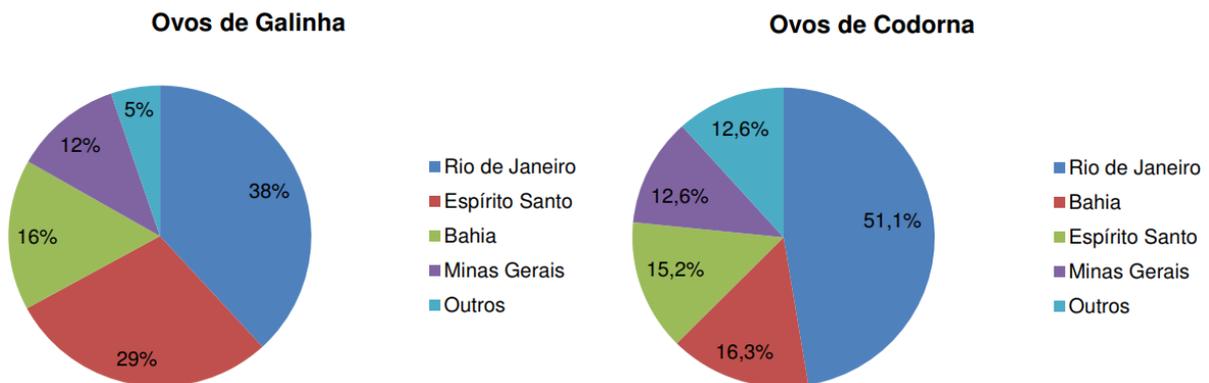


Figura 1: Destinos dos ovos produzidos na região de Santa Maria de Jetibá – ES.
Fonte: Aves (2018).

No Brasil, os ovos que devem seguir para comercialização, principalmente na forma “in natura” devem apresentar condições mínimas de qualidade, seguindo normas regidas pelo Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA), onde externamente, os ovos devem apresentar peso ideal dentro de cada classificação regida pela legislação, além de cascas limpas, sem trincas e defeitos, podendo estas características serem vistas a olho nu, ou por meio de ovoscopia. Já internamente, os ovos devem apresentar gema translúcida e firme, ocupando a parte central do ovo, albúmen límpido, viscoso, sem turvação, revistindo toda a gema, e câmara de ar com no máximo 6 mm de altura (BRASIL, 1997), uma vez que estas características podem ser verificadas quando ocorre a quebra do ovo sobre superfície plana.

O ovo é um alimento completo com alto valor biológico, podendo sua qualidade ser facilmente alterada, seja por problemas fisiológicos das aves no momento da postura, uma vez que a idade das poedeiras pode ser considerada, na coleta, pelas condições de armazenamento, como a exposição em ambientes úmidos, sujos e com temperaturas elevadas, no beneficiamento e transporte, necessitando assim de cuidados mínimos desde o momento da postura (LANA et al., 2017; SOUZA, 2016).

Oferecer um produto ao mercado consumidor próximo ao original é o desafio da indústria. A refrigeração de ovos para consumo humano no Brasil não é obrigatória, pois ainda se torna uma alternativa inviável economicamente, visto que se trata de uma proteína de baixo custo e baixa margem de lucro quando comparada às demais proteínas de origem animal (SOUZA, 2016). Mas, o mercado consumidor está cada vez mais exigente quanto à qualidade, mesmo se tratando de uma proteína de fácil acesso.

Por este motivo, esta revisão tem como objetivo elucidar a importância de adotar parâmetros que ajudem a aferir a qualidade de ovos comerciais (galinha e codorna), bem como a composição e estrutura dos mesmos.

2 DEFINIÇÃO, ESTRUTURA, COMPOSIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DE OVOS

Entende-se por ovo, ovos de galinha envoltos por casca, sendo os demais acompanhados da indicação da espécie que procedem, como codornas, avestruz, patas, etc (BRASIL, 1997).

O ovo, independente da espécie, pode ser dividido por camadas e/ou proporções, onde a maior é composta pela casca, albúmen e gema. Já a proporção menor, é composta pela cutícula (aderida a casca), membranas testáceas internas e externas, membrana vitelina (membrana que envolve a gema), câmara de ar, disco germinativo e calaza (Figura 2) (BARBOSA, 2013; SOUZA, 2016).

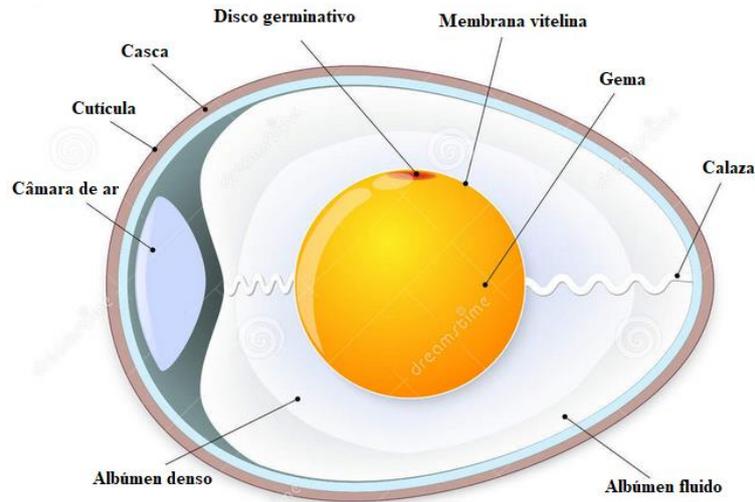


Figura 2: Estrutura anatômica do ovo.

Fonte: <http://learnwise.co/skin-structure-diagram-to-label/skin-structure-diagram-to-label-best-of-anatomy-structure-chicken-internal-labels-lager-lifeinharmony/>

Nota: Adaptado pelo autor.

A casca possui a função de proteção de todo conteúdo interno. Nela possuem cerca de 8.000 poros/por ovo, que permitem trocas gasosas do interior para o ambiente, sendo esta troca realizada por meio de difusão passiva, ou seja, entra oxigênio (O_2) e sai dióxido de carbono (CO_2), podendo este processo ser acelerado e influenciado por temperaturas elevadas, nutrição e idade da poedeira, uma vez que, aves com maiores idades tendem a depositar ovos com cascas mais finas, frágeis e porosas (GONZALES; BLAS, 1991; RUTZ et al., 2007).

A cutícula está aderida a casca, que têm como função proteger o conteúdo interno do ovo, impedindo a entrada de patógenos e perda de água. Sabe-se que no processo de limpeza dos ovos, os mesmos não devem ser limpos realizando fricção e abrasão sobre a casca, pois por se tratar de uma película muito fina, a mesma pode romper-se com facilidade e propiciar a entrada de microorganismos (BENITES; FURTADO; SEIBEL, 2005).

O albúmen representa 60% do peso total do ovo, tendo como composição principal água (88%-90%), além de representar a maior parte proteica, como a ovoalbumina, ovomucina, ovomucoide e ovoglobina, estando presentes tanto no albúmen denso como no fluido. A calaza é caracterizada por um espiral, formada a partir do momento que houve o giro do ovo internamente antes da postura, podendo ser vista atravessando todo albúmen denso, estando aderida a membrana vitelina, indo de uma ponta a outra do ovo, e passando por cima da membrana da gema, impedindo que a gema se desloque da parte central do ovo (BENITES; FURTADO; SEIBEL, 2005; PARDI, 1977).

A gema é constituída em sua maior parte por lipídeos (65%), principalmente por triglicerídeos, fosfolipídeos, colesterol, ácidos graxos livres, além de vitaminas lipossolúveis, zeaxantina e luteína, além de constituir 30% do peso total do ovo. Ainda na gema consegue-se visualizar o disco germinativo, formado no ovário, onde poderá surgir o embrião quando o ovo for fecundado (RAMOS, 2008).

Cada parte do ovo exerce importância física, química e nutricional para que ele seja considerado um alimento completo, e pode haver diferenças nestas composições de acordo com a espécie (Tabela 1).

Tabela 1. Composição de ovos de galinha e codornas, inteiros “in natura” e recém postos

Características	Galinha	Codorna
Peso (g)	56,74	10,05
Espessura da casca (mm)	0,311	0,183
Casca (%)	10,74	12,66
Albúmen (%)	57,06	55,74
Gema (%)	31,06	31,58
Energia (Kcal)	143,0	177,0
Proteínas (g)	13,0	13,7
Lipídeos (g)	8,9	12,7
Carboidratos (g)	1,6	0,8

Fonte: Albino e Neme (2002); Taco – Campinas (2011).

Nota: Adaptado pelo autor.

Os ovos de galinhas poedeiras podem ser classificados em três classes A, B e C de acordo com as características de qualidade (BRASIL, 1997) e classificados quanto ao peso (BRASIL, 2003).

Os ovos classificados como A, devem apresentar casca limpa, íntegra e sem deformação; a câmara de ar deve ser fixa, com no máximo quatro mm de altura; apresentar albúmen límpido, transparente, consistente e com chalazas intactas; gema translúcida, consistente, centralizada e sem desenvolvimento de germe (BRASIL, 1997).

Os ovos classificados como B, devem apresentar casca limpa, íntegra e ligeiramente deformada e manchada; a câmara de ar deve ser fixa, com no máximo seis mm de altura; o albúmen deve ser límpido, transparente, relativamente consistente e com chalazas intactas; a gema deve ser consistente, ligeiramente descentralizada e deformada, porém com contorno bem definido e sem desenvolvimento de germe (BRASIL, 1997).

Os ovos classificados como C apresentam, casca limpa, íntegra, com defeitos de textura, contorno e presença de manchas; câmara de ar solta, com no máximo dez mm de altura; albúmen com ligeira turvação, ligeiramente consistente e chalazas intactas; gema descentralizada e deformada, porém com contorno definido e sem desenvolvimento de germe (BRASIL, 1997).

Quanto ao peso, o ovo é classificado como: jumbo com peso mínimo de 66g/unidade, extra com 60 a 65g/unidade, grande de 55 a 59g/unidade, médio com 50 a 54g/unidade, pequeno de 45 a 49g/unidade e, industrial com menos de 45g, que são destinados à industrialização, tendo como resultado produtos como, o ovo em pó, gema e albúmen líquidos pasteurizados (BRASIL, 2003).

Diferentemente dos ovos de galinha, os ovos de codorna ainda não possuem decreto, resolução e nomenclatura própria. As normas para estabelecimento das instalações, aquisição, manipulação das aves e de seus produtos devem seguir as mesmas estabelecidas para as galinhas de postura, evidenciando para os parâmetros de comercialização o nome da espécie de procedência (BRASIL, 2003).

3 QUALIDADE DE OVOS

Os ovos são produtos perecíveis e se não forem adequadamente conservados, perderão a sua qualidade. Portanto, deve-se manter a sua qualidade original desde o momento que foi posto até chegar ao consumidor final (MAGALHÃES, 2007).

Diversos fatores podem determinar a qualidade dos ovos, e estes podem ser considerados de origem externa e interna. Os fatores externos estão relacionados à qualidade da casca, e os internos relacionados às características do albúmen, gema e câmara de ar (MENDES, 2010). Vale ressaltar que, fatores relacionados ao manejo das poedeiras podem também afetar a qualidade dos ovos (POMBO, 2003).

Os fatores que mais influenciam na qualidade do albúmen e da gema, é a temperatura e o período de armazenamento (ORNELLAS 2001). À medida que as condições inadequadas de armazenamento persistem o albúmen se torna mais líquido (MORENG; AVENS, 1990), pois acelera as reações físicas e químicas ocasionando a degradação da estrutura da albumina (SANTOS, 2005).

Durante o armazenamento o albúmen começa a clarear, perder a viscosidade e aumentar o pH (MENDES, 2010), esse aumento no pH ocorre devido a perda de dióxido de carbono

(CO₂) para o ambiente externo através dos poros da casca, processo que é acelerado em altas temperaturas (ORNELLAS, 2001). O pH considerado normal da gema e do albúmen estão próximo de 7,9 e 6,2 respectivamente, porém, esses valores podem ser alterados quando o tempo e a temperatura forem inadequados (SEIBEL, 2005). Segundo Alleoni e Antunes (2001), ovos armazenados em temperatura ambiente (25 °C) e refrigeração (8 °C) após uma semana, podem elevar o pH do albúmen a 9,34.

A refrigeração é importante na preservação da qualidade interna dos ovos (CARVALHO et al., 2007). Lopes et al. (2012) em experimentos avaliando a qualidade de ovos de casca marrom de galinhas poedeiras de granja comercial, armazenados em temperatura ambiente e em geladeira, em diferentes períodos de tempo, concluíram que ovos estocados sob refrigeração por até 25 dias após a postura apresentam qualidade interna apropriada para o consumo.

Além do período e condições de armazenamento, manejo com as aves afetam a qualidade dos ovos, diferentes linhagens e raças de poedeiras podem determinar a qualidade do albúmen e gema (CARVALHO et al., 2007). A altura do albúmen está diretamente relacionada com a linhagem e idade da poedeira (LOBET et al., 1989), onde ovos oriundos de poedeiras mais velhas apresentam maior peso e maior porcentagem de gema e menor porcentagem de casca e albúmen, interferindo negativamente na qualidade dos ovos (GARCIA et al., 2010).

3.1. MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE OVOS

Colorimetria da gema – Com a presença de carotenóides na dieta das poedeiras a gema será pigmentada, e quanto maior o uso e o consumo destes compostos nas rações, maior será a intensidade desta coloração (HENCKEN, 1992). Sua mensuração é feita através do leque colorimétrico (Figura 3), onde a gema é colocada em um fundo branco e comparada com o leque que possui diferentes cores, variando do amarelo claro ao vermelho alaranjado (LOBET et al. 1989).



Figura 3: Leque de cor – DSM Yolk Color Fan.

Fonte: https://www.google.com/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&ved=2ahUKEwi197Wy5dDjAhWCGbkGHQbnCJQQ5TV6BAgBEAs&url=https%3A%2F%2Fwww.dsm.com%2Fcontent%2Fdam%2Fdsm%2Fanh%2Fen_US%2Fdocuments%2Fcarophyll_guidelines_amended_PORT_web.pdf&psig=AOvVaw1IHmWJ0pvaEXjilHFMVZK3&ust=1564168880327123

Gravidade específica – Considerado um teste indireto para mensurar a espessura da casca do ovo e altura da câmara de ar (BAIÃO; CANSADO, 1997). Neste método, os ovos são mergulhados em solução salina em ordem crescente de densidade (VOISEY; HUNT, 1976), podendo estas densidades variar de 1,050 g/mL a 1,100 g/mL, com intervalos mínimos entre as soluções de 0,005 g/mL, e ao flutuarem os ovos são classificados conforme a sua gravidade específica (HAMILTON, 1982).



Figura 4: Medição da gravidade específica de ovos brancos de galinha.

Fonte: O autor.

Índice de albúmen e gema – Parâmetro de qualidade interna do ovo, que pode complementar as informações trazidas pela unidade Haugh. Com o passar do tempo a gema tende a deslocar-se do eixo central do ovo, apresentando característica achatada e rompendo-se com facilidade, podendo ser medida através da fórmula: $IG = (\text{altura da gema (mm)} / \text{diâmetro da gema (mm)}) \times 100$, sendo considerados valores normais 0,3 a 0,5 mm (FUNK, 1973; JUCÁ et al., 2011).

Da mesma forma ocorre com o albúmen, onde em ovos mais velhos, o albúmen denso apresenta-se mais aquoso, apresentando menores valores relativos de IA, que pode ser medido através da fórmula: $IA = (\text{altura do albúmen espesso (mm)} / \text{diâmetro do albúmen (mm)}) \times 100$ (CARBÓ, 1957).



Figura 5: Medição do índice de gema de ovos brancos de galinha, por meio de paquímetro digital.
Fonte: O autor.

Percentagem da casca – Realizada após o ovo ser quebrado, a casca é lavada e seca em estufa de ventilação forçada a 65°C por 24 horas e após este período, é pesada em balança eletrônica. O resultado é obtido dividindo o peso da casca pelo peso do ovo inteiro multiplicado por 100 (SILVERSIDES; TWIZEYIMANA; VILLENEUVE, 1993).

pH – Verificado por meio de pHmetro. Após a separação do albúmen e gema, faz-se a imersão direta do eletrodo no conteúdo, realizando assim a leitura do pH.



Figura 6: Medição do pH de gema de ovos brancos de galinha, por meio de pHmetro digital.
Fonte: O autor.

Unidade de Haugh (UH) – Avalia a qualidade interna do ovo. Que consiste em realizar a avaliação do albúmen por meio da fórmula: $UH = 100 \times \text{Log} (H + 7,57 - 1,7 W^{0,37})$ (CARD; NESHEIM, 1966), conseguindo prever a qualidade através da altura do albúmen (H), corrigida pelo peso do ovo (W). Método este de uso universal, devido a sua fácil aplicação (WILLIAMS, 1992), e possui alta correlação com a aparência visual interna do ovo ao ser quebrado (XAVIER et al., 2008).

As indústrias têm utilizados este método desde sua introdução, pois suas análises dão uma indicação das condições de armazenamento e duração dos ovos (SILVERSIDES; TWIZEYIMANA; VILLENEUVE, 1993). Para serem considerados ovos de excelente qualidade, a UH deve ser superior a 72; para ovos de qualidade alta a HU deve ser entre 60 e 72, e UH com valores abaixo de 60, são considerados ovos de qualidade ruim (USDA, 2000).



Figura 7. Medição da altura do albúmen denso de ovos brancos de galinha, por meio de paquímetro digital.
Fonte: O autor.

Ovoscofia – Revela as condições da casca do ovo. Método simples que consiste em verificar os aspectos internos através de um foco de luz incidente sobre os ovos (BRASIL, 1997).



Figura 8: Modelo de ovoscópio.
Fonte: <http://www.pardal.com.br/ovoscopio>

5 REFERÊNCIAS

- ABPA. Associação brasileira de proteína animal. **Relatório anual**. 2018.
- ALBINO, L., F., T.; NEME, R. **Codornas: manual prático de criação de codornas**. 1. ed. Viçosa: Aprenda Fácil. 1998.
- ALLEONI, A. C. C.; ANTUNES, A. J. Unidade Haugh como medida da qualidade de ovos de galinha armazenados sob refrigeração. **Scientia Agrícola**, v. 58, n. 4, p. 681 – 685, 2001.
- AVES. Associação dos Avicultores do Estado do Espírito Santo. **Perfil da avicultura capixaba 2017-2018**. 2018.
- BAIÃO, N. C.; CANSADO, S. V. Fatores que afetam a qualidade da casca do ovo. **Caderno Técnico da Escola de Veterinária UFMG**, n. 21, p. 43-59, 1997.
- BARBOSA, T. C. G. **Parâmetros de qualidade interna e externa de ovos de codorna**. 2013. Relatório de projeto (Bacharel em Zootecnia) - Universidade Federal de Goiás, Jataí, Goiás, 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952 (Revogado pelo Decreto nº 9.013, de 29/3/2017). **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 1997. Disponível em: <<https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/1950-1959/decreto-30691-29-marco-1952-339586-normaatualizada-pe.pdf>>. Acesso em: 24 jun. de 2019.
- _____. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de defesa agropecuária e departamento de inspeção de produto de origem animal. Resolução nº 01, de 9 de janeiro de 2003. Aprova a uniformização da nomenclatura de produtos cárneos não formulados em uso para aves e coelhos, suídeos, caprinos, ovinos, bubalinos, eqüídeos, ovos e outras espécies de animais. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 2003. Disponível em: <<https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/resolucao-dipoa-1-de-09-01-2003,743.html>> Acesso em: 22 jul. de 2019.
- BENITES, C. I.; FURTADO, P. B. S.; SEIBEL, N. F. Características e aspectos nutricionais do ovo. In: SOUZ-SOARES, L. A.; SIEWERDT, F. **Aves e ovos**. Pelotas: UFPEL. 2005. p. 57-64.
- CARBÓ, C. B. **La gallina ponedora**. Madrid, Espanha: Ediciones Mundi – Prensa. 1987. 519 p.
- CARD, L. E.; NESHEIM, M. C. **Poultry production**. Philadelphia: Lea & Febiger. 1966. 399 p.
- CARVALHO, F. B. et al. Qualidade interna e de casca para ovos de poedeiras comerciais de diferentes linhagens e idades. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 1, p. 25-29, 2007.

DSM. Diretrizes DSM para pigmentação da gema do ovo com Carophyll - DSM Yolk Color Fran. Disponível em: <

https://www.google.com/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=imgres&cd=&ved=2ahUKEwi197WY5dDjAhWCGbkGHQbnCJQQ5TV6BAgBEAs&url=https%3A%2F%2Fwww.dsm.com%2Fcontent%2Fdam%2Fdsm%2Fanh%2Fen_US%2Fdocuments%2Fcarophyll_guidelines_amended_PORT_web.pdf&psig=AOvVaw1IHmWJ0pvaEXjilHFMVZK3&ust=1564168880327123>. Acesso em: 25 jul. de 2019.

FUNK, E. M. **Egg science and technology**. Westport, Connecticut: AVI Publishing Company INC. 1973. 35 p.

GARCIA, E. R. M. et al. Qualidade de ovos de poedeiras semipesadas armazenados em diferentes temperaturas e períodos de estocagem. **Revista Brasileira de Saúde e Produção animal**, v. 11, n. 2, p. 505-51, 2010.

GONZALES, M. G.; BLAS, B. C. **Nutricion y alimentacion de gallinas ponedoras**. Madrid: Mundi-Prensa, 1991.

HAMILTON, R. M. G. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. **Poultry Science**, v. 61, p. 2022-2039, 1982.

HENCKEN, H. Chemical and physiological behavior of feed carotenoids and their effects on pigmentation. **Poultry Science**, v. 71, n. 4, p. 711-717, 1992.

JUCÁ, T. S. et al. Efeito do tempo e condições de armazenamento sobre a qualidade interna de ovos de poedeiras Isa Brown produzidos em diferentes sistemas de criação e ambiência. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, v. 7, n. 13; p. 446-460, 2011.

LANA, S. R. V. et al. Qualidade de ovos de poedeiras comerciais armazenados em diferentes temperaturas e períodos de estocagem. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 18, n. 1, p. 140-151, 2017.

LOBET, J. A. C., PONTES, M. P., GONZALEZ, F. F. Características del huevo fresco. In: _____ . **Producción de huevos**. Barcelona, Espanha: Tecnograf S.A.1989. p. 239-254.

LOPES, L. L. R. A. et al. Influência do tempo e das condições de armazenamento na qualidade de os comercias. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 9, n. 18, p. 1-15, 2012.

MAGALHÃES, A. P. C. **Qualidade de ovos comerciais de acordo com a integridade da casca, tipo de embalagem e tempo de armazenamento**. 2007. 43f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2007.

MENDES, F. R. **Qualidade física, química e microbiológica de ovos lavados armazenados sob duas temperaturas e experimentalmente contaminados com *Pseudomonas aeruginosa***. 2010. 80f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2010.

MORENG, R. E.; AVENS, J. S. **Ciência e produção de aves**. São Paulo: Roca, 1990.

ORNELLAS, L. H. **Técnica dietética: seleção e preparo de alimentos**. 7. ed. São Paulo: Editora Metha. 2001.

PARDI, H. S. **Influência da comercialização na qualidade de ovos de consumo**. 1977. 73f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 1977.

POMBO, C. R. **Efeito do tratamento térmico de ovos inteiros na perda de peso e características da qualidade interna**. 2003. 74 f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Aves e Ovos) - Escola de Veterinária, Universidade Federal Fluminense do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.

RAMOS, B. F. S. **Gema de ovo composição em aminos biogénicas e influência da gema na fração volátil de creme de pasteleiro**. 2008. 111f. Dissertação (Mestrado em Controle de qualidade) – Faculdade de Farmácia. Universidade do Porto, Porto, 2008.

RUTZ, F. et al. Avanços na fisiologia e desempenho reprodutivo de aves domésticas. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 31, n. 3, p. 307-317, 2007.

SANTOS, M. S. V. **Avaliação do desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais, submetidas às dietas suplementadas com diferentes óleos vegetais**. 2005. 174f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

SEIBEL, N. F. Transformações bioquímicas durante o processamento do ovo. In: SOUZA-SOARES, L. A.; SIEWERDT, F. **Aves e ovos**. Pelotas: UFPEL. 2005. p. 77-90.

SILVERSIDES, F. G.; TWIZEYIMANA, F.; VILLENEUVE, P. A study relating to the validity of the Haugh unit correction for egg weight in fresh eggs. **Poultry Science**, v. 72, p. 760-764, 1993.

SOUZA, R. A. **Qualidade interna de ovos armazenados sob diferentes períodos e temperaturas**. Nova Odessa: SP. 2016. 69 p.

TACO - **Tabela brasileira de composição de alimentos**. NEPA, Campinas, 2011.

USDA. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Egg-grading manual**. Washington. n.75, 2000. Disponível em: <<http://www.ams.usda.gov/AMSV1.0/getfile?dDocName=STELDEV3004502>> Acesso em: 24 jul. 2019.

VOISEY, P. W.; HUNT, J. R. Comparison of several eggshell characteristics with impact resistance. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 56, n. 2, p. 299-304, 1976.

WILLIAMS, K. C. Some factors affecting albumen quality with particular reference to Haugh unit score. **World's Poultry Science Journal**, v. 48, p. 6-16, 1992.

XAVIER, I. M. C. et al. Qualidade de ovos de consumo submetidos a diferentes condições de armazenamento. **Arquivo Brasileiro de Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 4, p. 953-959, 2008.



Capítulo

24

**Leite A2: correlações com a saúde humana e
perspectivas de produção no Brasil**

Paulo Víctor Marques da Costa Faustini ¹
Oto Heinze de Moraes Filho ²
Eduardo Moreira Barradas de Souza ³
Maria Izabel Vieira de Almeida ⁴
Gisele Rodrigues Moreira ⁵

¹ Zootecnista autônomo, e-mail: paulovictorfaustini@hotmail.com

² Zootecnista autônomo, e-mail: otofilho@gmail.com

³ Zootecnista autônomo, e-mail: eduardomoreirabarradas@hotmail.com

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mara.i.almeida@ufes.br

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: gisele.moreira@ufes.br

1 INTRODUÇÃO

O leite é um alimento básico e nobre e sua função nutricional intraespecífica é notória. Segundo Walstra et al. (2006), o leite pode ser definido como a secreção das glândulas mamárias dos mamíferos, cuja função primordial consiste em nutrir os animais jovens. Apesar do amplo reconhecimento dessa função biológica e básica do leite, para a espécie humana essa definição se torna limitada, uma vez que os seres humanos passaram a consumir o leite e seus derivados como alimento em todas as faixas etárias da sua vida.

As principais espécies domesticadas para a produção de leite para consumo humano são a bovina, bubalina, caprina e ovina, sendo a espécie bovina responsável por 83% da produção mundial (Food and Agriculture Organization - FAO, 2017). Essa espécie é subdividida em duas subespécies: *Bos taurus taurus* (taurinos) e *Bos taurus indicus* (zebuínos). Segundo Jorge (2013), os bovinos desses grupos são representados por cerca de 800 raças difundidas nos mais diversos países.

Os zebuínos são amplamente criados no Brasil, tanto na pecuária de corte como na pecuária de leite, em função de sua melhor adaptação ao clima tropical. De acordo com Assis et al. (2005), há predominância de animais mestiços taurinos x zebuínos nos sistemas brasileiros de produção de leite, o que se confirma com a informação de que mais de 80% do leite produzido no país provém de animais da raça Girolando (EMBRAPA, 2015).

Em sua composição, o leite bovino possui nutrientes como os açúcares, principalmente a lactose; os lipídios, em sua maioria triglicerídeos; além de fosfolipídios, colesterol, ácidos graxos livres, monoglicerídeos e diglicerídeos, que são solventes para as vitaminas lipossolúveis; minerais, em maior parcela Ca, Mg, K, Na, Cl e fosfatos; e proteínas, representadas principalmente pelas caseínas que compreendem cerca de 80% da fração proteica do leite, sendo o restante composto pelas β -lactoglobulinas, enzimas e outros peptídeos menores, além de compostos nitrogenados não proteicos como ureia. Outro aspecto é que, mesmo sendo produzido por animais de uma mesma espécie, o leite não é igual dentre os animais, variando em composição de acordo com diversos fatores como: idade, fase da lactação, raça, fatores genéticos individuais ou não, e também com a alimentação dos animais (WALSTRA et al., 2006).

As caseínas se apresentam em quatro formas: α -s1 (alfa s1), α -s2 (alfa s2), β (beta) e κ (kappa). As caseínas do tipo β são o segundo tipo de caseína mais abundante no leite e podem ser classificadas em pelo menos 12 variantes já identificadas: A1, A2, A3, B, C, D, E, F, G, H1, H2 e I. Essas variantes são caracterizadas por diferenças mínimas de composição dos

aminoácidos na cadeia proteica, mas as formas mais comuns no leite bovino são as β -caseínas A1 e A2, de acordo com Farrell Junior et al. (2004). Essas duas variantes vêm recebendo maior atenção da pesquisa, em função da correlação entre o seu consumo com a ocorrência, ou não, de problemas de saúde na população humana. A β -caseína A1 tem sido apontada como potencial causadora de patologias associadas ao consumo de leite, fato até então não correlacionado à β -caseína A2. Experimentos *ex situ* realizados recentemente por ASLEDOTTIR et al. (2017) evidenciaram que o leite contendo β -caseína A2 também libera a β -casomorfina 7 (BCM7), levando a crer que a mesma também pode possuir impacto negativo na saúde, embora em menor proporção que a β -caseína A1.

Aproximadamente 99% da β -caseína produzida pelas raças zebuínas são da variante A2, o que implica em dizer que vacas zebuínas não são produtoras naturais de β -caseína A1 (MISHRA et al., 2009). Tal fato foi reforçado por Woodford (2007), que afirmou que em rebanhos zebuínos africanos e asiáticos a β -caseína A1 estaria ausente.

2 CASEÍNAS

2.1 CARACTERIZAÇÃO DAS CASEÍNAS

Em termos físico-químicos, as caseínas são consideradas moléculas hidrofóbicas (WALSTRA et al., 2006) em função seus sítios hidrofóbicos ficarem expostos nas suas micelas, apesar de outros autores (DE KRUIF; GRINBERG, 2002) considerarem as mesmas anfipáticas, tendo uma carga considerada alta, devido principalmente à presença de grupos fosfatos na molécula que permitem a fácil ligação com íons Ca^{+2} .

As caseínas não formam estruturas muito grandes, são constituídas por fragmentos de α -hélice, com pequenas estruturas secundárias e terciárias em suas moléculas, o que lhes confere maior estabilidade e difícil desnaturação, sendo que elas não são facilmente solubilizadas em temperaturas abaixo de 100°C (WALSTRA et al., 2006).

Segundo González (2001), a maior parte das moléculas de caseínas não está presente no leite de forma dispersa, mas principalmente na forma de aglomerados insolúveis chamados micelas. Estas micelas são compostas de várias proteínas similares, além de água, algumas enzimas e minerais, principalmente o cálcio e o fósforo. Walstra et al. (2006) propuseram que as micelas são compostas por estruturas menores chamadas de submicelas, compostas por cerca de 20-25 moléculas de caseína. A parte central da micela seria composta por quantidades iguais

de α e β -caseínas, sendo a κ presente em maior parte na superfície e sua quantidade, proporcional ao tamanho desta superfície. A estrutura da micela afeta a forma como será digerida e também as propriedades do leite, como a coloração, estabilidade ao calor e ao etanol e a coagulação pelo coalho, influenciando em diversos processos industriais e armazenamento de produtos lácteos (FOX; BRODKORB, 2008; GONZÁLEZ, 2001).

As cadeias peptídicas α_1 , α_2 , β e κ presentes em sua estrutura primária, contêm 199; 207; 209 e 169 aminoácidos e massas de 23; 25; 24 e 19 kDa (quilodalton), respectivamente, cuja relação molar é de 11:3:10:4, considerando a proporção de cada uma nas micelas (GOFF, 2009). De maneira geral, as caseínas são sintetizadas nos bovinos pelo cromossomo 6 e no caso de cada um dos grupos anteriores os respectivos genes são: CSN1S1, CSN1S2, CSN2 e CSN3 (GALLINAT et al., 2013).

O gene responsável pela síntese da β -caseína (CSN2) é considerado um dos mais polimórficos, em função das diversas variantes do mesmo (ROGINSKI et al., 2002). De acordo com os tipos de β -caseínas presentes, Haq et al. (2013), sugeriram a classificação do leite em “A1 like” e “A2 like”, onde na primeira classificação estariam aquelas variantes de β -caseínas que possuem em comum a histidina na 67^a posição, enquanto que aquelas classificadas como “A2 like” compreenderiam aquelas β -caseínas que possuem a prolina no 67^o aminoácido da cadeia peptídica. Apesar de parecer uma diferença pouco expressiva, a simples troca de uma prolina por uma histidina pode impactar em propriedades físicas promovendo alterações de estrutura secundária, ponto de gelificação, massa, local de clivagem por parte da enzima e até mesmo na atividade como proteína chaperone, ou seja, inibir a agregação e automontagem de diversas proteínas (FARRELL JUNIOR et al., 2004; KAMIŃSKI et al., 2007; RAYNES et al., 2015).

Outro aspecto importante é que, pelo fato da prolina ser resistente à clivagem por enzimas proteolíticas, a BCM7, a priori, não poderia ser liberada pela variante A2, uma vez que a mesma possui este aminoácido na sequência em que a clivagem formaria este peptídeo bioativo; entretanto, em função da complexa mistura de enzimas isomorfas contidas no suco digestivo humano, esta clivagem é passível de ocorrer nessa variante (ASLEDOTTIR et al., 2017) fazendo com que, em condições *in vivo*, possa ocorrer a liberação da BCM7 por parte dessa variante de β -caseína, uma vez que, em um segundo experimento realizado pelo mesmo autor, em condições *ex vivo*, foi observada uma liberação de BCM7 pela variante A1 apenas 2,8 vezes maior, diferença considerada pouco expressiva pelos autores.

Raynes et al. (2015) destacaram que, apesar de sutis, essas diferenças podem fazer com que as micelas de β -caseína A2 sejam diferentes das micelas de β -caseína A1; sendo que as

primeiras apresentam menores tamanho e massa, resultando em comportamento físico diferente entre os leites homozigotos para A1 e A2. Outro impacto que a menor estrutura da β -caseína A2 causaria, segundo os mesmos autores, é a capacidade de atuarem como proteína chaperone, com maior eficiência do que a β -caseína A1.

2.2 PROBLEMAS ASSOCIADOS À β -CASEÍNA A1

Embora esteja historicamente associado ao desenvolvimento das civilizações, o consumo de leite e derivados é um assunto extremamente controverso nas sociedades contemporâneas. Em rápida pesquisa na mídia eletrônica e redes sociais, o leitor irá se deparar com depoimentos de médicos e nutricionistas que apresentam opiniões divergentes acerca dos prós e contras do seu consumo. Grupos ambientalistas, veganistas, religiosos, entre outros, levantam diferentes argumentações ideológicas contra o consumo, enquanto grupos e categorias profissionais ligados às corporações agropecuárias produtoras, entidades de classe e ao agronegócio em geral, além da indústria de nutrição esportiva, entre outros, se posicionam favoráveis ao consumo do leite e seus derivados.

Diversas pesquisas têm mostrado que os lácteos, assim como vários outros alimentos de origem animal ou vegetal, podem comprovadamente trazer benefícios à nutrição e saúde humana (BAILEY et al., 2013), como também podem ocasionar patologias e reações adversas (TROMPETTE et al., 2003). No que concerne aos distúrbios digestivos associados ao consumo de leite, a intolerância à lactose e a alergia à proteína do leite são os mais comuns (RANGEL et al., 2016). Apesar de constantemente serem confundidas, uma vez que ambas causam diarreias e cólicas, a alergia envolve uma reação de hipersensibilidade tipo VI mediada por linfócitos T a alguma proteína do leite, podendo gerar maiores complicações, como o surgimento de reações alérgicas cutâneas, respiratórias e além de outras complicações mais graves no trato gastrointestinal (HEYMAN, 2006).

No entanto, acredita-se que, além da alergia à proteína, outras patologias mais graves associadas ao consumo de leite tenham sua origem no tipo predominante de β -caseína presente no leite, principalmente devido à presença da variante β -caseína A1 (ASLEDOTTIR et al., 2017; VERCESI FILHO, 2011). Tailford et al. (2003) destacaram que dados comparativos de diversas populações sugeriram forte correlação entre o consumo de β -caseína A1 e mortes decorrentes de cardiopatia isquêmica, o que não tem sido observado em populações africanas consumindo leite proveniente de gado zebu africano, que possui a β -caseína A2 (“leite A2”).

Supõe-se que a β -caseína A1 não era originariamente produzida pelas vacas, que produziam apenas a β -caseína A2, mas em função de uma mutação ocorrida entre 5.000 a 10.000 anos atrás no gene CSN2, responsável pela produção dessa proteína, algumas raças começaram a produzir a variante A1 deste alelo. Pouco se sabe sobre o motivo que inicialmente desencadeou esta mutação, o que se pode inferir é que este gene é considerado altamente polimórfico, sendo assim suscetível a sofrer alterações na sua sequência de bases nitrogenadas, o que teria resultado em alterações na sua expressão. Esta mutação afetou apenas o gado de origem europeia, principalmente nas raças com cores mescladas de preto e branco, e em menor proporção os rebanhos de coloração marrom e amarela. As raças zebuínas supostamente estariam livres da ocorrência desta mutação específica para o alelo A1, conseqüentemente para a variante A1 de β -caseína (WOODFORD, 2007). Dessa forma, depreende-se que as raças zebuínas ainda permaneçam naturalmente produzindo o “leite A2”.

Ao serem digeridas, as β -caseínas são clivadas em peptídeos e, por último, a aminoácidos, sendo estes absorvidos em seguida. Entretanto, muitos destes peptídeos, os assim chamados peptídeos bioativos, possuem a capacidade de se ligar a receptores celulares específicos no corpo humano, podendo causar efeitos desejáveis ou indesejáveis diversos (NONGONIERMA; FITZGERALD, 2015).

Pesquisas recentes têm correlacionado a presença de peptídeos bioativos provenientes da digestão da β -caseína A1 e da β -caseína B a diversas patologias (ASLEDOTTIR et al., 2017; VERCESI FILHO, 2011). Um heptapeptídeo bioativo vem chamando a atenção em diversos trabalhos, a β -casomorfina 7 (BCM7), cuja sequência de aminoácidos é Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly-Pro-Ile. Trata-se de uma exorfina com potencial afinidade de ligação aos receptores de opioides μ do corpo humano, que atua de forma similar à morfina e desencadeia diversas reações pelo corpo nos diferentes sistemas do organismo (JIANQIN et al., 2015).

Autores têm destacado que as β -caseínas podem promover prejuízos à circulação sanguínea, levando ao acúmulo de placas de gordura na parede das artérias por causa da oxidação do LDL (*Low Density Cholesterol*). Isso se daria em função de grupamentos tirosil liberados após a digestão das mesmas, pois estes possuem a capacidade de oxidar o LDL e estimular a geração de autoanticorpos que fazem o mesmo (STEINEROVÁ et al., 2001; STEINEROVÁ et al., 2004), levando ao acúmulo de placas de gordura na parede das artérias. Este efeito negativo no sistema circulatório seria justamente o potencial causador de aterosclerose observados em coelhos por (TAILFORD, 2003), mas também em outros animais como roedores, porcos e macacos, conforme mencionado por (MCLACHLAN, 2001).

No entanto, VENN et al. (2006) analisaram o impacto do consumo de ambas variáveis (A1 e A2) de β -caseína nas concentrações sanguíneas de colesterol em neozelandeses adultos. Os autores não encontraram evidências de que o consumo de β -caseína afetasse as concentrações de colesterol no plasma sanguíneo humano, apesar da capacidade da mesma em oxidar o LDL (*Low Density Cholesterol*). Aparentemente, o efeito lesivo relacionado à ingestão do leite seria devido à potencial fonte de radicais tirosil que a BCM7 possui, sendo estes considerados como ativadores da enzima que oxida o LDL, após ligarem-se ao seu sítio ativo (MCLACHLAN, 2001).

Segundo Elliot et al. (1997), a BCM7 também teria efeito sobre o diabetes tipo 1 pelo fato desta gerar autoanticorpos que atacariam as células pancreáticas B, ou ainda, via receptores opioides μ . Entretanto, em revisão de literatura sobre o assunto, Merriman (2009) concluiu que as evidências biológicas para inferir que a β -caseína A1 interfere no diabetes tipo 1 ainda eram muito fracas. Knip et al. (2003) também inferiram que no caso do diabetes tipo 1 os anticorpos não são a causa, mas sim a consequência de uma reação cruzada entre os mesmos e as células pancreáticas B e que o leite não teria um papel direto na patologia.

Outros autores relatam efeitos nocivos da BCM7 no trato digestório associados à redução da motilidade gastrointestinal e secreção de muco pelo intestino (CLAUSTRE et al., 2002; DEFILIPPI et al., 1995; SCHULTE-FROHLINDE et al., 1994). A BCM7 também foi associada a doenças como autismo e esquizofrenia devido à sua atividade opioide e ao estresse oxidativo (ADIBHATLA; HATCHER, 2010; CADE et al., 2000; DETH et al., 2008; SUN; CADE, 1999). Ao analisar a relação entre o autismo e a esquizofrenia em indivíduos da América e Europa, Cade et al. (2000) e Knivsberg et al. (2002), respectivamente, relataram que pessoas com estes distúrbios normalmente excretam maiores quantidades de BCM7. Considerando que a única fonte conhecida deste peptídeo é a β -caseína, esses autores testaram nos mesmos indivíduos uma dieta livre de glúten e leite e encontraram diminuição na excreção da BCM7, além da esperada redução dos sintomas de autismo e esquizofrenia dos indivíduos estudados.

3 POLIMORFISMO GENÉTICO DAS β -CASEÍNAS

De acordo com Kamiński et al. (2007), como toda característica herdável, a produção de β -caseínas, sejam elas A1 ou A2, dependerá de informações contidas no código genético do animal. Há uma relação de codominância entre os diferentes tipos de β -caseínas produzidos,

sendo que três combinações são possíveis, bem como seu produto para os haplótipos A1 e A2, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Produto dos diferentes genótipos para os haplótipos da β -caseína

Combinações	Homozigoto para A1	Heterozigoto A1 A2	Homozigoto para A2
Produtos	Apenas β -caseína A1	Ambas β -caseínas	Apenas β -caseína A2

Fonte: Adaptado de Woodford (2007).

As mutações que ocorrem de forma natural, como as do cromossomo 6 de bovinos, são intituladas de polimorfismo de base única. No caso específico dos alelos A1 e A2, a substituição de uma citosina (A2) por uma adenosina (A1) no nucleotídeo 304 faz com que haja a inserção de uma histidina ao invés de uma prolina na 67^a posição da cadeia peptídica (DAI et al., 2016).

Além da diferença entre as variantes de β -caseínas, outras características de produção de leite dos animais também podem ser influenciadas por essa substituição. Nilsen et al. (2009) ao estudarem animais da raça Norueguesa Vermelha, estabeleceram a associação genética do alelo A2 com maior produção de leite e proteína, fato este também encontrado por Olenski et al. (2010) em animais da raça Holandesa na Polônia.

Ao se analisar várias pesquisas realizadas para determinação das frequências gênicas responsáveis pela produção de variantes de β -caseína, observa-se predominância de alelos A1 nas raças da subespécie taurina, quando comparada à subespécie zebuína. Contudo, o fator subespécie pode não ser conclusivo para definir a presença, ausência ou até mesmo frequência dos genes responsáveis pela produção de determinada variação de β -caseína. Otaviano et al. (2008) encontraram, para as raças zebuínas Gir e Guzerá, frequência alélica de 50% para o alelo A1, superior à média dos resultados obtidos para raças taurinas. Em trabalhos realizados em cinco diferentes países, observou-se frequência média de 35,86% para o alelo A1 e 61,96% para o alelo A2 na raça Holandesa, fato este que contrasta com a expectativa de zebuínos produzirem menor proporção de β -caseína A1 no leite do que taurinos (Tabela 2).

Tabela 2. Frequência dos alelos A1 e A2 em diferentes raças bovinas

Autor(es), ano	Frequência alélica (%)			Raça	Número de animais	País
	A1	A2	Outro			
Otaviano et al., 2008	12,0	88,0	0,0	Holandesa	60	Brasil
Olenski et al., 2010	35,0	65,0	0,0	Holstein Friesian	478	Austrália
Manga e Dvorak, 2010	45,0	55,0	0,0	Czech Holstein	120	Rep. Tcheca
Dai et al., 2016	43,2	45,9	10,9	Holstein	133	China
Sodhi et al., 2012	44,1	55,9	0,0	Holstein	51	Índia
Rangel et al., 2016	2,0	98,0	0,0	Gir	68	Brasil
Otaviano et al., 2008	50,0	50,0	0,0	Gir	60	Brasil
Vercesi Filho, 2011	5,0	95,0	0,0	Gir Leiteiro	237	Brasil
Otaviano et al., 2008	17,0	83,0	0,0	Girolando	60	Brasil
Rangel et al., 2016	3,0	97,0	0,0	Guzerá	88	Brasil
Otaviano et al., 2008	50,0	50,0	0,0	Guzerá	60	Brasil
Otaviano et al., 2008	50,0	50,0	0,0	Pardo-suíço	60	Brasil
Miluchová et al., 2013	29,3	70,7	0,0	Simental	111	Eslováquia
Otaviano et al., 2008	14,0	86,0	0,0	Jersey	60	Brasil
Zepeda-Batista et al., 2015	19,0	71,0	10,0	Jersey	453	Brasil
Sodhi et al., 2012	32,5	67,5	0,0	Jersey	40	Brasil

Considerando ainda os dados da Tabela 2, observa-se que ao se agrupar as médias por raças a fim de se obter uma frequência gênica única para cada uma delas, têm-se as seguintes frequências para o alelo A1: Holstein - 35,86%; Pardo-suíço - 50%; Simental - 29,4%; Jersey - 21,83%; Gir - 19%; Guzerá - 26,5% e Girolando - 17%. Com base nestes dados, pode-se inferir que em termos gerais, zebuínos possuem menor frequência gênica para o alelo A1 do que os taurinos, no entanto, raças como Jersey e Guernsey possuem frequência do alelo A1 inferior à média de outras raças taurinas, ficando próximas à média das raças zebuínas (MISHRA et al., 2009).

As elevadas frequências alélicas para β -caseína A1 em animais de raças zebuínas e elevadas frequências alélicas para β -caseína A2 em animais de raças taurinas no Brasil, observadas por Otaviano et al. (2008) (Tabela 2), talvez possam ser explicadas pela elevada miscigenação dos plantéis. Os acasalamentos absorventes comumente ocorridos no passado

podem ter causado mistura entre genes de taurinos e zebuínos, onde mesmo nos animais zebuínos de plantéis aparentemente considerados puros, pode haver resquícios do material genético dos seus antepassados taurinos, assim como resquícios genéticos de antepassados zebuínos em alguns plantéis nacionais da raça Holandesa, por exemplo.

Contudo, outros resultados obtidos por Otaviano et al. (2008), Vercesi Filho (2011) e Rangel et al. (2016) no Brasil, mostram que as raças zebuínas puras Gir e Guzerá, bem como a Girolando ainda apresentam expressiva predominância do alelo A2, com as frequências de 96,5; 97,0 e 83,0%, respectivamente (Tabela 2).

4 PRODUÇÃO E MERCADO DE “LEITE A2” NO BRASIL

Atualmente, o mercado internacional de lácteos A2 é liderado por uma companhia fundada no ano 2000, na Nova Zelândia; “The A2 Milk Company”, a qual detém diversas patentes relacionadas a testes genéticos, desenvolvimento de produtos e marcas associados ao leite A2 (MILKPOINT, 2016).

Do ponto de vista do produtor, a adequação do rebanho para a produção de leite “A2” segue uma ideia essencial, sugerida por Woodford (2007), em que o produtor deveria ponderar o custo para conversão do rebanho em função de um maior valor recebido pelo “leite A2” ou um desconto no preço pelo “leite A1”, sendo este custo de conversão advindo de como o rebanho será convertido, podendo ser pelo uso de sêmen de touros com genótipo homocigoto A2 e, ou pela realização de testes de genotipagem em todas as vacas, a fim de eliminar aquelas portadoras do alelo A1. De fato, produtores de estados como Paraná, São Paulo, Minas Gerais e Espírito Santo já têm feito testes a fim de identificar animais com alelo A1 para descartá-los do rebanho, com expectativas de certificar os seus plantéis como produtores de “leite A2” (MILKPOINT, 2017a). Cerca de 7.000 animais das raças Gir leiteiro, Guzerá, Girolando e Guzolando já foram geneticamente tipificados em Minas Gerais (MILKPOINT, 2017b).

Uma das formas mais efetivas de se realizar a conversão do rebanho para a produção de “leite A2” seria através do uso de touros testados pela genotipagem, para inseminação em rebanhos onde as matrizes também tenham tido seu genótipo testado, a fim de eliminar as que possuam qualquer outro alelo que não seja o A2. Assim, dois novos mercados surgem em associação com o do “leite A2”, o primeiro consiste na venda de sêmen de touros provados e o segundo em serviços de genotipagem das matrizes portadoras do alelo A2. Ambos mercados já surgiram no Brasil, pois sumários de touros especializados já consideram em suas avaliações o

genótipo do reprodutor para a produção da variante A2 de β -caseína, a exemplo do sumário da Associação Brasileira dos Criadores de Zebu (ABCZ, 2017), que possui informações de touros das raças Gir, Guzerá e Sindi, bem como existem, pelo menos, três laboratórios que realizam este tipo de teste, a fim de checar os genótipos das vacas de produção (MILKPOINT, 2017a).

Existe grande diversidade de sistemas de produção de leite no Brasil, utilizando tanto raças europeias puras (principalmente Holandesa e Jersey), quanto raças zebuínas puras (principalmente Gir), contudo, os sistemas mais predominantes são baseados em cruzamentos de raças europeias x raças zebuínas, sendo a raça sintética Girolando a principal raça criada no país (ASSIS et al., 2005).

Busca-se com esse cruzamento, animais mestiços com características intermediárias de produção e rusticidade. Vercesi Filho (2011), afirmou que os animais mestiços são responsáveis por cerca de 80% da produção nacional de leite, fato reforçado pela informação da Associação Brasileira de Inseminação Artificial, de que, do total de sêmen produzido e comercializado no Brasil no ano de 2014, a raça zebuína Gir leiteiro foi responsável por cerca de 39% e a raça Girolando, por aproximadamente 48% das doses comercializadas (ASBIA, 2014).

Considerando que as raças zebuínas puras e as raças cruzadas europeu x zebu produzem predominantemente a variante A2 de β -caseína e que, à priori, essa variante não produz o peptídeo bioativo BCM7, a seleção de plantéis homozigotos para essa proteína pode se tornar um interessante nicho de mercado para produtores brasileiros, assim como já existe atualmente o mercado consolidado para o leite orgânico. A produção de “leite A2” provavelmente trará o ônus das despesas com certificação, pagamento de patentes, genotipagem de vacas, utilização de sêmen de touros genotipados, etc. Destaca-se que, caso a produção seja baseada em gado zebu ou azebuado, a produtividade pode ser menor do que em plantéis com raças europeias especializadas.

Há que se destacar que os produtos derivados do “leite A2” são demandados principalmente por pessoas que apresentam determinados sintomas indesejados que possam estar relacionados ao consumo de leite e por isso mesmo, requerem cuidados especiais. Portanto, o produtor deve garantir que nenhum leite A1 entre por acidente na linha de produção e se misture ao leite certificado como A2. Assim, neste mercado a certificação dos animais torna-se essencial, visando principalmente manter a qualidade esperada do produto, e adotando estratégias de seleção e reprodução que assegurem a presença da forma homozigótica A2A2 no plantel. Neste contexto, a genotipagem dos animais é considerada como a única forma de assegurar com alta precisão a integridade do leite vendido (MILKPOINT, 2017b).

Contudo, o que se espera é que o mercado para esse tipo de leite remunere melhor o produtor, a exemplo do que acontece nos sistemas orgânicos de produção. Segundo o site MilkPoint (2016), no mercado do “leite A2”, os produtores buscam principalmente receber um valor extra pelo leite certificado, a exemplo do que ocorre na Austrália, onde o valor pago ao produtor por esse tipo de leite chega a ser mais que o dobro daquele pago pelo leite comum não certificado. O mercado externo do leite “A2” também pode ser uma opção viável, pois além da patente de comercialização internacional da marca “A2 Milk”, há demanda crescente deste produto mais saudável por países onde a população possui maior poder de compra e maior conhecimento sobre os impactos do leite A1 na saúde. Soma-se a isso o fato de que os rebanhos dos países desenvolvidos são em maior parte compostos por animais de raças taurinas e, portanto, mais susceptíveis à produção da β -caseína A1.

5 REFERÊNCIAS

ADIBHATLA, R. M.; HATCHER, J. F. Lipid oxidation and peroxidation in CNS health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 12, n. 1, p. 125-169, 2010.

ASLEDOTTIR, T. et al. Identification of bioactive peptides and quantification of β -casomorphin-7 from bovine β -casein A1, A2 and I after ex vivo gastrointestinal digestion. **International Dairy Journal**, v. 71, n. 1, p. 98-106, 2017.

ASSIS, A. G. et al. Sistemas de produção de leite no Brasil. **Circular Técnica 85**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2005. 5p.

ABCZ (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE ZEBU). 2016, **Sumário de touros Gir leiteiro divulga pela primeira vez touros provados para A2**. Disponível em: <<http://www.abcz.org.br/Exposicoes/Conteudo/24446-Sum%C3%A1rio%20de%20Touros%20Gir%20Leiteiro%20divulga%20pela%20primeira%20vez%20touros%20provados%20para%20A2>> Acesso em: 10 ago. 2017.

ASBIA (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL). 2014, Index ASBIA: Mercado. ASBIA, p. 1-30, 2014. Disponível em: <<http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/index2014.pdf>>. Acesso em: 03 ago. 2017

BAILEY, R. K. et al. Lactose intolerance and health disparities among African Americans and Hispanic Americans: an updated consensus statement. **Journal of the National Medical Association**, v. 105, n. 2, p. 112-127, 2013.

CADE, R. et al. Autism and schizophrenia: intestinal disorders. **Nutritional Neurosciences**, v. 3, n. 1, p. 57-72, 2000.

CLAUSTRE, J. et al. Effects of peptides derived from dietary proteins on mucus secretion in rat jejunum. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 283, n. 3, p. 521-528, 2002.

DAI, R. et al. Identification of alleles and genotypes of beta-casein with DNA sequencing analysis in Chinese Holstein cow. **Journal of Dairy Research**, v. 83, n. 3, p. 312-316, 2016.

DE KRUIF, C. G.; GRINBERG, V. Y. Micellisation of β -casein. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 210, n. 2, p. 183-190, 2002.

DEFILIPPI, C. et al. Inhibition of small intestinal motility by casein: a role of beta casomorphins? **Nutrition**, v. 11, n. 6, p. 751-754, 1995.

DETH, R. et al. How environmental and genetic factors combine to cause autism: A redox/methylation hypothesis. **Neurotoxicology**, v. 29, n. 1, p. 190-201, 2008.

ELLIOT, R. B. et al. The role of β -casein variants in the induction of insulin-dependent diabetes in the non-obese diabetic mouse and humans. **Seminar on milk protein polymorphism**, IDF special issue, n. 9702, p. 445-453, 1997.

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA). **Pesquisadores brasileiros sequenciam o genoma do Gir Leiteiro**. Brasília: Embrapa, 2015. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/gado-de-leite/busca-de-noticias/-/noticia/2634883/pesquisadores-brasileiros-sequenciam-o-genoma-do-gir-leiteiro>>. Acesso em 14 ago. 2017.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION). **Dairy production and products**, Rome: FAO, 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/milk-production/dairy-animals/en/#.WYtSXLpFzIU>>. Acesso em: 14 ago. 2017.

FARRELL JUNIOR, H. M. et al. Nomenclature of the proteins of cow's milk - sixth revision. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 6, p. 1641-1674, 2004.

FOX, P. F.; BRODKORB, A. The casein micelle: Historical aspects, current concepts and significance. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 1, p. 677-684, 2008.

GALLINAT, J. L. et al. DNA-based identification of novel bovine casein gene variants. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 1, p. 699-709, 2013.

GOFF, H. D. **The Dairy Science and Technology**. Ebook. Guelph: University of Guelph, 2009. Disponível em: <<https://www.uoguelph.ca/foodscience/dairy-science-andtechnology/dairy-chemistry-and-physics>>. Acesso em: 3 ago. 2017.

GONZÁLEZ, F. H. D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p.5-22.

HAQ, M. R. et al. Comparative evaluation of cow beta-casein variants (A1/A2) consumption on Th2-mediated inflammatory response in mouse gut. **European Journal of Nutrition**, v. 53, n. 4, p. 1039-1049, 2013.

HEYMAN, M. B. Lactose intolerance in infants, children and adolescents. **Pediatrics**, v. 118, n. 3, p. 1279-1286, 2006.

JIANQIN, S. et al. Effects of milk containing only A2 beta casein versus milk containing both A1 and A2 beta casein proteins on gastrointestinal physiology, symptoms of discomfort, and cognitive behavior of people with self-reported intolerance to traditional cows' milk.

Nutrition Journal, v. 15, n. 35, p. 1-16, 2015.

JORGE, W. A genômica bovina - Origem e evolução de taurinos e zebuínos. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, n. 2, p. 217-237, 2013.

KAMIŃSKI, S.; CIESLIŃSKA, A.; KOSTYRA, E. Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health. **Journal of Applied Genetics**, v. 48, n. 3, p. 189-198, 2007.

KNIP, M. Cow's milk antibodies in patients with newly diagnosed type 1 diabetes: primary or secondary? **Pediatric Diabetes**, v. 4, n. 1, p. 155-156, 2003.

KNIVSBERG, A. M. et al. A randomized, controlled study of dietary intervention in autistic syndromes. **Nutritional Neuroscience**, v. 5, n. 4, p. 251-261, 2002.

MANGA, I.; DVORAK, J. TaqMan allelic discrimination assay for A1 and A2 alleles of the bovine CSN2 gene. **Czech Journal of Animal Sciences**, v. 55, n. 8, p. 307-312, 2010.

MCLACHLAN, C. N. Beta-casein A1, ischaemic heart disease mortality, and other illnesses. **Medical Hypotheses**, v. 56, n. 2, p. 262-272, 2001.

MERRIMAN, T. R. Type 1 diabetes, the A1 milk hypothesis and vitamin D deficiency. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 83, n. 2, p. 149-156, 2009.

MILKPOINT. 2016, **Leite A2: já conhece este tipo de leite?** Disponível em: <<https://www.milkpoint.pt/noticias/novidades-do-setor/leite-a2-ja-conhece-este-tipo-de-leite-99321n.aspx>>. Acesso em: 3 ago. 2017.

MILKPOINT. **Leite A2A2, para alérgicos, é tendência de mercado.** Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/giro-lacteo/leite-a2a2-para-alergicos-e-tendencia-de-mercado-105607n.aspx>>. Acesso em: 3 ago. 2017a.

MILKPOINT. **Criatórios estão selecionando seus plantéis para a comercialização de animais e leite A2A2.** Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/giro-lacteo/criatorios-estao-selecionando-seus-planteis-para-a-comercializacao-de-animais-e-leite-a2a2-105897n.aspx>>. Acesso em: 3 ago. 2017b.

MILUCHOVÁ, M.; GÁBOR, M.; TRACHOVICKÁ, A. Analysis of Slovak Spotted breed for bovine beta casein A1 variant as risk factor for human health. **Acta Biochimica Polonica**, v. 60, n. 4, p. 799-801, 2013.

MISHRA, B. P. et al. Status of milk protein, β -casein variants among Indian milch animals. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 79, n. 7, p. 722-725, 2009.

- NILSEN, H. et al. Casein haplotypes and their associations with milk production traits in Norwegian Red cattle. **Genetics Selection Evolution**, v. 41, n. 24, p. 1-12, 2009.
- NONGONIERMA, A. B.; FITZGERALD, R. J. Bioactive properties of milk proteins in humans: A review. **Peptides**, v. 73, n. 1, p. 20-34, 2015.
- OLENSKI, K. et al. Polymorphism of the beta-casein gene and its associations with breeding value for production traits of Holstein–Friesian bulls. **Livestock Science**, v. 131, n. 1, p. 137-140, 2010.
- OTAVIANO, A. R. et al. β -casein gene polymorphism permits identification of bovine milk mixed with bubaline milk in mozzarella cheese. **Genetic and Molecular Biology**, v. 31, n. 4, p. 902-905, 2008.
- RANGEL, A. H. N. et al. Lactose intolerance and cow's milk protein allergy. **Food Science and Technology**, v. 36, n. 2, p. 179-187, 2016.
- RAYNES, J. K. et al. Structural differences between bovine A1 and A2 β -casein alter micelle self-assembly and influence molecular chaperone activity. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 4, p. 2172-2182, 2015.
- ROGINSKI, H.; FUQUAY, J. W.; FOX, P. F. **Encyclopedia of Dairy Sciences**. London: Academic Press, 2002. 2776 p.
- SCHULTE-FROHLINDE, E. et al. Effect of bovine β -casomorphin-4-amide on gastrointestinal transit and pancreatic endocrine function in man. In: BRANTL, V.; TESCHEMACHER, H. **β -casomorphins and related peptides: recent developments**, New York: VCH Weinheim. 1994. p. 155-160.
- SODHI, M. et al. Screening of taurine and crossbred breeding bulls for A1/A2 variants of β -casein gene **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 82, n. 2, p. 183-186, 2012.
- STEINEROVÁ, A. et al. Antibodies against oxidized LDL in infants. **Clinical Chemistry**, v. 47, n. 6, p. 1137-1138, 2001.
- STEINEROVÁ, A.; KOROTVICKA, M.; RACEK, J. Significant increase in antibodies against oxidized LDL particles (IgoxLDL) in three-month old infants who received milk formula. **Atherosclerosis**, v. 173, n. 1, p. 147-148, 2004.
- SUN, Z.; CADE, J. R. A peptide found in schizophrenia and autism causes behavioral changes in rats. **Autism**, v. 3, n. 1, p. 85-95, 1999.
- TAILFORD, K. A. et al. A casein variant in cow's milk is atherogenic. **Atherosclerosis**, v. 170, n. 1, p. 13-19, 2003.
- TROMPETTE, A. et al. Milk bioactive peptides and β -casomorphins induce mucus release in rat jejunum. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 11, p. 3499-3503, 2003.

VENN, B. J. et al. A comparison of the effects of A1 and A2 β -casein protein variants on blood cholesterol concentrations in New Zealand adults. **Atherosclerosis**, v. 188, n. 2, p. 175-178, 2006.

VERCESI FILHO, A. E. Identificação de alelos para o gene da beta-caseína na raça Gir leiteiro. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 8, n. 2, p. 1-5, 2011.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. **Dairy science and technology**. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 2006. 782 p.

WOODFORD, K. **Devil in the milk: Illnes, health and the politics of A1 and A2 milk**. Vermont: Chelsea Green Publishing, 2007. 246 p.

ZEPEDA-BATISTA, J. L. et al. Polymorphism of three milk protein genes in Mexican Jersey cattle. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 18, n. 1, p. 1-4, 2015.



Capítulo

25

Produção *in vitro* de embriões bovinos na pecuária de leite

Izabelle Pereira de Lacerda ¹
José de Oliveira Carvalho Neto ²

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

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

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o principal produtor de embriões *in vitro* de bovinos do mundo, com produção anual próxima de 350 mil embriões. Tal posição é resultante da adesão desta biotecnologia por parte dos produtores do segmento leiteiro, sendo este importante contribuinte na difusão da produção *in vitro* de embriões (PIVE) no país. Além, disto, a associação do uso do sêmen sexado na PIVE, possibilitando a escolha do sexo do produto, é responsável pelo crescimento contínuo desta tecnologia nas propriedades leiteiras (VIANA et al., 2012). Além do destaque na PIVE, o Brasil é hoje o quarto maior produtor mundial de leite. Apesar disso, a quantidade de leite importada supera em 400% as exportações. Este cenário pode ser reflexo da oscilação nos preços do leite que ocorrem no comércio interno, com grande variação ao longo do ano (ZOCCAL; RENTERO, 2018).

Dentre os bovinos criados para o segmento leiteiro no país, são utilizados tanto *Bos taurus*, como Holandês, Jersey e Pardo-Suíça, quanto *Bos indicus*, representados principalmente pelas raças Guzerá e Gir. Embora os animais taurinos apresentem melhor aptidão para produção de leite, estes animais têm sua fertilidade e produtividade afetadas pelo clima tipicamente tropical e subtropical brasileiro. Já os animais zebuínos apresentam-se mais adaptados ao clima nacional, sendo capazes de manter sua produção, e melhores índices de fertilidade em condições adversas (ZOCCAL; RENTERO, 2018). Além das questões relacionadas a produção e rusticidade, animais taurinos e zebuínos apresentam diferenças em sua fisiologia reprodutiva (BASTOS et al., 2010; BATISTA et al., 2016; GIMENES et al., 2015; LOPES et al., 2017) sendo que fêmeas taurinas, apresentam performance inferior à de zebuínos, quando as fêmeas são utilizadas como doadoras na produção *in vitro* de embriões (GIMENES et al., 2015; LACERDA, 2017; PONTES et al., 2010). Sendo assim, na pecuária leiteira, considerando as particularidades de taurinos e zebuínos, o cruzamento destas raças, resultam em animais mestiços (*Bos taurus-indicus*), de diferentes graus sanguíneos. Estes animais herdaram de seus progenitores características produtivas e de rusticidade (PONTES et al., 2010; SILVA-SANTOS et al., 2014), tornando-se uma alternativa viável para melhor produtividade, associada à manutenção de bons índices reprodutivos.

Neste contexto, o presente capítulo aborda as etapas da produção *in vitro* de embriões, bem como o histórico desta biotecnologia no Brasil e os resultados da PIVE em animais taurinos e zebuínos do segmento leiteiro.

2 HISTÓRICO DA PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES

Na espécie bovina, o primeiro nascimento de um produto gerado a partir de fecundação *in vitro* data de 1981, nos Estados Unidos (BRACKETT et al., 1982). No Brasil, o nascimento dos primeiros bezerros produzidos *in vitro* ocorreu em 1993, sendo o trabalho realizado por uma equipe da Universidade Estadual Paulista (UNESP-Jaboticabal/SP) (RUBIN, 2005).

O estabelecimento da PIVE no Brasil se deu no início dos anos de 1990 (GONÇALVES; DE FIGUEIREDO; DE FIGUEIREDO FREITAS, 2008). Inicialmente, a técnica associada a aspiração folicular (OPU) surgiu como uma alternativa às fêmeas que, por algum motivo, não respondiam à transferência de embriões convencional (VIANA et al., 2004). Entretanto, em poucos anos a PIVE se tornou a técnica de eleição para a produção de embriões bovinos (VIANA et al., 2012), por possibilitar o uso de sêmen provenientes de vários touros em ovócitos de uma mesma vaca e dispensar o uso de protocolos hormonais na doadora (SUTHAR; SHAH, 2009). Além disso, a técnica pode ser aplicada em doadoras prenhes ou acíclicas, e proporciona melhor aproveitamento da doadora, a qual pode gerar mais embriões ao longo do ano, quando comparada a técnica tradicional de superovulação e transferência de embriões (BONI, 2012).

Inicialmente, o emprego da PIVE em animais da raça zebuína contribuiu muito para o desenvolvimento e disseminação comercial desta técnica, chegando a ser responsável por 90% dos embriões produzidos *in vitro* no Brasil (VIANA et al., 2012). Posteriormente, o uso do sêmen sexado para a PIVE, com resultados de taxa de produção de embriões semelhantes aos do sêmen convencional (BLONDIN et al., 2009; CARVALHO et al., 2010; TRIGAL et al., 2012; XU et al., 2006), marcou o crescimento da atividade no segmento leiteiro (VIANA et al., 2012). A dinâmica do emprego da PIVE nos setores de corte e leite para a PIVE é demonstrada abaixo (Figura 1), podendo ser observada grande contribuição do setor de corte no primeiro ciclo da atividade, seguido por um crescimento no uso da PIVE na pecuária de leite (VIANA et al., 2012).

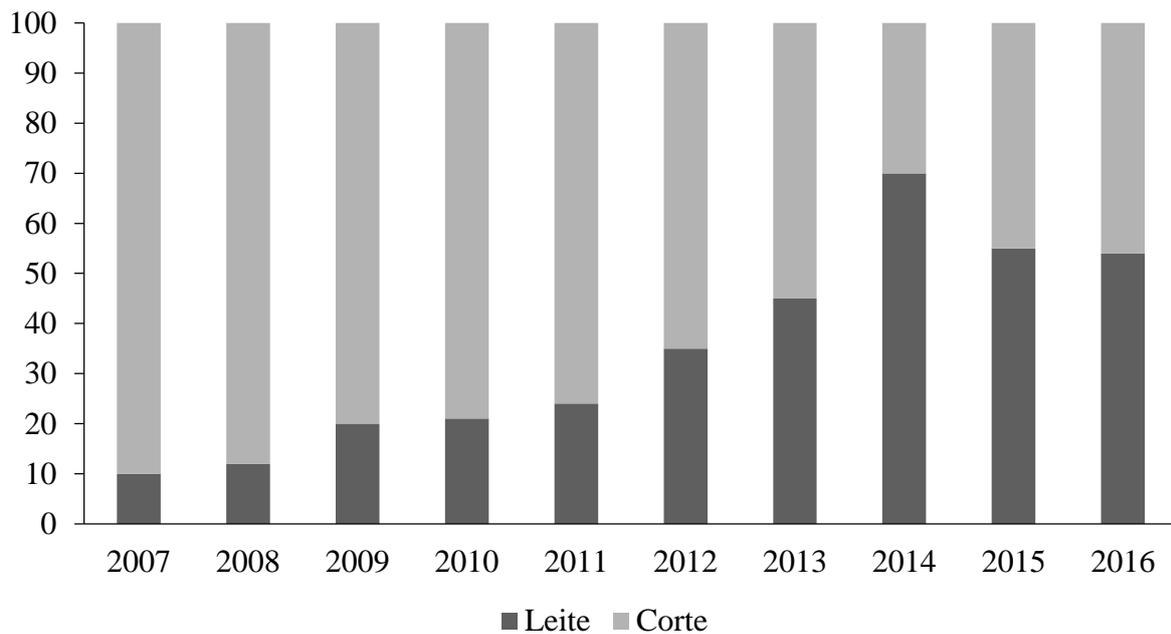


Figura 2: Proporção do total de embriões bovinos produzidos no Brasil de 2007 a 2016 provenientes de raças leiteiras ou de corte.

Fonte: adaptado de Viana e Figueiredo (2017).

Com o crescente uso da PIVE na pecuária leiteira, foi otimizado a produção de embriões pelo cruzamento de animais taurinos e zebuínos, gerando raças mestiças, como Girolando para reposição do rebanho. Além disso, o uso de fêmeas mestiças (*Bos taurus* x *Bos indicus*) como doadoras de ovócitos, permite a produção de animais de diferentes graus sanguíneos, gerando animais de elite e alta produção leiteira (VIANA et al., 2012).

Entretanto, mesmo com todo crescimento e posição de destaque no cenário mundial, ainda existem desafios a serem superados dentro da indústria de PIVE no Brasil, como a criopreservação de embriões *in vitro* com resultados de prenhez semelhantes ao de embriões transferidos a fresco, o que consequentemente viabilizará novos mercados para a PIVE (VIANA et al., 2012; VIANA; FIGUEIREDO, 2017).

3 PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES

A técnica de produção *in vitro* de embriões consiste em coletar ovócitos de uma doadora de alto mérito genético, realizar a maturação fecundação *in vitro* do ovócito e posterior cultivo *in vitro*, para desenvolvimento inicial do embrião, o qual será transferido para as receptoras.

Neste sentido, é importante que seja respeitada uma sincronia reprodutiva entre as fêmeas doadoras e receptoras, devendo ser seguido um cronograma das atividades realizadas durante as etapas da PIVE. Na figura 2 é apresentado um possível cronograma para a realização da PIVE (GONÇALVES; DE FIGUEIREDO; DE FIGUEIRÊDO FREITAS, 2008), sendo que tal cronograma de execução, tanto de sincronização da receptora, quanto do protocolo de PIVE, pode apresentar variações de acordo com o laboratório.

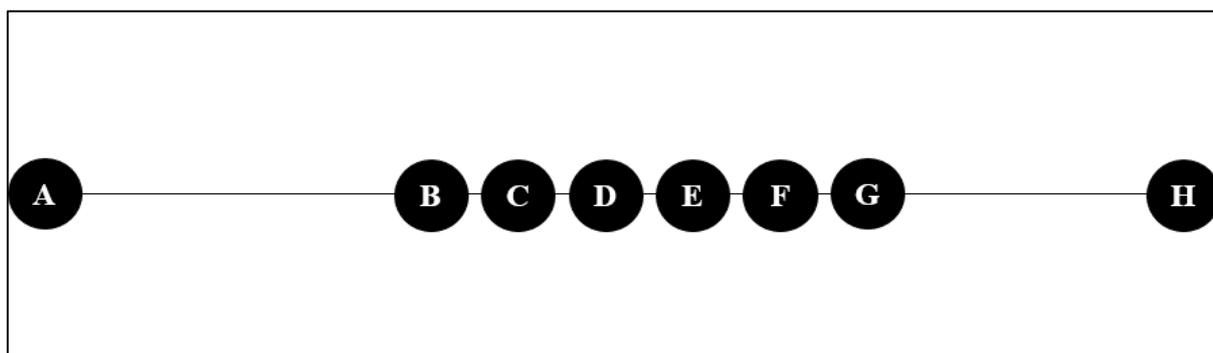


Figura 3: Etapas para procedimento de produção *in vitro* de embriões. **A:** Dia -11, início do protocolo de sincronização de cio na receptora, com aplicação de benzoato de estradiol e colocação do implante de progesterona; **B:** Dia -3, aplicação de prostaglandina e retirada do implante de progesterona na receptora; **C:** Dia -2, aplicação de indutor de ovulação (benzoato de estradiol) na receptora; **D:** Dia -1, Aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU) na doadora e início da maturação *in vitro* dos ovócitos da doadora; **E:** Dia 0, fecundação *in vitro* dos ovócitos da doadora; **F:** Dia 1, transferência dos possíveis zigotos para cultivo *in vitro*; **G:** Dia 2, avaliação da taxa de clivagem dos embriões; **H:** Dia 7, avaliação dos embriões produzidos e transferência dos embriões para as receptoras.

Fonte: os autores.

Para a realização das etapas laboratoriais da PIVE, são necessários meios específicos que mimetizam o ambiente do trato reprodutor feminino em cada etapa da técnica. Considerando a ampla utilização da técnica e a quantidade de laboratórios comerciais e centros de pesquisa que a dominam, é importante ressaltar que a composição destes meios pode variar de acordo com o laboratório que está realizando o procedimento (GONÇALVES; DE FIGUEIREDO; DE FIGUEIRÊDO FREITAS, 2008).

3.1 COLETA E SELEÇÃO DOS OVÓCITOS

A fêmea a ser utilizada como doadora é selecionada com base em características de interesse zootécnico, podendo variar entre uma propriedade e outra. Após a seleção da doadora, a obtenção dos ovócitos ocorre pelo método de aspiração folicular guiada por ultrassonografia

(MONTEIRO et al., 2017), a qual pode ser conduzida em um dia aleatório do ciclo estral. Para este procedimento, a OPU é realizada com auxílio de um aparelho ultrassonográfico equipado com um transdutor microconvexo, o qual está acoplado a uma guia de aspiração folicular. No momento da OPU, todos os folículos maiores que 2 mm de diâmetro presentes nos ovários são aspirados, utilizando-se uma agulha hipodérmica descartável de 18 ou 20 gauge, acoplada a um circuito de teflon, conectado à um tubo cônico de 50 mL (LACERDA, 2017). Uma bomba de vácuo acoplada ao tubo coletor de ovócitos, com pressão de 12-15 mL/min, realiza pressão negativa neste tubo para que os folículos sejam aspirados e armazenados (VIANA et al., 2004). Na figura abaixo (Figura 3) estão representados os materiais utilizados para a OPU.

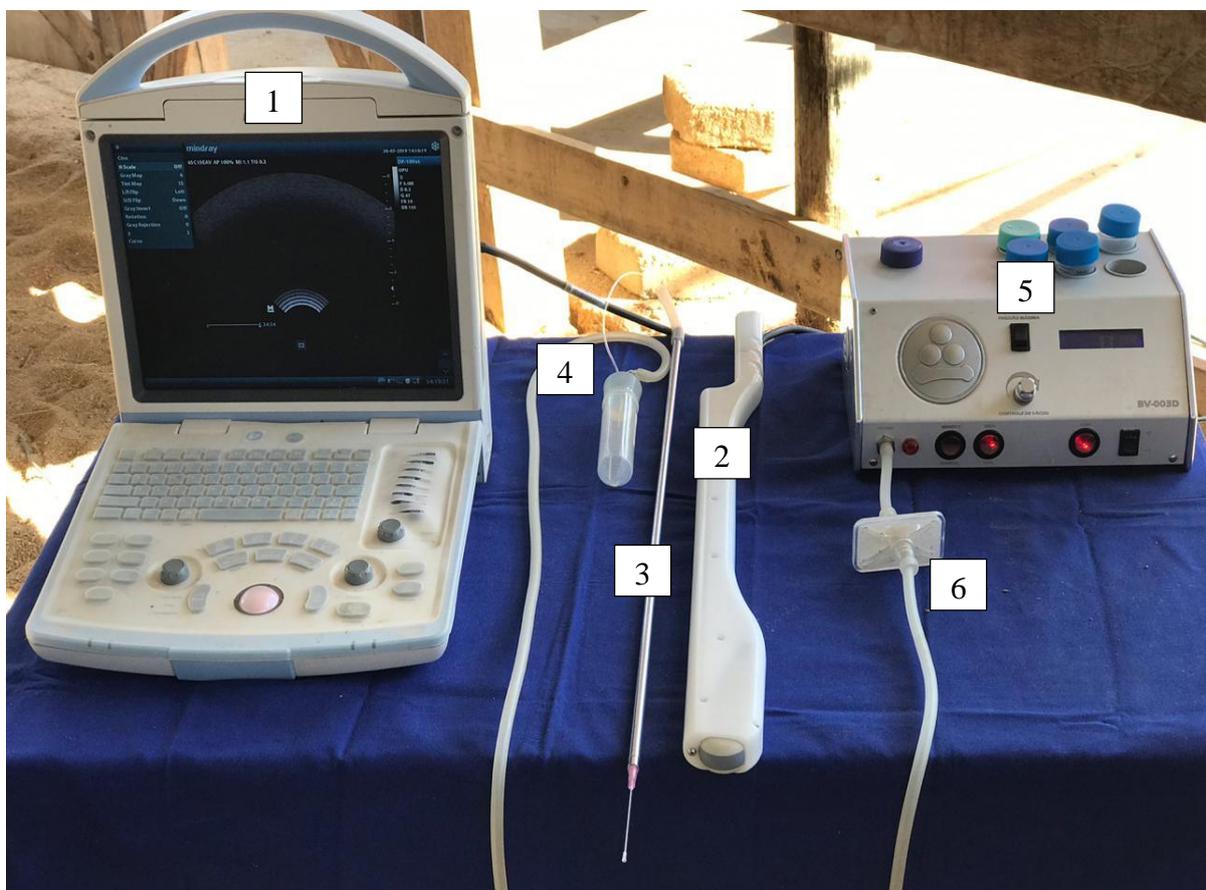


Figura 4: Equipamentos utilizados para o procedimento de aspiração folicular. 1: Aparelho de ultrassonografia; 2: Guia de aspiração folicular com transdutor microconvexo acoplado; 3: Agulha de aspiração juntamente com mandril metálico; 4: Tubo para armazenamento do fluido folicular contendo o complexo cumulus ovócitos; 5: Bomba de vácuo; 6: sistema de teflon para conexão entre a bomba de vácuo e o tubo coletor.

Fonte: os autores.

Após a OPU, o tubo contendo o fluido folicular aspirado com os complexos cúmulos ovócitos (COCs), são encaminhados ao laboratório, para serem rastreados em estereomicroscópio. Após contagem do total de COCs recuperados, os mesmos são classificados em graus de qualidade, que variam de I a IV, de acordo com as camadas de células

do cúmulo e homogeneidade do citoplasma (GONÇALVES; DE FIGUEIREDO; DE FIGUEIRÊDO FREITAS, 2008):

- Grau I: COCs com mais de três camadas de células do cúmulo compactas e citoplasma regular.
- Grau II: COCs com até três camadas de células do cúmulo, citoplasma regular ou com granulações finas.
- Grau III: COCs parcialmente desnudos, citoplasma irregular.
- Grau IV: COCs desnudos ou em degeneração.

Considerando esta classificação, serão selecionados para seguir as etapas de PIVE, em laboratório, somente COCs graus I, II e III (LACERDA, 2017).

3.2 MATURAÇÃO *IN VITRO*

Os COCs selecionados após a OPU são transferidos para gotas de meio de maturação, sendo alocados em estufa de cultivo durante 20-24 horas, a uma temperatura de 38,5°C e atmosfera controlada, para que ocorra a maturação (GONÇALVES; DE FIGUEIREDO; DE FIGUEIRÊDO FREITAS, 2008).

No momento da aspiração folicular, os folículos, encontram-se em diferentes estágios de desenvolvimento, estando os oócitos em prófase I da primeira divisão meiótica, não estando aptos a serem fecundados. Desta forma, a etapa da maturação *in vitro* (MIV) ocorre para que todos os COCs alcancem a competência necessária para serem fecundados, devendo progredir sua divisão meiótica até a fase de metáfase II (GOTTARDI; MINGOTI 2009).

A maturação do ovócito compreende modificações nucleares, citoplasmáticas e moleculares necessárias para que o ovócito seja capaz de conduzir o desenvolvimento inicial do embrião (GOTTARDI; MINGOTI 2009). A maturação nuclear compreende a progressão do estágio de prófase I da primeira divisão meiótica até a fase de metáfase II. Já a maturação citoplasmática, está relacionada com as modificações celulares, como, aumento na síntese lipídica, redução no tamanho do complexo de Golgi e alinhamento dos grânulos corticais (DODE, 2006; GONÇALVES; DE FIGUEIREDO; DE FIGUEIRÊDO FREITAS, 2008). A reorganização das organelas permite que as mesmas se encontrem nas condições ideais para desempenharem sua função após a fecundação (GOTTARDI; MINGOTI, 2009). Além disto, durante o processo da MIV, os ovócitos realizam estoque de mRNAs, que serão traduzidos em

proteínas, possibilitando ao ovócito suportar o desenvolvimento embrionário inicial (DODE, 2006; SIRARD et al., 2006). De acordo com Sirard et al. (2006) estas modificações moleculares é a que possui maior relação com a capacidade do ovócito em gerar um embrião.

Embora estas modificações nucleares, citoplasmáticas e moleculares não possam ser avaliadas rotineiramente no processo de PIVE, a maturação pode ser avaliada pela expansão das células do cúmulo (Figura 4), a qual indica que o ovócito passou pela maturação. Esta expansão das células do cúmulo, é proporcionada pela síntese de ácido hialurônico a partir das próprias células do cúmulo, e depositada no espaço intercelular (TANGHE et al., 2002).

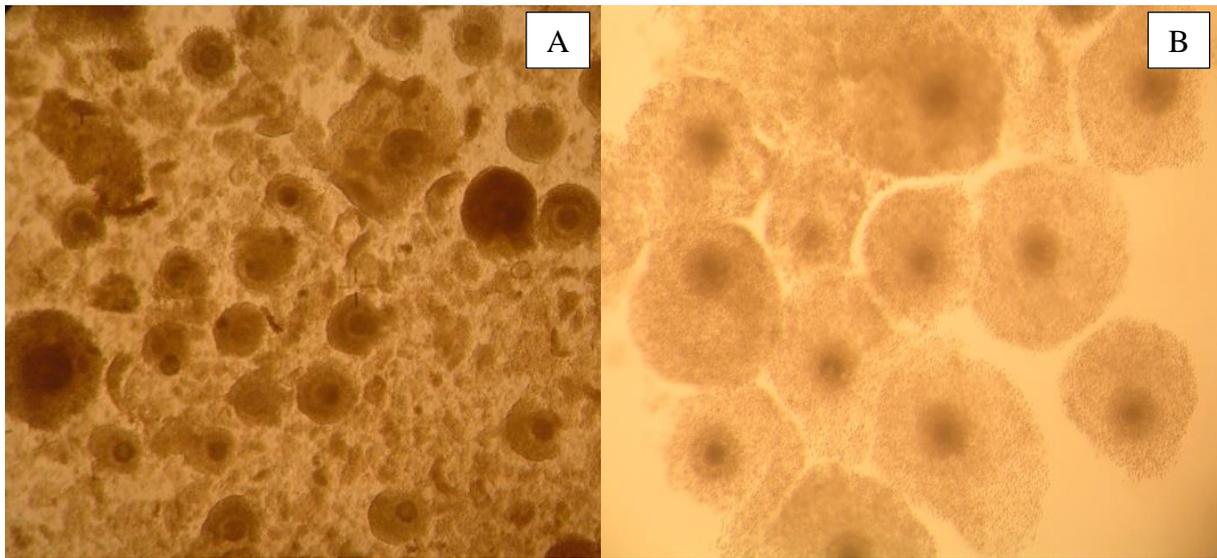


Figura 4: Complexos cúmulo ovócitos imaturos no momento em que são rastreados e classificados (A) e após a maturação *in vitro*, com a expansão das células do cúmulo (B). Fonte: os autores.

3.3 FECUNDAÇÃO *IN VITRO*

Após a MIV, os ovócitos maturados serão transferidos para gotas contendo meio específico para a fecundação, onde serão co-incubados com os espermatozoides durante 18-22 horas, a uma temperatura de 38,5°C e atmosfera controlada (GONÇALVES; DE FIGUEIREDO; DE FIGUEIRÊDO FREITAS, 2008).

No momento da fecundação *in vitro*, os espermatozoides precisam ser preparados, com a separação destas células do plasma seminal, crioprotetores e diluentes (PARRISH, 2014). Esta separação pode ser realizada por lavagem, migração ascendente ou gradiente de densidade e centrifugação (GONÇALVES; DE FIGUEIREDO; DE FIGUEIRÊDO FREITAS, 2008).

O método de lavagem consiste na diluição do sêmen em meio de cultura, seguida por centrifugação, removendo contaminantes do plasma seminal. Ao final deste procedimento, espermatozoides inviáveis e viáveis permanecem na amostra, bem como outros tipos celulares, o que compromete a manutenção da viabilidade dos espermatozoides móveis (MORTIMER; MORTIMER, 1992).

No método de migração ascendente, os espermatozoides são colocados em um tubo contendo meio de cultivo e mantidos em estufa. Após alguns minutos, os espermatozoides vivos são separados dos demais, bem como de plasma seminal e diluidores. Esta separação ocorre através da migração ascendente dos espermatozoides móveis para a superfície do meio, os quais podem ser retirados por pipetagem do sobrenadante (DODE et al., 2002).

Por fim, o método mais utilizado na preparação espermática para a FIV, ocorre através da passagem do conteúdo da palheta de sêmen por dois gradientes de densidade. Com o conteúdo da palheta de sêmen depositado sobre os gradientes, é realizada a centrifugação do tubo, que promoverá a seleção dos espermatozoides. O meio superior, de menor densidade, promove a separação do plasma seminal e crioprotetores, enquanto a porção inferior, de maior densidade, separa espermatozoides móveis e imóveis (PARRISH; KROGENAES; SUSKO-PARRISH, 1995).

Após a seleção, os espermatozoides são adicionados a gota de meio de fecundação contendo os COCs maturados, sendo realizada a co-incubação dos gametas por 18 a 22 horas. Assim como os COCs, os espermatozoides precisam de um preparo prévio para que se tornem aptos a fecundarem. Este processo é denominado capacitação espermática e, em condições *in vivo*, ocorre no trato reprodutor feminino através de glicosaminoglicanos. (GONÇALVES; DE FIGUEIREDO; DE FIGUEIRÊDO FREITAS, 2008). Durante a produção de embriões *in vitro*, a capacitação é promovida pela heparina (PARRISH et al., 1986), a qual é adicionada ao meio de fecundação contendo os gametas.

3.4 CULTIVO *IN VITRO*

Após o período de co-incubação, os possíveis zigotos são transferidos para gotas de fluido de oviduto sintético, e cultivados a 39°C em atmosfera controlada por 7 dias. Ao final do cultivo, os embriões são classificados de acordo com a qualidade e estágio de desenvolvimento. Neste momento podem ser encontrados embriões em fase de mórula compacta (MC), blastocisto inicial (Bi), blastocisto (Bl), blastocisto expandido (Bx) e blastocisto eclodido (Be),

sendo mais comum embriões em fase de B1 e Bx (Figura 5). Após avaliação, os embriões são envasados em palhetas de 0,25 mL e transportados até as propriedades, onde serão transferidos para as fêmeas receptoras previamente sincronizadas (LACERDA, 2017).



Figura 5: Embriões bovinos em fase de blastocisto e blastocisto expandido produzidos *in vitro* no dia 7 de desenvolvimento.

Fonte: os autores.

A partir de 25 dias de prenhez pode ser realizado o diagnóstico de gestação das receptoras, com auxílio de ultrassonografia para verificar presença ou ausência embrionária (ROMANO et al., 2006). Já próximo aos 60 dias de prenhez é possível avaliar o sexo fetal através da localização do tubérculo genital. O feto é considerado fêmea quando o tubérculo genital está localizado em direção à base da cauda, e o feto é registrado como macho quando o tubérculo genital se encontra imediatamente caudal à ligação abdominal do cordão umbilical (ALI; FAHMY, 2008).

4 PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES EM GADO LEITEIRO

Como discutido anteriormente, a pecuária de leite teve importante contribuição no crescimento da técnica de produção *in vitro* de embriões no Brasil. Apesar disso, animais com alta produção de leite, tendem a ter menor eficiência reprodutiva, afetando negativamente os índices da PIVE no gado leiteiro de alta produção (BUTLER, 2003; PRYCE et al., 2004). Deste modo, a seleção dos animais a serem utilizados para a reprodução, com base em sua produção, contribui para o declínio na performance reprodutiva das gerações ao longo dos anos (GATIUS, 2003; LONERGAN et al., 2016; PRYCE et al., 2004; WALSH; WILLIAMS; EVANS, 2011).

Dentro do segmento leiteiro, doadoras Holandês, Jersey, Pardo-Suíça, Guzerá, Gir e Girolando representam as principais raças utilizadas na PIVE (ZOCCAL; RENTERO, 2018). Esta variedade no uso de diferentes raças, implica em resultados variáveis, tanto relacionada a quantidade e qualidade dos COCs recuperados, como na taxa de produção de embriões na PIVE. Isto ocorre pois é conhecido que além da maior produção de leite, animais taurinos apresentam menores taxas de produção de embrião quando comparados aos zebuínos (LACERDA, 2017; PONTES et al., 2009).

Em recente estudo, Lacerda (2017) analisou resultados de aproximadamente 3000 sessões de OPU em gado de leite provenientes de um laboratório comercial na região da Zona da Mata de Minas Gerais. Do total analisado, 70,8% das aspirações foram realizadas em doadoras Gir, 16,1% em Girolando, 9,2% em Holandês e 3,9% em doadoras de outros graus de sangue provenientes do cruzamento de Gir-Holandês. Isto mostra uma predileção pelo uso de doadoras Gir ao se realizar a PIVE em rebanhos leiteiros, sendo que considerando o vasto território e diferentes climas do Brasil, esta proporção pode ser modificada de acordo com a região em estudo.

Pontes et al. (2010) conduziram um estudo com 878 doadoras das raças Holandês, Gir, ½ Sangue e ¼ Gir-holandês em um programa comercial de PIVE. A média de ovócitos viáveis recuperados observada neste estudo foi superior em animais meio sangue ($24,3 \pm 4,7$) seguido de ¼ Holandês ($20,4 \pm 5,8$), Gir ($17,1 \pm 4,5$) e Holandês ($11,4 \pm 3,9$). A média de embriões por OPU também foi superior em animais meio sangue (5,5), seguidos por doadoras ¼ Holandês (3,9), cuja média foi semelhante as doadoras Gir (3,2). Por fim, doadoras Holandês apresentaram menor média de embriões/OPU (2,1) em relação aos demais grupamentos sanguíneos. Apesar dessas diferenças no número de embriões produzidos, as taxas de embrião e prenhez não diferiram entre as raças do estudo em questão.

Dados de um estudo realizado pelo Laboratório de Reprodução Animal da Universidade Federal do Espírito Santo (LRA-UFES) corroboram com os achados de Pontes e colaboradores (2010), com animais zebuínos apresentando melhor desempenho na PIVE quando comparados às fêmeas taurinas. Animais cruzados, provenientes do cruzamento destas duas raças, apresentaram resultados superiores ou semelhantes aos de seus progenitores. Neste estudo do LRA-UFES, foram acessados dados referentes a PIVE em doadoras das raças Gir (n=363), Holandês (n=109) e ½ sangue Gir-Holandês (n=145), sendo identificado que animais mestiços apresentavam maior média de ovócitos viáveis recuperados ($19,3 \pm 0,6$), seguidos de doadoras Gir ($14,9 \pm 0,2$) e Holandês ($9,0 \pm 0,4$). Por consequência, a média de embriões produzida por sessão de OPU seguiu este mesmo padrão, com animais cruzados Gir-Holandês apresentando maior produção de embriões ($4,7 \pm 0,2$) em relação as doadoras Gir ($4,0 \pm 0,1$) e holandesas ($1,9 \pm 0,1$). Neste mesmo estudo foi avaliada a taxa de prenhez de embriões provenientes de doadoras das três raças, não sendo encontrada diferenças nesta variável entre as raças.

É conhecido que animais taurinos e zebuínos apresentam particularidades em sua fisiologia reprodutiva no que diz respeito à concentração de hormônios circulante (BALDRIGHI et al., 2014; SALES et al., 2015), contagem de folículos antrais (BALDRIGHI et al., 2014; SILVA-SANTOS et al., 2014) e expressão de genes relacionados à competência ovocitária (LOPES et al., 2017; SALES et al., 2015; TICIANELLI et al., 2017). Essas diferenças podem influenciar na quantidade e qualidade dos ovócitos recuperados e produção de embriões (GIMENES et al., 2015; LACERDA, 2017; PONTES et al., 2010).

Em relação as doadoras de diferentes graus sanguíneos, provenientes do cruzamento de taurinos e zebuínos, tem apresentado um mercado promissor dentro da PIVE, possibilitando um novo mercado para outros graus de sangue, gerando animais mestiços com alta produção de leite, próximas às raças puras (VIANA et al., 2012). Além disso, como relatado anteriormente, animais meio-sangue apresentaram resultados na PIVE iguais ou superiores às raças puras. Acredita-se que o melhor desempenho numérico desses animais frente às raças puras seja promovido pela heterose (PONTES et al., 2010). A heterose, é o fenômeno pelo qual os filhos provenientes de cruzamentos apresentam melhor desempenho do que a média de seus pais, e será mais pronunciada, quanto maior a diferença genética entre as raças ou linhagens envolvidas no cruzamento (ELER, 2014). Desta forma, doadoras cruzadas, provenientes do cruzamento de animais puros, podem apresentar desempenho superior ao de seus progenitores.

O mesmo estudo realizado pelo LRA-UFES observou ainda, que apesar dos efeitos da raça da doadora sobre os resultados da PIVE, quando se tratava da raça do touro utilizada durante a FIV os resultados não apresentavam diferenças. Foram avaliadas as fecundações *in*

in vitro dos ovócitos de doadoras Gir, Holandês e mestiças com sêmen sexado de touros Gir (n=18) e Holandês (n=51). Foi identificado que a raça do touro não apresentou influência apenas no número de embriões produzidos a partir da fecundação de ovócitos de doadoras cruzadas, não sendo encontrado efeito da raça do touro na produção de embriões ou na taxa de prenhez gerada nos demais cruzamento (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito da raça do touro na média (erro médio do desvio) e porcentagem de embriões e prenhez utilizando ovócitos de doadoras de diferentes genótipos.

Doadora (n doadora/n OPU)	Touro (n)	Ovócitos viáveis (n)	Embrião		Prenhez aos 60 dias	
			\bar{x}	%	\bar{x}	%
Gir (363/2039)	Gir (13)	2621	3,7 ± 0,3	24,0	1,8 ± 0,2	42,1
	Holandês (43)	27640	4,1 ± 0,1	27,4	1,6 ± 0,04	37,4
Holandês (109/265)	Gir (7)	2000	1,9 ± 0,2	22,5	1,2 ± 0,1	35,0
	Holandês (4)	388	2,0 ± 0,5	14,8	1,2 ± 0,3	35,8
½ Holandês-Gir (145/462)	Gir (5)	577	4,2 ± 1,1 ^a	35,9	1,7 ± 0,6	31,2
	Holandês (28)	8351	4,8 ± 0,2 ^b	23,0	1,8 ± 0,1	36,4

As diferenças observadas nos resultados da PIVE em taurinos e zebuínos podem ser associadas à concentração circulante de insulina, fator de crescimento semelhante a insulina 1 (IGF-1) (ALVAREZ et al., 2000; SALES et al., 2015) e ainda, à concentração plasmática de hormônio anti-muleriano (AMH), que tem apresentado correlação positiva com a população folicular antral, mesmo que este não esteja relacionada à competência do ovócito (BALDRIGH et al., 2014; BATISTA et al. 2016; GUERREIRO et al., 2014).

Além disso, estudos mais recentes têm identificado diferenças na expressão de genes relacionados à competência ovocitária em COCs de taurinos e zebuínos. Estas diferenças contribuem com os resultados divergentes no emprego desta biotecnologia reprodutiva em doadoras *Bos taurus* e *Bos indicus*, com melhores resultados em zebuínos (LOPES et al., 2017; TICIANELLI et al., 2017).

4.1 EFEITO DA SAZONALIDADE NA PIVE

A zona de conforto térmico (ZCT) ou de termoneutralidade, compreende a faixa de temperatura e condições favoráveis para a correta funcionalidade do organismo, para que este expresse da melhor maneira seu potencial genético para a produção (BACCARI JÚNIOR, 1998). Os limites da ZCT são as temperaturas críticas inferior (TCI) e superior (TCS), sendo que fora deste intervalo, os animais encontram-se em estresse térmico. Tal situação culmina em modificações no consumo de água e alimento, no comportamento do animal e na função produtiva e reprodutiva do mesmo (AZEVEDO; ALVES, 2009). Por outro lado, dentro do conforto térmico, o custo fisiológico é manutenção, a retenção de energia da dieta é máxima, a temperatura corporal encontra-se dentro do esperado para a espécie, o consumo de alimento é normal e a produção é otimizada (BACCARI JÚNIOR, 1998).

Neste contexto, animais taurinos apresentam menor habilidade para regular a temperatura que zebuínos, devido às diferenças anatômicas e fisiológicas. As temperaturas de conforto térmico são inferiores para taurinos (-1 a 16°C) em relação aos zebuínos (10 a 27°C) (HANSEN, 2004) contribuindo para o estresse desses animais em climas tropicais como o do Brasil.

Animais de aptidão leiteira sob estresse térmico podem apresentar modificações na composição do leite, e em fatores relacionados à reprodução, tais como alterações na manifestação do cio e ter diminuição na fertilidade e o desempenho reprodutivo. Isto poderia afetar a qualidade dos oócitos colhidos para PIVE e, conseqüentemente comprometer a taxa de produção de embriões.

Em levantamento realizado entre 2015 e 2016 pelo LRA-UFES, em parceria com o Laboratório da Embriopéc Reprodução Bovina Ltda, foi identificado que o número de oócitos viáveis, e produção de embrião e prenhez utilizando doadoras Gir (n=341) ou Holandês (n=109) não sofreram efeito da estação do ano (Tabela 2). Possivelmente isto pode estar relacionado as condições de manejo em que estas doadoras estão submetidas, sendo mantidas em conforto térmico e suplementação alimentar de acordo com a necessidade de cada raça, mesmo em épocas do ano mais quentes ou de menor disponibilidade de forragem.

Tabela 2. Média (\pm erro médio do desvio) de ovócitos viáveis/OPU e média (\pm E. M. D) e porcentagem de embrião e prenhez por OPU em doadoras Gir e Holandês de acordo com a estação do ano.

Estação do ano	Raça (n=OPU)	Ovócitos viáveis	Embrião		Prenhez D60	
			\bar{x}	%	\bar{x}	%
Verão	Gir (n=515)	16,2 \pm 0,6	4,4 \pm 0,2	27,4	1,1 \pm 0,1	41,6
	Holandês (n=81)	9,2 \pm 0,7	1,7 \pm 0,2	18,7	0,4 \pm 0,2	36,6
Outono	Gir (n=318)	14,0 \pm 0,5	4,1 \pm 0,3	29,4	1,1 \pm 0,1	41,0
	Holandês (n=39)	8,1 \pm 1,0	1,9 \pm 0,4	22,9	0,8 \pm 0,3	48,6
Inverno	Gir (n=699)	14,2 \pm 0,5	3,7 \pm 0,2	26,1	1,1 \pm 0,1	37,0
	Holandês (n=98)	9,4 \pm 0,9	2,2 \pm 0,3	23,7	0,5 \pm 0,2	38,4
Primavera	Gir (n=300)	15,0 \pm 0,6	4,0 \pm 0,2	26,9	1,1 \pm 0,1	37,1
	Holandês (n=47)	8,7 \pm 1,0	1,7 \pm 0,3	19,5	0,5 \pm 0,2	28,8

Entretanto, os ovócitos submetidos ao estresse térmico durante a MIV demonstram que ovócitos submetidos à estresse térmico de temperatura a 41,5°C durante a MIV, são mais suscetíveis a apresentarem problemas em sua morfologia e maturação, do que aqueles maturados em condições de temperatura padrão de 38,5°C (ANDREU-VÁZQUEZ et al., 2010).

Em resposta ao estresse térmico, ocorre síntese das proteínas de choque térmico (HSPs), em especial a Hsp70.1, desempenhando função de proteger as células contra aos danos provocados pelo calor e evitando desnaturação proteica. Assim, por serem mais suscetíveis ao estresse por calor, ovócitos imaturos de doadoras Holandês apresentaram maior nível de expressão de Hsp 70.1 (1,82 \pm 0,22) em comparação aos ovócitos de Gir (1,12 \pm 0,11). Além disto, doadoras Gir tiveram maior taxa de clivagem em relação a doadoras Holandês (66,7 vs. 53,1%), maior porcentagem de embriões no estágio de 8-16 células (22,2 vs. 15,9%) e de blastocistos (19,6 vs. 10,8%), sendo que a taxa de prenhez foi semelhante (44,5 vs. 60%), respectivamente (CAMARGO et al., 2007).

Satrapa et al. (2011) avaliaram se a tolerância ao estresse térmico é devida à raça de origem do ovócito, do espermatozoide ou de ambos. Ovócitos coletados de vacas Nelore e

Holandês foram fecundados com sêmen de touros Nelore, Gir ou Holandês. Noventa e seis horas após a inseminação, embriões com mais de 16 células foram divididos em grupos controle, com os embriões cultivados a 39°C, e grupo sob estresse, com os embriões submetidos a 41°C por 12 horas. Os embriões submetidos ao estresse por calor, apresentaram diminuição nas taxas de formação de blastocisto para todos os cruzamentos (Nelore x Nelore; Holandês x Holandês; e Holandês x Gir). No entanto, o cruzamento entre doadora e touro Nelore apresentou maior taxa de clivagem quando comparado com cruzamento de doadora e touro Holandês. Com relação ao cruzamento das doadoras Holandês com touros de diferentes raças, a taxas de produção de embriões foram semelhantes, independente da raça do touro, mostrando que a raça de origem do ovócito teve maior influência que a do espermatozoide para o desenvolvimento da termotolerância.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção *in vitro* de embriões apresenta uma série de vantagens com relação a outras biotecnologias reprodutivas, o que proporcionou sua difusão e aplicação mundial com resultados satisfatórios.

Mesmo com todo o crescimento e posição de destaque no cenário mundial, ainda existem desafios a serem superados dentro da indústria de PIVE no Brasil, com melhores resultados para as raças taurinas. Estes avanços, conseqüentemente, abrirão novos mercados para esta biotecnologia.

6 REFERÊNCIAS

ALI, A.; FAHMY, S. Ultrasonographic fetometry and determination of fetal sex in buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Animal Reproduction Science**, v. 106, n. 1-2, p. 90-99, 2008.

ALVAREZ, P. et al. Ovarian and endocrine characteristics during an estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. **Journal of Animal Science**, v. 78, n. 5, p. 1291–1302, 2000.

ANDREU-VÁZQUEZ, C. et al. Does heat stress provoke the loss of a continuous layer of cortical granules beneath the plasma membrane during oocyte maturation? **Zygote**, v. 18, n. 4, p. 293–299, 2010.

AZEVEDO, D. M. M. R.; ALVES, A. A. **Bioclimatologia aplicada à produção de bovinos leiteiros nos trópicos**, Teresina, PI: Embrapa Meio-Norte, 2009. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/664507>>. Acesso em: 25 nov. 2018

BACCARI JÚNIOR, F. Manejo ambiental para produção de leite em climas quentes. In: Congresso Brasileiro de Biometeorologia, **Anais...** Goiânia, GO, 1998, p.136-161.

BALDRIGHI, J. M. et al. Anti-Mullerian hormone concentration and antral ovarian follicle population in Murrah heifers compared to Holstein and Gyr kept under the same management. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, v. 49, n. 6, p. 1015–1020, 2014.

BASTOS, M. R. et al. Ovarian function and circulating hormones in nonlactating Nelore versus Holstein cows. In: XXIV Reunião Anual da SBTE, **Anais...** Porto de Galinhas, PE: Acta Scientiae Veterinariae, 2010, p.776.

BATISTA, E. O. S. et al. Plasma anti-Mullerian hormone as a predictive endocrine marker to select *Bos taurus* (Holstein) and *Bos indicus* (Nelore) calves for *in vitro* embryo production. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 54, p. 1-9, 2016.

BLONDIN, P. et al. Analysis of bovine sexed sperm for IVF from sorting to the embryo. **Theriogenology**, v. 71, n. 1, p. 30-38, 2009.

BONI, R. Ovum pick-up in cattle: a 25 yr retrospective analysis. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 362-369, 2012.

BRACKETT, B. G. et al. Normal development following *in vitro* fertilization in the cow. **Biology of Reproduction**, v. 27, n. 1, p. 147-158, 1982.

BUTLER, W. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in *postpartum* dairy cows. **Livestock Production Science**, v. 83, n. 2-3, p. 211-218, 2003.

CAMARGO, L. S. A. et al. Developmental competence and expression of the Hsp 70.1 gene in oocytes obtained from *Bos indicus* and *Bos taurus* dairy cows in a tropical environment. **Theriogenology**, v. 68, n. 4, p. 626–632, 2007.

CARVALHO, J. O. et al. Quality assessment of bovine cryopreserved sperm after sexing by flow cytometry and their use *in vitro* embryo production. **Theriogenology**, v. 74, n. 9, p. 1521-1530, 2010.

DODE, M. A. N. Avanços na maturação ovocitária em bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, Supl. 1, p. 115-130, 2006.

DODE, M. A. N. et al. The effect of sperm preparation and co-incubation time on *in vitro* fertilization of *Bos indicus* oocytes. **Animal Reproduction Science**, v. 69, n. 1-2, p. 15-23, 2002.

ELER, J. P. **Teorias e métodos em melhoramento genético animal: III sistemas de acasalamento**. 2014. 39 p.

GATIUS, F. Is fertility declining in dairy cattle?: a retrospective study in northeastern Spain. **Theriogenology**, v. 60, n. 1, p. 89-99, 2003.

GIMENES, L. U. et al. The interval between the emergence of pharmacologically synchronized ovarian follicular waves and ovum pickup does not significantly affect *in vitro* embryo production in *Bos indicus*, *Bos taurus*, and *Bubalus bubalis*. **Theriogenology**, v. 83, n. 3, p. 385-393, 2015.

GONÇALVES, P. D.; DE FIGUEIREDO, J. R.; DE FIGUEIRÊDO FREITAS, V. **J. Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Editora Roca, 2008.

GOTTARDI, F. P.; MINGOTI, G. Z. Maturação de oócitos bovinos e influência na aquisição da competência para o desenvolvimento do embrião. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 33, n. 2, p. 82-94, 2009.

GUERREIRO, B. M. et al. Domestic animal endocrinology plasma anti-mullerian hormone : an endocrine marker for *in vitro* embryo production from *Bos taurus* and *Bos indicus* donors. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 49, p. 96–104, 2014.

HANSEN, P. J. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. **Animal Reproduction Science**, v. 83, p. 349–360, 2004.

LACERDA, I. P. **Efeito das raças *Bos taurus*, *Bos indicus* e *Bos taurus* x *Bos indicus* na produção *in vitro* de embriões em larga escala comercial**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2017.

LONERGAN, P. et al. Embryo development in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 270-277, 2016.

LOPES, A. C. et al. Differential expression of insulin-like growth factor family members in immature cumulus-oocyte complexes from dairy cows with different genotypes. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 52, p. 1067-1073, 2017.

MONTEIRO, F. M. et al. Beef donor cows with high number of retrieved COC produce more *in vitro* embryos compared with cows with low number of COC after repeated ovum pick-up sessions. **Theriogenology**, v. 90, p. 54-58, 2017.

MORTIMER, D.; MORTIMER, S. T. Methods of sperm preparation for assisted reproduction. **Annals of the Academy of Medicine, Singapore**, v. 21, n. 4, p. 517-524, 1992.

PARRISH, J. J. Bovine *in vitro* fertilization: *in vitro* oocyte maturation and sperm capacitation with heparin. **Theriogenology**, v. 81, n. 1, p. 67-73, 2014.

PARRISH, J. J.; KROGENAES, A.; SUSKO-PARRISH, J. L. Effect of bovine sperm separation by either swim-up or Percoll method on success of *in vitro* fertilization and early embryonic development. **Theriogenology**, v. 44, n. 6, p. 859-869, 1995.

PARRISH, J. J. et al. Bovine *in vitro* fertilization with frozen-thawed semen. **Theriogenology**, v. 25, n. 4, p. 591-600, 1986.

PONTES, J. H. F. et al. Large-scale *in vitro* embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus*, and *Indicus taurus* dairy cows using sexed sperm. **Theriogenology**, v. 74, n. 8, p. 1349–1355, 2010.

PRYCE, J. E. et al. Fertility in the high-producing dairy cow. **Livestock Production Science**, v. 86, n. 1-3, p. 125-135, 2004.

ROMANO, J. E. et al. Early pregnancy diagnosis by transrectal ultrasonography in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 66, n. 4, p. 1034-1041, 2006.

RUBIN, M. I. B. Twenty years history of the Brazilian embryo technology society (1985-2005). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, Suppl. 1, p. 35-54, 2005.

SALES, J. N. S. et al. Effects of a high-energy diet on oocyte quality and *in vitro* embryo production in *Bos indicus* and *Bos taurus* cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 5, p. 3086–3099, 2015.

SATRAPA, R. A. et al. Influence of sire breed (*Bos indicus* versus *Bos taurus*) and interval from slaughter to oocyte aspiration on heat stress tolerance of *in vitro*-produced bovine embryos. **Theriogenology**, v. 76, n. 6, p. 1162–1167, 2011.

SILVA-SANTOS, K. C. et al. Antral follicle populations and embryo production—*In vitro* and *In vivo*—of *Bos indicus*–*taurus* donors from weaning to yearling ages. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 49, n. 2, p. 228-232, 2014.

SIRARD, M. A. et al. Contribution of the oocyte to embryo quality. **Theriogenology**, v. 65, n. 1, p. 126-136, 2006.

SUTHAR, V. S.; SHAH, R. G. Bovine *in vitro* embryo production: an overview. **Veterinary world**, v. 2, n. 12, p. 478-479, 2009.

TANGHE, S. et al. Minireview: functions of the cumulus oophorus during oocyte maturation, ovulation, and fertilization. **Molecular reproduction and development**, v. 61, n. 3, p. 414-424, 2002.

TICIANELLI, J. S. et al. Gene expression profile in heat-shocked Holstein and Nelore oocytes and cumulus cells. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 29, n. 9, p. 1787–1802, 2017.

TRIGAL, B. et al. *In vitro* and *in vivo* quality of bovine embryos *in vitro* produced with sex-sorted sperm. **Theriogenology**, v. 78, n. 7, p. 1465-1475, 2012.

VIANA, J. H. M. et al. Features and perspectives of the Brazilian *in vitro* embryo industry. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 1, p. 12-18, 2012.

VIANA, J. H. M. et al. Caracterização de seqüelas subseqüentes à punção folicular em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 23, p. 119-124, 2003.

VIANA, H. M. V.; FIGUEIREDO, A. C. S. Produção de embriões bovinos em 2016: Fim de um ciclo? **Jornal O embrião**, v.60, p.6-11, 2017.

WALSH, S. W.; WILLIAMS, E. J.; EVANS, A. C. O. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 123, n. 3-4, p. 127-138, 2011.

XU, J. et al. Developmental potential of vitrified Holstein cattle embryos fertilized *in vitro* with sex-sorted sperm. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 7, p. 2510-2518, 2006.

ZOCCAL, R.; RENTERO, N. Ações e Tendências na Indústria de Laticínios. **Embrapa pecuária Sudeste-Outras publicações técnicas (INFOTECA-E)**, 2018.



Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-54343-22-4



9 788554 343224