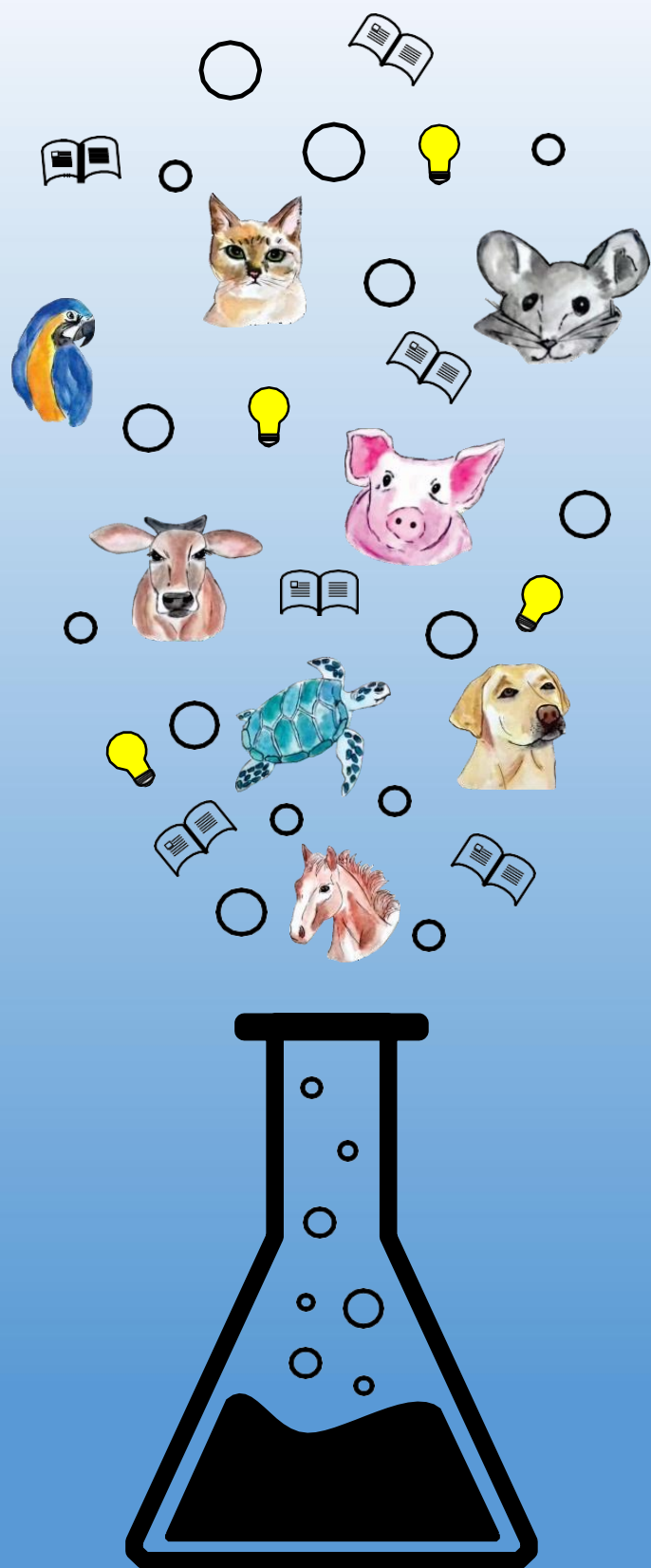




Tópicos Especiais em Ciência Animal XI



PPGCV

Programa de Pós-graduação
em Ciências Veterinárias
CCAe-UFES

ORGANIZADORES

Pedro Pierro Mendonça
Juliana Alves Resende
Maria Aparecida da Silva
Leonardo Demier Cardoso

PEDRO PIERRO MENDONÇA
JULIANA ALVES RESENDE
MARIA APARECIDA DA SILVA
LEONARDO DEMIER CARDOSO

(ORGANIZADORES)

TÓPICOS ESPECIAIS EM CIÊNCIA ANIMAL XI

1ª EDIÇÃO

ALEGRE
CAUFES
2022

CCAUE-UFES

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

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

Telefone: (28) 3552-8955

www.alegre.ufes.br/ccae

ISBN: 978-65-86981-36-0

Editor: CAUFES

Dezembro 2022

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

T674 Tópicos Especiais em Ciência Animal XI [recurso eletrônico] /
 Pedro Pierro Mendonça... [et al], organizadores. - Dados eletrônicos.
 Alegre, ES : CAUFES, 2022.
 412 p. : il.

Inclui bibliografia.

ISBN: 978-65-86981-36-0

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. Medicina veterinária. 2. Zootecnia. 3. Nutrição Animal. 4. Farmácia. 5.
Diagnóstico. I. Mendonça, Pedro Pierro, 1980 - .

CDU: 619

Elaborado por Samantha Alves Rodrigues dos Santos – CRB-6 ES-000959/O

Os textos apresentados nesta 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

PAULO SÉRGIO DE PAULA VARGAS

DIRETORA DO CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS – UFES

LOUISIANE DE CARVALHO NUNES

COORDENADOR - PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

JANAINA CECÍLIA OLIVEIRA VILLANOVA

ORGANIZADORES DESTA OBRA

PEDRO PIERRO MENDONÇA

JULIANA ALVES RESENDE

MARIA APARECIDA DA SILVA

LEONARDO DEMIER CARDOSO

ILUSTRADOR DA CAPA E CONTRACAPA

MARIETA CRISTINA COUTO KUST

LEONARDO DEMIER CARDOSO

APRESENTAÇÃO

Em 2022 apresentamos o 11º e-Book “TÓPICOS ESPECIAIS EM CIÊNCIA ANIMAL – TECA”, uma coletânea de textos de revisão da literatura realizados por docentes e discentes do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da UFES, que contam ou não com a participação de colaboradores externos ao programa e à Instituição. Os assuntos abordados são atuais e relevantes e abrangem desde temas da área regulatória até o desenvolvimento de produtos, processos e serviços de interesse veterinário, relacionados às áreas de nutrição animal, preservação de animais silvestres, produção e sanidade animal, epidemiologia, doenças infecto-parasitárias, saúde única, prospecção de insumos farmacêuticos ativos de origem vegetal, sintéticos e biotecnológicos, bem como o delineamento de produtos farmacêuticos de uso veterinário. Temas envolvendo empreendedorismo e inovação tecnológica na área veterinária também são abrangidos. Além de contribuir para a formação discente, no que diz respeito ao desenvolvimento de habilidades de leitura crítica e escrita, a elaboração do TECA oportuniza a disponibilização de conteúdos de cunho didático, científico e técnico, de livre consulta, para toda a comunidade acadêmica interna e externa ao programa, favorecendo o acesso à textos de elevada qualidade, após criteriosa revisão pelos editores. É, com certeza, mais uma referência na área de Ciências Veterinárias e áreas afins, que vale a pena ser consultada. O uso de textos e figuras do TECA é livre, desde que respeitados os direitos dos autores a terem os devidos créditos. Boa leitura!

Janaina Cecília Oliveira Villanova
Coordenadora em exercício
PPGCV – CCAE/UFES

LISTA DE AUTORES

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

Amanda Azevedo Assis. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: amanda.assis@gmail.com

Amanda Figueiredo Martins de Almeida. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: amanda.m.almeida@edu.ufes.br

Amanda Moura Bicalho. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: amanda.bicalho@edu.ufes.br

Amanda Soares dos Santos. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: amandasoaresds@gmail.com

Ana Clara Nunes Boechat. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: acbn274@gmail.com

Ana Flávia Ferreira Selva. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: aflavia44@hotmail.com

Andressa Brito Damaceno. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: andressa.damaceno@edu.ufes.br

Carlos Alberto Moreira Junior. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: carlosamj_moreira@outlook.com

Daniele Ingrid Moreira Damásio. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: danieleingrid09@gmail.com

Débora Cantarin Neiva. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: deboranei97@gmail.com

Ellen Abreu Fonte Boa. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: ellenabreu@gmail.com

Emerson Alex Oliveira Souza. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: emersonsouza.medvet@gmail.com

Erivelto Oliveira de Souza. Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: velto3032@gmail.com

Ester da Fonseca Lucas. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: ester.lucas@edu.ufes.br

Fábio Demolinari de Miranda. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: fademolinari@gmail.com

Fábulo Junior Nogueira Fernandes. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: fabulojunior@gmail.com

Felipe Ruas. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: felipelruas@hotmail.com

Geanne Aparecida de Paula. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: geannerabello@hotmail.com

Henrique David Lavander. Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: henrique.lavander@ifes.edu.br

Henrique Jordem Venial. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: henriquevenial@hotmail.com

Hillary Ignez Belfi Rosa. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: hillary.rosa@edu.ufes.br

Isabella Villhena Freire Martins. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: isabella.martins@ufes.br

Janaina Cecília Oliveira Villanova. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: pharmacotecnica@yahoo.com.br

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

Jessica da Paschoa Penzuti Scardini. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: jessica.scardini@edu.ufes.br

João Victor Andrade. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: joao.andrade.75@edu.ufes.br

Jorge Luiz Rizzo Gervais. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: jorluiz1998@gmail.com

José Geraldo de Vargas Júnior. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: josegeraldovargas@yahoo.com.br

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

Juliana Alves Resende. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: juliana.resende@ufes.br

Kássia Vidal Menezes. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: kassiavidal@hotmail.com

Lais Sperandio Cassani. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: lais.spcassani@gmail.com

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

Letycia Fernandes Franklin Avila. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: letyciaffavila@gmail.com

Ligiane de Oliveira Leme. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: ligileme@gmail.com

Louisiane de Carvalho Nunes. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: louisiane.nunes@ufes.br

Luan Rezende Peccini. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: luan.peccini@gmail.com

Lucas Henrique Cortat. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: lucascortat@gmail.com

Luisa Demoner Vicentini. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: luisademoner@hotmail.com

Lukas Souza Felisberto. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: lukas.souza07@hormail.com

Marcela Pires de Oliveira. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: marcelapires04@gmail.com

Marcelo Henrique Otênio. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, e-mail: marcelo.otenio@embrapa.br

Márcio Phillip Andrade Correia. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: phillipandrader@outlook.com

Marco Túlio Costa Almeida. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: marco.t.almeida@ufes.br

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

Margot Alves Nunes Dode. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, e-mail: margot.dode@gmail.com

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

Maria Eduarda da Rocha Souza. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: maria.er.souza@edu.ufes.br

Mariana Belizario de Oliveira. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: belizmary@hotmail.com

Mariana de Oliveira Lima. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: marianadeoliveiralima@outlook.com.br

Mariana Drummond Costa Ignacchiti. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mariana.ignacchiti@ufes.br

Mário Ferreira Conceição Santos. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mario.f.santos@ufes.br

Matheus Joaquim dos Santos Candido. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mcandido0352@gmail.com

Mayara Correa Dias de Souza Bernabe. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mayaracorreadias@gmail.com

Michele Ricieri Bastos. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: michelericieribastos@gmail.com

Natânia do Carmo Sperandio. Universidade Federal de Viçosa, e-mail: natania.sperandio@ufv.br

Nayhara Madeira Guimarães. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: nayhara.mg2@gmail.com

Nicolly Soares Ferreira. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: ni.colly_ferreira@hotmail.com

Otavio Pereira de Oliveira. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: otavio.p.oliveira@edu.ufes.br

Paola de Oliveira Santos. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: posantosaquaculture@gmail.com

Pedro Pierro Mendonça. Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: ppmendonca@ifes.edu.br

Poliana da Silva Rocha. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: poliana.s.rocha@edu.ufes.br

Poliana Demuner Pereira. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: demuner.poliana@gmail.com

Priscilla Cortizo Costa Pierro. Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: pricortizo@gmail.com

Rafael Otaviano do Rego. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: rafael.rego@ufes.br

Raphael Pires Bolzan. Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: rpbolzan@ifes.edu.br

Rita Cristina Gonçalves de Melo. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: rita07melo@gmail.com

Roberta Tristão Pinto. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: roberta_tristao@hotmail.com

Rodrigo Giesta Figueiredo. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: rodrigo.figueiredo@ufes.br

Rudierly Lauson de Paula Reis. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: rudierly.reis@edu.ufes.br

Saulo Abreu Almeida da Silva. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: sauloabreu1995@gmail.com

Shamara Silva Bulhões. Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: shamarabulhoes@gmail.com

Sthefany Brito Salomão. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: sthefanybritosalomao@gmail.com

Thaís Gonçalves Tavares. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: thastavares@yahoo.com.br

Thalia Cipriano da Silva. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: thalia.cipriano.16@outlook.com

Théo Matos Arantes Moraes. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: theomamoraes@gmail.com

Thiago Queiroz Pereira. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: thiagoqueirozmedvet@gmail.com

Vagner Tebaldi de Queiroz. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: vagner.queiroz@ufes.br

Vanessa Cola Thomazini. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: vanessathomazini01@gmail.com

Vitor José da Silva Pereira. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: vitorjosespereira@gmail.com

Walter Cesar Celeri Bigui. Universidade Federal de Espírito Santo, e-mail: walter.bigui@edu.ufes.br

Wanderson Lopes Andrade. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: wanderson.andrade@hotmail.com.br

Yasmini da Silva Schunk. Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: yasmini.schunk@edu.ufes.br

Ygor Henrique da Silva. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e-mail: yhenrique@ufrj.br

SUMÁRIO

Capítulo 1 -	Risco do uso de efluentes da biodigestão anaeróbia como biofertilizante.....	11
Capítulo 2 -	Ecosistema cutâneo canino: descrição da micobiota residente e o papel das espécies de <i>Candida</i> no processo saúde-doença	29
Capítulo 3 -	O papel da educação na prevenção das parasitoses intestinais humanas.....	46
Capítulo 4 -	Tipos cercarianos de trematódeos digenéticos presentes em moluscos aquáticos dulcícolas no Brasil	62
Capítulo 5 -	Anatomia externa, alimentação e reprodução de camarões peneídeos.....	78
Capítulo 6 -	Répteis não-avianos: evolução, anatomofisiologia comparada e diagnóstico por imagem do sistema urinário	94
Capítulo 7 -	Produção de cordeiros saudáveis: manejo perinatal e neonatal em ovinos.....	112
Capítulo 8 -	Uso de probióticos em leitões: sucessão do microbioma intestinal, fisiologia e sistema imune	131
Capítulo 9 -	Mecanismos de ação e influência das enzimas na nutrição de peixes	147
Capítulo 10 -	Rações com aditivos enzimáticos para produção de peixes	164
Capítulo 11 -	Extrato pirolenhoso e outros aditivos em alimentação animal	181
Capítulo 12 -	Acará bandeira: características e manejos reprodutivos	199
Capítulo 13 -	Criopreservação de embriões bovinos produzidos <i>in vitro</i>	218
Capítulo 14 -	Lesões não neoplásicas em olhos de aves: enfoque nos sinais clínicos e na histopatologia	239
Capítulo 15 -	Principais enfermidades parasitárias, fúngicas e metabólicas observadas em codornas	258
Capítulo 16 -	<i>Trypanosoma cruzi</i> : contaminação de alimentos	279
Capítulo 17 -	Analgesia e anestesia epidural em equinos: alternativa para o controle da dor anogenital e osteomuscular por meio da analgesia locorregional	299
Capítulo 18 -	Aspectos gerais do uso de dexmedetomidina em cães	320
Capítulo 19 -	Atividade das lactonas macrocíclicas no controle de parasitos de animais.....	339
Capítulo 20 -	Produção de <i>fingerprints</i> químicos de extratos, resinas e óleos vegetais para o desenvolvimento de produtos veterinários	355
Capítulo 21 -	Tratamento com células tronco na medicina veterinária	374
Capítulo 22 -	Formas farmacêuticas convencionais e inovadoras destinadas à administração intramamária para tratamento da mastite bovina	392



Risco do uso de efluentes da biodigestão anaeróbia como biofertilizante

Kássia Vidal Menezes¹
Vitor José da Silva Pereira²

Nicolly Soares Ferreira³

Marcelo Henrique Otênio⁴

Mariana Drummond Costa Ignacchiti⁵

Juliana Alves Resende⁶

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

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

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

⁴ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, e-mail: marcelo.otenio@embrapa.br

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mariana.ignacchiti@ufes.br

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: juliana.resende@ufes.br

1 INTRODUÇÃO

Dentre os pilares econômicos do Brasil a bovinocultura leiteira destaca-se como uma das atividades mais proveitosas do setor pecuário e primordial para o crescimento do país, desenvolvida em grande extensão do território brasileiro, contempla a criação de gado bovino e a comercialização de seus produtos (BELONI *et al.*, 2020). De acordo com o IBGE (2021), no ano de 2020 o Brasil teve uma alta de 1,5% e marcou 218,2 milhões de cabeça de gado, mantendo o país como o segundo colocado no ranking de maiores rebanhos do mundo. Segundo Carvalho e Rocha (2021), a bovinocultura leiteira exerceu forte influência na expansão econômica no ano de 2020, no qual as importações atingiram 1,34 bilhão de litros, enquanto as exportações foram 100,65 milhões de litros de leite.

Uma das práticas adotadas para criação do gado leiteiro é o sistema de confinamento, pois permite maior controle das condições ambientais e do animal e com isso aumento da sua produtividade. Devido à crescente demanda da produção agropecuária, a deposição de dejetos provenientes dessa atividade pode ocorrer de forma exacerbada (SANTOS; NOGUEIRA, 2012). Vacas leiteiras adultas podem produzir 7-8% de seu peso corporal como esterco por dia, aproximadamente uma massa seca de 7,3 kg por animal por dia (FONT-PALMA, 2019). Esses resíduos são ricos em matéria orgânica e microrganismos potencialmente patogênicos, e o manejo inadequado pode levar a impactos ao meio ambiente (CHEW *et al.*, 2019).

Neste contexto torna-se imperativo a implementação de estratégias de tratamento e aplicação segura para os dejetos produzidos, uma alternativa viável é o emprego desses dejetos como biomassa de origem animal. O uso de biodigestores é ótima alternativa para a geração de energia sustentável que contribui para o gerenciamento dos resíduos animais (CHEN *et al.*, 2019; SUN *et al.*, 2020). Um biodigestor consiste em uma câmara hermética e impermeável no qual são depositadas as biomassas, sejam resíduos alimentares ou dejetos de animais, que passarão pelo processo de fermentação anaeróbica, ou seja, sem a presença de oxigênio livre, por determinado tempo de retenção. A esse processo bioquímico, denomina-se biodigestão anaeróbia, que resulta na formação de um produto gasoso (biogás) e um efluente, o digestato (biofertilizante) (SILVA; TREVISAN, 2019).

O biogás é uma mistura dos gases metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2), além do ácido sulfídrico (H_2S) e amônia (NH_3) em menores quantidades, provenientes da decomposição da biomassa pela ação de microrganismos fermentadores, este pode ser usado para geração de energia elétrica, térmica e mecânica. O biofertilizante é o resultante do mesmo processo,

possuidor de uma complexa composição de nutriente essencial (Nitrogênio/Fósforo e Potássio - NPK), que ao ser utilizado no solo propicia melhorias às propriedades físico-químicas e biológicas (GIONGO *et al.*, 2020; JESUS *et al.*, 2021; MENDONÇA *et al.*, 2017; RESENDE *et al.*, 2014). Assim, o processo de biodigestão anaeróbia busca minimizar os impactos ambientais gerados pela atividade pecuária leiteira, através da reciclagem da matéria orgânica e o uso deste biofertilizante como uma prática agrícola sustentável. Porém, esta prática suscita preocupações de saúde pública, devido a possíveis impactos ambientais e ecológicos, uma vez que o biofertilizante pode atuar como reservatório de bactérias potencialmente patogênicas e risco de disseminação dessas linhagens nos ecossistemas associados (CHEN *et al.*, 2019; SUN *et al.*, 2020).

Diante disso, o objetivo deste capítulo é descrever os principais microrganismos que podem estar presentes nos efluentes de biodigestores anaeróbios e o possível risco da persistência desta população microbiana no solo.

2 BIODIGESTÃO ANAERÓBIA: CARACTERÍSTICAS GERAIS

A biodigestão anaeróbia é um processo bioquímico natural que consiste na biodegradação da biomassa na ausência de oxigênio molecular livre. Este processo ocorre naturalmente no meio ambiente em condições anaeróbicas, no sistema digestivo de ruminantes, bem como em uma câmara hermeticamente fechada, o biodigestor. A biomassa é todo material que pode ser utilizado no biodigestor, como resíduos de produção animal (como esterco e urina), de produção vegetal (folhas, palhas, restos de cultura), de atividades humanas (fezes, urina, lixo doméstico) e resíduos industriais. Desta forma, a biodigestão pode ser utilizada para o tratamento de resíduos de origem orgânica, tanto na forma sólida quanto na líquida, no qual trata quantidades consideráveis de resíduos de forma eficiente, minimizando os impactos poluentes e os riscos sanitários advindos dos mesmos (GUERI; SOUZA; KUCZMAN, 2018; KOTHARI *et al.*, 2014; RAJENDRAN *et al.*, 2014).

Quando o ambiente anaeróbico se consolida dentro dos biodigestores, diferentes grupos de microrganismos agem sinergicamente para quebrar longas cadeias complexas de carbono em moléculas menores, convertendo-as em gás metano (CH₄) e dióxido de carbono (CO₂), resultando em um biogás com alto poder calorífico. O digestato resultante desse processo é denominado biofertilizante, um efluente líquido, estabilizado e rico em nitrogênio (N), potássio (K), fósforo (P) e enxofre (S) que pode ser empregado como fertilizante orgânico (GIONGO *et*

al., 2020). No Brasil, tanto a produção deste biogás, quanto dos biofertilizantes é favorecida pelas condições climáticas (MOURA *et al.*, 2017).

O processo de biodigestão anaeróbia é um processo metabólico ecologicamente balanceado, no qual uma associação de microrganismos opera simbioticamente em duas etapas (digestão ácida e digestão metanogênica), nas quais agem pelo menos três grupos fisiológicos de microrganismos: bactérias fermentativas (acidogênicas), bactérias sintróficas (acetogênicas) e microrganismos metanogênicos, com a finalidade de transformar material orgânico em dióxido de carbono e metano, além da produção do biofertilizante, por conseguinte (AMARAL; STEINMETZ; KUNZ, 2022; GUERI; SOUZA; KUCZMAN, 2018). Cada grupo possui funções específicas, operando em quatro estágios sequenciais: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese conforme pode ser observado na Figura 1.

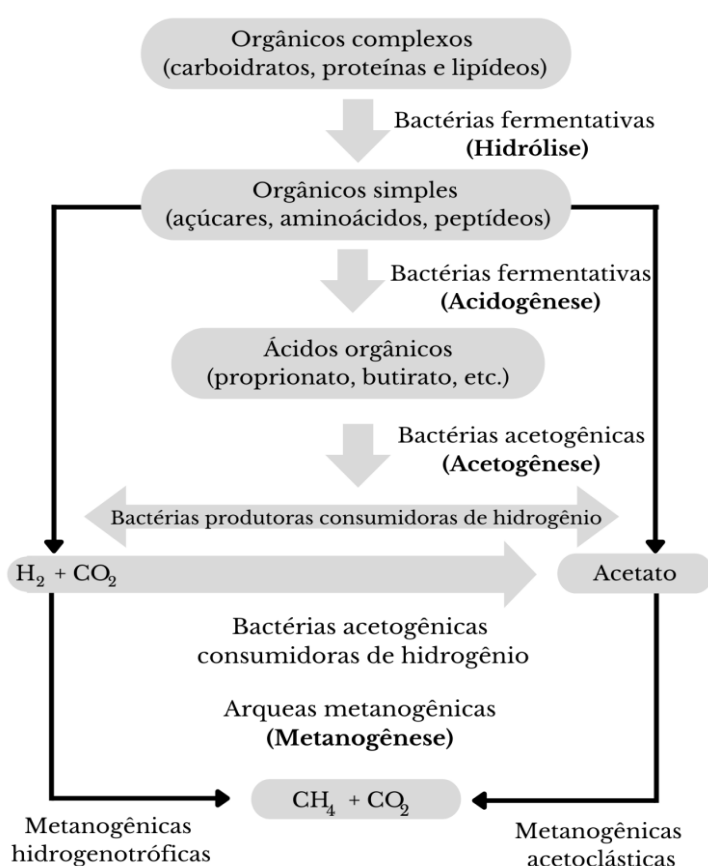


Figura 1 - Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos no processo de biodigestão anaeróbia.

Fonte: Adaptado de Chernicharo (2007).

Na hidrólise enzimática, as enzimas extracelulares excretadas pelas bactérias hidrolíticas fermentativas, degrada compostos de alta massa molecular como os lipídios, polissacarídeos e proteínas e os convertem, por meio da fermentação, em moléculas menores e

mais solúveis como açúcares, aminoácidos e peptídeos. A importância da etapa de hidrólise na velocidade de degradação é dependente da característica do substrato envolvido (GIONGO *et al.*, 2020). A hidrólise tem grande importância na velocidade global da degradação, especialmente quando a matéria orgânica empregada no biodigestor é de difícil decomposição. Devido a isso, a duração da etapa de hidrólise varia de acordo com as características do substrato, sendo de poucas horas para carboidratos até alguns dias para proteínas e lipídios, podendo então ser considerada como etapa limitante da velocidade da digestão anaeróbia. A biomassa rica em lipídios quando convertida produz mais metano do que a biomassa rica em carboidratos (ABUBAKAR, 2022; AMARAL; STEINMETZ; KUNZ, 2022).

As moléculas menores resultantes da hidrólise são metabolizadas por microrganismos acidogênicos, que metabolizam os produtos da hidrólise gerando ácidos orgânicos, como acético, propiônico, butírico, ácidos graxos de cadeia curta, álcoois, gás hidrogênio (H_2) e CO_2 (GIONGO *et al.*, 2020). A pressão parcial exercida pelas moléculas de hidrogênio durante o processo afeta diretamente o estado de oxidação dos produtos, ao passo que se estiver muito elevada, resultarão em produtos com maior quantidade de carbono (AMARAL; STEINMETZ; KUNZ, 2022).

Na fase da acetogênese, os microrganismos sintróficos (acetogênicos) convertem os compostos formados na fase acidogênica, como os ácidos e álcoois, em ácidos fórmico e acético, CO_2 e H_2 , que serão consumidos pelas bactérias metanogênicas. Desta forma, as bactérias acetogênicas fazem parte de um grupo metabólico intermediário que produz substrato para microrganismos metanogênicos sendo fundamental para assegurar um melhor desempenho para o processo (BELONI *et al.*, 2020; CHERNICHARO, 2007; GUERI; SOUZA; KUCZMAN, 2018).

A metanogênese é realizada pelos microrganismos metanogênicos, como a fase final do processo de conversão anaeróbia de compostos orgânicos em CH_4 e CO_2 . Sendo as metanogênicas classificadas de acordo com suas vias metabólicas em acetoclásticas e hidrogenotróficas. As arqueas metanogênicas acetoclásticas convertem acetato a metano, e as arqueas metanogênicas hidrogenotróficas convertem hidrogênio e dióxido de carbono para produção de metano (AMARAL; STEINMETZ; KUNZ, 2022).

O desequilíbrio da população bacteriana pode comprometer o resultado do processo de metanogênese, e conseqüentemente leva a interrupção da produção de CH_4 . Em condições favoráveis, os ácidos graxos voláteis são consumidos logo após serem formados e, portanto, não se acumulam no sistema e o pH permanece neutro. As arqueas metanogênicas acetoclásticas

são mais sensíveis às mudanças de pH e elevadas concentrações de amônia, a qual é característica de substratos agropecuários, podendo implicar no predomínio das arqueas metanogênicas hidrogenotróficas. Na ausência das metanogênicas acetoclásticas, o acetato produzido durante a biodigestão é oxidado pelas bactérias homoacetogênicas produzindo CO₂ e H₂, os quais são utilizados como substrato pelas arqueas metanogênicas hidrogenotróficas, produzindo metano (AMARAL; STEINMETZ; KUNZ, 2022; GIONGO *et al.*, 2020; GUERI; SOUZA; KUCZMAN, 2018).

Ainda no processo de biodigestão anaeróbia, pode ocorrer a sulfetogênese, que é a etapa de redução de sulfatos na degradação em substratos ricos em proteínas. Quando as bactérias redutoras de sulfato utilizam cadeia de ácidos graxos voláteis, hidrogênio, alcoóis, açúcares, aminoácidos e acetato para o seu metabolismo, estas competem por substrato com as acetogênicas e metanogênicas, e perturbam a relação simbiótica que há entre esses microrganismos, produzindo menores teores de metano devido à perturbação da eficiência geral do processo (CHERNICHARO, 2007; GUERI; SOUZA; KUCZMAN, 2018).

Mudanças nas comunidades microbianas podem ocorrer devido a esgotamento de nutrientes, porém outros fatores como pH, temperatura e condições de funcionamento do biodigestor podem estar relacionados (KUMAR *et al.*, 2013). Os teores de sólidos totais e composição da biomassa permitem determinar o equilíbrio entre as comunidades microbianas presentes e as características dos componentes químicos, que potencializam o processo de fermentação e a produção do gás. Os teores de sólidos totais de um determinado substrato que apresentam valores superiores a 70% implicam em um maior potencial de geração de biogás (PENTEADO *et al.*, 2021).

Com relação ao pH e temperatura, o pH altera o processo de biodigestão de duas formas; diretamente, afetando a atividade enzimática e estruturas das proteínas, ou indiretamente, alterando a integridade dos microrganismos envolvidos no processo. O pH ótimo para que ocorra o processo em condições ótimas depende do tipo de microrganismo envolvido na biodigestão, bem como o tipo de substrato empregado (CHERNICHARO, 2007). A temperatura é um importante fator, pois influencia a cinética do metabolismo sintrófico, proporcionando atividade ideal para enzimas e coenzimas fornecerem efeito na pressão parcial de hidrogênio no interior do biodigestor para a produção de metano (AMARAL; STEINMETZ; KUNZ, 2022).

3 EFLUENTE DA BIODIGESTÃO ANAERÓBIA: BIOFERTILIZANTE

O biofertilizante é o efluente proveniente do processo de biodigestão anaeróbia. Possui características de ser um líquido de baixa turbidez e, que apresenta complexa composição de nutrientes essenciais na nutrição vegetal, o que lhe confere características desejáveis quando aplicados ao solo (KEFALEW; LAMI, 2021).

Para utilização adequada do biofertilizante é necessário conhecer a composição física, química e biológica do material biodegradado, para que o mesmo possa ser utilizado de forma segura (MATOS *et al.*, 2017). O efluente é rico em macro e micronutrientes como nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), manganês (Mn), ferro (Fe) e zinco (Zn), e a disponibilidade desses nutrientes são conhecidas por propiciar melhorias a fertilidade/correção do solo favorecendo a absorção desses compostos pelas plantas (MUKHUBA *et al.*, 2018).

A qualidade do biofertilizante é determinada pela quantidade de matéria orgânica e inorgânica contida nos substratos. Os microrganismos anaeróbios consomem somente a matéria orgânica no processo de biodigestão. A matéria inorgânica, como o nitrogênio, fica disponível no biodigestor, e é convertida em amônio e nitratos, que permanecem no biodigestor até o final no processo de biodigestão. Logo, o biofertilizante apresenta amônio e compostos nitrogenados diretamente disponíveis propiciando um melhor índice de fixação do nitrogênio por alguns microrganismos do solo e nutrientes solubilizados para absorção pelas plantas (MUKHUBA *et al.*, 2018).

A aplicação de biofertilizante nas terras agrícolas além de aumentar o nível de matéria orgânica do solo, também pode destinar de forma mais adequada os resíduos da produção agropecuária e reduzir as despesas dos agricultores com fertilizantes químicos, que remete a uma prática sustentável na produção agrícola. Os biofertilizantes têm potencial para elevar o rendimento da cultura de 15% para 25% quando comparados ao emprego dos fertilizantes convencionais (KEFALEW; LAMI, 2021).

Um estudo de Silva e Alves (2019) indicou que o biofertilizante produzido na biodigestão anaeróbia, oriundo de dejetos bovinos apresentou teor de matéria orgânica (3%) e matéria seca (6,5%) ideal para a aplicação em diversos cultivos. Segundo os autores, esta porcentagem irá liberar de forma gradual os nutrientes essenciais para a planta e propiciar solo adequado para produção agrícola. Ainda, Mendonça, Ometto e Otênio (2017), ressaltam que o efluente final tratado proveniente da biodigestão anaeróbia de dejetos bovinos, apresentou

concentrações residuais de matéria orgânica e nutrientes que podem ser utilizados como biofertilizante na agricultura, evitando a depreciação dos recursos hídricos no meio rural.

Veroneze *et al.* (2019) mostram que o biofertilizante proveniente da codigestão de esterco suíno e glicerina, apresentou-se como boa alternativa para a adubação das plantas, com fornecimento bastante significativo de micronutrientes como Cobre (Cu), Zn, Fe e Mn.

Segundo Matos *et al.* (2017), o biofertilizante produzido na biodigestão anaeróbia de dejetos de bovinos leiteiros manejados sob sistema orgânico (DBSO) livre em pastagens, apresenta maior potencial de uso como adubo orgânico nas culturas, quando comparados com biofertilizantes provenientes de dejetos bovinos leiteiros manejados sob sistema convencional (DBSC) de criação em confinamento. No DBSC, a alimentação era suplementada com ração comercial com 20% de proteína bruta, visto que, no DBSO, a alimentação fornecida aos animais era derivada da produção orgânica, com isso, dejetos provindos do DBSO apresentaram menor condutividade elétrica, menor teor de sódio (Na) e elementos como macro e micronutrientes avaliados mostraram-se dentro dos níveis permitidos pela legislação brasileira sob resolução nº 375/06 - CONAMA.

É importante destacar que a utilização dos efluentes da biodigestão anaeróbia como biofertilizante em áreas agrícolas somente serão adequados e/ou aceitos se a segurança sanitária for garantida. De modo geral, a aplicação de biofertilizante deve seguir os estabelecidos princípios fundamentais de manejo de fertilizantes e de fertilidade do solo, para redução significativa de patógenos, como a resolução nº 375/2006 do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Esta resolução assegura a aplicação do biofertilizante de digestão anaeróbia desde que este esteja em processamento por um período mínimo de 15 dias a 35-55°C ou de 60 dias a 20°C, seguido do procedimento de compostagem, após passar pelo processo de biodigestão, em que a biomassa atinja uma temperatura mínima de 40°C, durante pelo menos cinco dias, com a ocorrência de um pico de 55°C, ao longo de quatro horas sucessivas durante este período (BRASIL, 2006).

4 MICRORGANISMOS NO EFLUENTE DA BIODIGESTÃO ANAERÓBIA

Os biodigestores são abastecidos com os afluentes, providos de biomassa e consequentemente microrganismos essenciais para o processo de fermentação, que propicia a liberação de gases e a produção do biofertilizante, ao final do ciclo. Existem diferentes grupos

bacterianos envolvidos nos processos e essa diversidade depende basicamente do tipo de matéria orgânica adicionada ao digestor (SCHNÜRER; JARVIS, 2009).

Dejetos bovinos são reservatórios de enormes quantidades de microrganismos, com contagens totais viáveis na faixa de 10^8 a 10^{10} unidades formadoras de colônias por grama (UFG/g) (ISLAM *et al.*, 2019). Embora trabalhos relatem a diminuição das contagens de microrganismos pela biodigestão anaeróbica (MANYI-LOH *et al.*, 2014; PANDEY; SOUPIR, 2011), a eliminação das bactérias depende de vários fatores, como pH, temperatura, disponibilidade de nutrientes e também da sua quantidade inicial nos resíduos (ISLAM *et al.*, 2019; SAHLSTRÖM *et al.*, 2008).

Dotto e Wolff (2012) desenvolveram um biodigestor em escala experimental alimentado com esterco bovino. Neste modelo, observaram que as presenças de coliformes totais e fecais variaram em função da temperatura quando operados em períodos de verão e inverno. Segundo os autores, o esterco bovino apresentou bom desempenho como inóculo de microrganismos e matéria orgânica de partida do reator. Daniel (2015) também avaliou a diversidade bacteriana de afluentes e efluentes de um biodigestor em escala real alimentados com dejetos bovinos, e observou diminuição das contagens em todos os grupos microbianos avaliados, cocos Gram-positivos, bastonetes Gram-negativos fermentadores e não-fermentadores, entre as amostras dos efluentes. Ainda, uma revisão de Costa e Soto (2018) indica que a biodigestão anaeróbia pode reduzir de forma significativa o número de coliformes totais e de termotolerantes provenientes de dejetos suínos.

Vários trabalhos relatam a presença de microrganismos potencialmente patogênicos nos efluentes e suscitam discussões quanto ao risco de propagação destas linhagens bacterianas. Bagge, Sahlström e Albiñ (2005) mostraram a presença de bactérias como *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Clostridium* spp. e *Bacillus* spp. em efluentes de quatro biodigestores de escala real alimentados por dejetos animais durante um ano na Suécia.

Resende *et al.* (2015) isolaram 796 bactérias de afluentes e efluentes de biodigestores de escala laboratorial alimentados com dejetos bovinos no Brasil e observaram que *Enterococcus* e *Enterobacteriaceae* foram os microrganismos mais identificados nos efluentes dos biodigestores operados tanto no verão como no inverno. Entre os microrganismos não-fermentadores, observou-se a presença de *Alcaligenes faecalis*, *Pseudomonas* spp. e *Acinetobacter* spp. O estudo também identificou 136 bactérias anaeróbicas e os gêneros mais encontrados foram *Prevotella* e *Bacteroides*.

Orzi *et al.* (2015) no norte da Itália, avaliou 10 usinas de biogás em escala real e observou que patógenos (*Enterobacteriaceae*, *E. coli* e *Clostridium perfringens*), foram reduzidos no processo de biodigestão. Na França, Le Maréchal *et al.* (2019) avaliaram a ocorrência e as concentrações de bactérias esporulantes e não esporulante em efluentes de biodigestores alimentados com dejetos de animais. Autores citam que as bactérias formadoras de esporos (*Clostridium botulinum*, *Clostridioides difficile*, *C. perfringens*), assim como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. e *Enterococos*, têm a capacidade de persistir durante a digestão anaeróbica. As concentrações de *E. coli*, *Enterococos* e *Clostridium perfringens* nos efluentes variaram de 10^2 a 10^4 , 10^4 a 10^5 e $<10^3$ a 10^5 UFC/g, respectivamente. *Salmonella* e *C. difficile* foram detectados nos efluentes em concentrações de 10^2 UFC/g.

Pulami *et al.* (2020) realizou a pesquisa de *Acinetobacter baumannii* em afluentes e efluentes de 15 usinas de biogás alemãs. No total, 17 isolados foram cultivados e seis foram identificados como *A. baumannii*. Ainda neste estudo, foi realizada quantificação por metodologia independente de cultivo (reação em cadeia da polimerase - PCR em tempo real) e observou-se uma alta abundância de cópias do gene 16S rRNA de *Acinetobacter* spp. em amostras do afluente e efluente. Embora o número de cópias tenha sido significativamente reduzido nos efluentes, a concentração ainda estava em uma faixa alta.

Ogunkeyede *et al.* (2020) avaliaram efluentes de biodigestor alimentado com esterco bovino no Delta do Níger, e inúmeras bactérias patogênicas foram isoladas, como *Klebsiella* spp., *Staphylococcus* spp., *Acinetobacter* spp., *Edwardsiella* spp., e *Alcaligenes* spp. Este estudo mostra que os efluentes líquidos obtidos estão contaminados com patógenos, que podem impactar na população quando usado para fins agrícolas.

Em Bangladesh, Islam *et al.* (2019) coletaram amostras de efluentes de usinas de biogás e observaram a presença de *E. coli*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* spp. Segundo este estudo, embora as contagens dos patógenos bacterianos nos efluentes tenham sido reduzidas em comparação as amostras do afluente, a presença dessas bactérias pode implicar na transmissão às culturas fertilizadas. Ao considerar a utilização desses efluentes em solos onde cultivam verduras que serão consumidas na forma crua, como salada, cenoura, tomate e pepino, podem eventualmente chegar aos humanos e causar infecções alimentares. Além disso, este efluente pode ser conduzido à ambientes aquáticos como canais, rios e águas subterrâneas e contribuir para disseminação de patógenos.

Além do apresentado, uma preocupação quanto ao uso de dejetos de bovinos nos biodigestores é a presença de microrganismos resistentes aos antimicrobianos. Estes

microrganismos podem se disseminar no meio ambiente e representam riscos diretos e indiretos à saúde pública. O surgimento de resistência bacteriana aos antimicrobianos é inevitável, em virtude da evolução das espécies. No entanto, o uso excessivo e incorreto de antimicrobianos embalou o problema da resistência na medicina humana e animal, ao passo que o uso profilático e subterapêutico, contribuíram para o surgimento de bactérias resistentes em vários ecossistemas (ISKANDAR, 2020). Em afluentes de biodigestores quanto à disseminação dos resíduos de antimicrobianos, deve ser considerado que a maioria dos antimicrobianos e biocidas administrados na produção animal, para controle/prevenção de doenças, muitas vezes são excretados no ambiente inalterados ou apenas parcialmente metabolizados, o que favorece a persistência de microrganismos potencialmente patogênicos no ambiente (BELONI *et al.*, 2020).

Sun *et al.* (2020) ao avaliarem os efluentes de biodigestores em escala laboratorial alimentados com dejetos animais e resíduos alimentares na Suécia, observaram no total 30 espécies bacterianas diferentes, pertencentes a sete gêneros. Estes autores afirmam que a maioria dos microrganismos identificados são espécies comumente encontradas no solo (*Pseudomonas*, *Streptomyces* e *Stenotrophomonas*), algumas patogênicas, como *Bacillus cereus*. Todas as espécies isoladas eram resistentes a ampicilina e ceftazidima e segundo os autores, a resistência fenotípica observada estava de acordo com resultados anteriores de estudos metagenômicos.

Tong *et al.* (2016) demonstraram que o pré-tratamento de efluentes de entrada de biodigestores no formato ESD (*Egg-Shaped Digesters*) de uma estação municipal de tratamento de efluentes na China, utilizando a combinação de reatores de micro-ondas ácidos e alcalinos, pode reduzir eficientemente a concentração de bactérias resistentes, e a maioria das concentrações de genes de resistência a antibióticos (GRA). Durante o pré-tratamento dos reatores combinados, a abundância relativa total dos genes foi reduzida em 42,7%. Comparado com o efluente não pré-tratado, a digestão anaeróbia do efluente pré-tratado no reator de micro-ondas e no reator de micro-ondas alcalino apresentou eficiência de redução de bactérias resistentes e GRA relativamente melhor.

Barzallo-Bravo *et al.* (2019) observaram que os efluentes do biodigestor a partir de dejetos bovinos apresentaram quantidades apreciáveis de N, K, Ca, Mg, Na e fosfatos, porém com elevada presença de *E. coli*. O efluente do biodigestor foi tratado posteriormente por uma segunda fermentação inoculada com microrganismos como leveduras e as bactérias ácido-láticas; o pós-tratamento eliminou em 100% a presença de *E. coli*, tornando o biofertilizante

sem risco para a saúde humana, ao passo que proporciona o manejo de uma agricultura sustentável.

5 RISCO DA PREVALÊNCIA E PERSISTÊNCIA DOS MICRORGANISMOS NO SOLO

Conforme apresentado anteriormente, embora as bactérias potencialmente patogênicas, não sejam encontradas em grande número nos efluentes, podem representar risco para a saúde pública. A disseminação do efluente de biodigestor em áreas agrícolas pode causar sérios danos tanto em humanos quanto em animais de pastejo, pois, os patógenos podem permanecer viáveis no solo, ar, água e até mesmo em águas subterrâneas (ISLAM *et al.*, 2019). Vale destacar que a colonização destas bactérias veiculadas pelos efluentes sob plantações e solo é dependente de vários fatores ambientais, como disponibilidade de nutriente, flutuação de temperatura e umidade. Desta forma, as permanências destes microrganismos podem variar (SHILPI *et al.*, 2019).

Um exemplo marcante de doença de origem alimentar foi o surto de *E. coli* O104:H4 enterohemorrágica (EHEC) na Alemanha em maio de 2011. Através de estudos epidemiológicos e de vigilância alimentar, foi possível identificar que cerca de 3.800 pacientes foram infectados e sofreram de gastroenterite aguda ou síndrome hemolítico-urêmica após a ingestão de brotos de feno-grego irrigados com fertilizantes provenientes de biodigestores, sendo este sugerido como a fonte da ocorrência dessas infecções (ALTMANN *et al.*, 2011).

Segundo Nölvak *et al.* (2016) os GRAs direcionados (*sul1*, *tetA*, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{OXA2} e *qnrS*) codificam resistência a várias classes importantes de antibióticos usados em medicina veterinária, como sulfonamidas, tetraciclina, cefalosporinas, penicilinas e fluoroquinolonas, respectivamente. Ainda, os mesmos autores concluíram que a aplicação de esterco bovino e biofertilizante de dejetos bovinos foram fontes consideráveis de GRAs direcionados, especialmente *sul1*, bem como genes integron-integrase classe I e classe II; diante disso, observaram que a aplicação de biofertilizantes afetou significativamente toda a abundância da comunidade bacteriana no solo, bem como a abundância e proporções de GRAs.

Pu *et al.* (2018) demonstraram que a aplicação a longo prazo de biofertilizante de esterco suíno na agricultura contribuiu para a disseminação de bactérias resistentes e GRAs em solos. Os autores ressaltam que os genes de resistência à tetraciclina e macrolídeos, lincosamidas e streptogramina B (MLSB) diminuíram enquanto, genes de resistência a aminoglicosídeos, sulfa

e fluoroquinolona, cloranfenicol e anfenicol (FCA) aumentaram após o esterco passar pela biodigestão anaeróbia, exceto para genes de resistência a beta-lactâmicos e vancomicina. Portanto, segundo este autor, o biofertilizante também deve ser considerado como um importante reservatório de bactérias resistentes e GRAs.

Wang *et al.* (2022) observou a abundância de 12 GRAs típicos (dois genes de resistência β -lactâmicos: *blaOXA-1*, *culpa*; três genes de resistência a macrolídeos: *erm B*, *erm F*, *mefA*; dois genes de resistência à sulfonamida: *sul1*, *sul2*; cinco genes de resistência à tetraciclina: *tetM*, *tetO*, *tetQ*, *tetW*, *tetX*) em biofertilizantes de digestores anaeróbios de resíduos alimentares de escala real, aplicados ao solo de arrozais em Shandong, China. Neste estudo, a abundância de todos os genes monitorados diminuiu após o pré-tratamento hidrotérmico e tratamento de água subcrítica, no entanto, a abundância absoluta de GRAs no biofertilizante se recuperou significativamente. Ao comparar o processo de fermentação anaeróbica em escala real, o pré-tratamento de água subcrítica foi benéfico para a atenuação de GRA, e sua eficiência para remoção total de GRA monitorada chegou a 99,68%.

Lu *et al.* (2021) avaliou de forma abrangente a aplicação de biofertilizante de esterco bovino a longo prazo (8-18 anos) nas concentrações de antibióticos e na abundância de GRAs em solos agrícolas com diferentes propriedades da província de Zhejiang, China. A aplicação a longo prazo do biofertilizante aumentou as concentrações de dois resíduos de tetraciclina (oxitetraciclina e clortetraciclina), e aumentou em grande parte a abundância de GRAs em solos, especialmente aminoglicosídeos (*aadA-01*, *aadA2-01* e *aphA1*), sulfonamidas (*sul1* e *sul2*), tetraciclina (*tetG-01* e *tetQ*) e genes de resistência multidrogas (*qac* Δ^1). A pressão seletiva de tetraciclinas torna-se potencial contribuinte para o aumento da resistência antimicrobiana do solo, possivelmente através do enriquecimento de bactérias associadas ao GRA. Os autores demonstraram que embora a digestão anaeróbica de esterco animal possa reduzir os GRAs, o enriquecimento e a disseminação dos mesmos podem não ser efetivamente limitados em solos agrícolas, especialmente recebendo aplicação a longo prazo dos biofertilizantes.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O emprego da biodigestão anaeróbia como reciclagem do esterco animal é visto como uma forte opção para reutilizar com segurança os resíduos animais da pecuária ou convertê-los em subprodutos. Através deste processo, é possível controlar a liberação de poluentes ao ambiente visto que a decomposição da biomassa diminui a presença de microrganismos

patogênicos, reduz as cargas microbianas a níveis que os humanos podem lidar com segurança com riscos limitados à saúde, bem como auxilia na redução das emissões de gases de efeito estufa. Além da produção do biogás que promove a utilização de energia limpa, e o biofertilizante, ricos em nutrientes de alta qualidade para a correção do solo e pastagens, portanto, promove a ideia de reutilizar matéria-prima que seria descartada para aumentar a sustentabilidade do desenvolvimento.

O uso de biofertilizantes na agricultura surge como alternativa ao uso de fertilizantes químicos comerciais, com dois grandes benefícios que são a redução, tanto de impactos ambientais, quanto dos gastos com insumos importados, porém a utilização do biofertilizante no solo pode facilitar uma via importante de disseminação de microrganismos resistentes a antibióticos, genes de resistência bacteriana e patógenos prejudiciais à saúde, quando estes não são tratados corretamente.

Portanto, antes do emprego do biofertilizante no ambiente, faz-se necessário a caracterização microbiológica desse subproduto de modo que esteja apto a ser utilizado conforme as legislações pertinentes, visto que as propriedades químicas presentes no material tornam desejáveis à aplicação no solo. Destaca-se que além da deposição ao solo, componentes do biofertilizante podem ser conduzidos a ambientes aquáticos, e com isso, contribuir para disseminação de patógenos no meio ambiente.

7 AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo – FAPES, termo de outorga nº 428/2021- Edital FAPES nº 03/2021 – Universal e por meio do edital PDPG (Programa de Desenvolvimento da Pós-Graduação – PDPG) através do projeto “*Consolidação dos Programas de Pós-Graduação – parcerias estratégicas no estado na área de Ciências Agrárias do Estado do Espírito Santo – Medicina Veterinária*”, termo de outorga nº 137/2021.

8 REFERÊNCIAS

- ABUBAKAR, A. M. Biodigester and feedstock type: characteristic, selection, and global biogas production. **Journal of Engineering Research and Sciences**, v. 1, n. 3, p. 170-187, 2022.
- ALTMANN, M. *et al.* Timeliness of surveillance during outbreak of shiga toxin–producing *Escherichia coli* infection. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 10, p. 1906-1909, 2011.
- AMARAL, A. C.; STEINMETZ, R. L. R.; KUNZ, A. O. Processo da biodigestão - Capítulo I, In: KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, A. C. **Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato**. Concórdia: Sbera: Embrapa Suínos e Aves, 2022, p. 13–26.
- BAGGE, E.; SAHLSTRÖM, L.; ALBIHN, A. The effect of hygienic treatment on the microbial flora of biowaste at biogas plants. **Water Research**, v. 39, n. 20, p. 4879–4886, 2005.
- BARZALLO-BRAVO, L. A. *et al.* Bio-digestion and post-treatment of effluents by bio-fermentation, an opportunity for energy uses and generation of organic fertilizers from bovine manure. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, v. 8, n. 4, p. 431-438, 2019.
- BELONI, M. V. *et al.* Biodigestão anaeróbia: uma alternativa viável para a redução dos impactos causados pelos dejetos da pecuária leiteira. In: SILVA, M. A. da. *et al.* **Tópicos especiais em ciência animal IX**. 1 ed. Alegre: CAUFES, 2020, p. 386-404.
- BRASIL. Resolução CONAMA nº 375 de 28 de agosto de 2006. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 30 ago. 2006. Seção 1, p. 1-4.
- CARVALHO, G. R.; ROCHA, D. T. Anuário leite 2021: cresce a oferta de leite em tempos de pandemia. In: _____. MARTINS, P. C. *et al.* **Anuário leite 2021: Saúde única e total**. São Paulo: Texto Comunicação Corporativa, 2021. p.8-9. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1132875/anuario-leite-2021-saude-unica-e-total>>. Acesso em: 22 Abr. 2022.
- CHEN, Z. *et al.* Antibiotic resistance genes and bacterial communities in cornfield and pasture soils receiving swine and dairy manures. **Environmental Pollution**, v. 248, p. 947-957, 2019.
- CHERNICHARO, C. A. L. Biological wastewater treatment series: Anaerobic reactors. **International Water Associations' Publications**. v. 4, p. 1-190, 2007. Disponível em: <<https://limaens.páginas.ufsc.br/files/2020/09/volume-4.pdf>>. Acesso em: 24 de abr. 2022.
- CHEW, K. W. *et al.* Transformation of biomass waste into sustainable organic fertilizers. **Sustainability**, v. 11, n. 8, p. 1-19, 2019.
- COSTA, A. A.; SOTO, F. R. M. Tratamento do dejetos de suíno por biodigestão anaeróbia. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 11, n. 3, p. 801-823, 2018.

- DANIEL, T. R. **Avaliação dos afluentes e efluentes em sistemas de biodigestores em escala real para a produção de biogás e biofertilizante a partir de dejetos da pecuária leiteira**. 2015. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) – Programa de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2015.
- DOTTO, R. B.; WOLFF, D. B. Biodigestão e produção de biogás utilizando dejetos bovinos. **Disciplinarum Scientia**, v. 13, n. 1, p. 13-26, 2012.
- FONT-PALMA, C. Methods for the treatment of cattle manure—a review. **Journal of Carbon Research**, v. 5, n. 2, p. 20-27, 2019.
- GIONGO, A. *et al.* Microbial communities in anaerobic digesters change over time and sampling depth. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 51, n. 3, p. 1177-1190, 2020.
- GUERI, M. D.; SOUZA, S. N. M. de; KUCZMAN, O. Parâmetros operacionais do processo de digestão anaeróbia de resíduos alimentares: uma revisão. **Biofix Scientific Journal**, v. 3, n. 1, p. 17-25, 2018.
- IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Rebanho bovino cresce 1,5% e atinge 218,2 milhões de cabeças em 2020**. Brasília, 2021. Disponível em <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/31725-rebanho-bovino-cresce-1-5-e-atinge-218-2-milhoes-de-cabecas-em-2020>>. Acesso: 13 de junho de 2021.
- ISKANDAR, K. *et al.* Drivers of antibiotic resistance transmission in low- and middle-income countries from a “One Health” perspective - a review. **Antibiotics**, v. 9, n. 7, p. 372-395, 2020.
- ISLAM, M. *et al.* Microbial load in bio-slurry from different biogas plants in Bangladesh. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, v. 6, n. 3, p. 376-383, 2019.
- JESUS, R. H. G. *et al.* Biodigester location problems, its economic–environmental–social aspects and techniques: areas yet to be explored. **Energy Reports**, v. 7, p. 3998-4008, 2021.
- KEFALEW, T.; LAMI, M. Biogas and bio-fertilizer production potential of abattoir waste: implication in sustainable waste management in Shashemene city, Ethiopia. **Heliyon**, v. 7, n. 11, p. 1-9, 2021.
- KOTHARI, R. *et al.* Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy: an overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 39, p. 174-195, 2014.
- KUMAR, K. V. *et al.* A review on production of biogas, fundamentals, applications & its recent enhancing techniques. **Elixir Chemical Engineering**, v. 57, p. 14073-14079, 2013.
- LE MARÉCHAL, C. *et al.* Evaluation of the occurrence of sporulating and nonsporulating pathogenic bacteria in manure and in digestate of five agricultural biogas plants. **Microbiology Open**, v. 8, n. 10, p. 1-10, 2019.

LU, Y. *et al.* Long-term biogas slurry application increased antibiotics accumulation and antibiotic resistance genes (ARGs) spread in agricultural soils with different properties. **Science of the Total Environment**, v. 759, p. 143473-143485, 2021.

MANYI-LOH, C. E. *et al.* Inactivation of selected bacterial pathogens in dairy cattle manure by mesophilic anaerobic digestion (balloon type digester). **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 11, n. 7, p. 7184-7194, 2014.

MATOS, C. F. *et al.* Evaluation of the potential of use of bovine manure biofertilizer resulting from the management system of organic and conventional milk production. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 5, p. 1957-1969, 2017.

MENDONÇA, H. V. de *et al.* Bioenergy recovery from cattle wastewater in an UASB-AF hybrid reactor. **Water Science and Technology**, v. 76, n. 9, p. 2268-2279, 2017

MENDONÇA, H. V. de; OMETTO, J. P. H. B.; OTENIO, M. H. Production of energy and biofertilizer from cattle wastewater in farms with intensive cattle breeding. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 228, n. 2, p. 72-86, 2017.

MOURA, R. S. *et al.* Análise da viabilidade do uso de biodigestores em propriedades rurais. **ForScience**, v. 5, n. 3, p. 01-16, 2017.

MUKHUBA, M. *et al.* Comparative assessment of bio-fertiliser quality of cow dung and anaerobic digestion effluent. **Cogent Food & Agriculture**, v. 4, n. 1, p. 1435019-1435031, 2018.

NÖLVAK, H. *et al.* Inorganic and organic fertilizers impact the abundance and proportion of antibiotic resistance and integron-integrase genes in agricultural grassland soil. **Science of the Total Environment**, v. 562, p. 678-689, 2016.

OGUNKEYEDE, A. O. *et al.* Identification and morphology of pathogens in liquid effluent from a cow dung biodigester. **Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 3, p. 51–57, 2020.

ORZI, V. *et al.* The role of biological processes in reducing both odor impact and pathogen content during mesophilic anaerobic digestion. **Science of the Total Environment**, v. 526, p. 116-126, 2015.

PANDEY, P. K.; SOUPIR, M. L. *Escherichia coli* inactivation kinetics in anaerobic digestion of dairy manure under moderate, mesophilic and thermophilic temperatures. **AMB Express**, v. 1, n. 18, p. 1-10, 2011.

PENTEADO, M. C. *et al.* Potencial energético do biogás gerado a partir da biodigestão de resíduos do processamento industrial de erva-mate. **Revista Aidis de Ingeniería y Ciencias Ambientales: Investigación, Desarrollo y Práctica**, v. 14, n. 2, p. 767-785, 2021.

PU, C. *et al.* Impact of direct application of biogas slurry and residue in fields: in situ analysis of antibiotic resistance genes from pig manure to fields. **Journal of Hazardous Materials**, v. 344, p. 441–449. 2018.

- PULAMI, D. *et al.* *Acinetobacter baumannii* in manure and anaerobic digestates of German biogas plants. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 96, n. 10, p.1-20, 2020.
- RAJENDRAN, K. *et al.* Bioresource technology a novel process simulation model (PSM) for anaerobic digestion using Aspen Plus. **Bioresource Technology**, v.168, p.7-13, 2014.
- RESENDE, J. A. *et al.* Dejetos bovinos para produção de biogás e biofertilizante por biodigestão anaeróbica. **Embrapa Gado de Leite. Circular Técnica**, v. 110, p. 1-5, 2015.
- RESENDE, J. A. *et al.* Prevalence and persistence of potentially pathogenic and antibiotic resistant bacteria during anaerobic digestion treatment of cattle manure. **Bioresource Technology**, v. 153, p. 284-291, 2014.
- SAHLSTRÖM, L. *et al.* A laboratory study of survival of selected microorganisms after heat treatment of biowaste used in biogas plants. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 16, p. 7859–7865, 2008.
- SANTOS, I. A; NOGUEIRA, L. G. H. Estudo energético do esterco bovino: seu valor de substituição e impacto da biodigestão anaeróbia. **Revista Agroambiental**, v. 4, n.1, p. 41-49, 2012.
- SCHNÜRER, A; JARVIS, A. **Microbiological handbook for biogas plants**: Swedish Waste Management U2009:03. Swedish Gas Centre Report 207. Avfall Sverige, 2009. Disponível em: <http://www.emrg.it/Lezioni_Energia_Rinnovabile/Microbiological_handbook_for_biogas.pdf>. Acesso em: 13 jun. 2022.
- SHILPI, S. *et al.* Biofilm formation and survival of *Serratia fonticola*, *Klebsiella pneumoniae* and *Chryseobacterium jejuense* on tomato phylloplane. **Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science**, v. 42, n. 3, p. 1097-1110, 2019.
- SILVA, A. C. G.; TREVISAN, G. M. Processo de produção e aproveitamento energético do biogás: uma revisão dos sistemas e tecnologias existentes no mercado. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v. 10, n. 2, p. 197-210, 2019.
- SILVA, V. L.; ALVES, W. C. Análise físico-química de biofertilizante oriundo da decomposição anaeróbica de dejetos bovinos. **Gestão & Tecnologia**, v. 1, p. 1-11, 2019.
- SUN, H. *et al.* Isolation of antibiotic-resistant bacteria in biogas digestate and their susceptibility to antibiotics. **Environmental Pollution**, v. 266, p. 115-265, 2020.
- TONG, J. *et al.* Fate of antibiotic resistance bacteria and genes during enhanced anaerobic digestion of sewage sludge by microwave pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 217, p. 37-43, 2016.
- VERONEZE, M. L. *et al.* Production of biogas and biofertilizer using anaerobic reactors with swine manure and glycerin doses. **Journal of Cleaner Production**, v. 213, p. 176-184, 2019.
- WANG, P. *et al.* Characteristics of antibiotic resistance genes in full-scale anaerobic digesters of food waste and the effects of application of biogas slurry on soil antibiotic resistance genes. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 13, p. 18944-18954, 2022.



Ecossistema cutâneo canino: descrição da micobiota residente e o papel das espécies de *Candida* no processo saúde-doença

Nicolly Soares Ferreira ¹
Fábulo Junior Nogueira Fernandes ²
Kássia Vidal Menezes ³
Mariana Drummond Costa Ignacchiti ⁴
Juliana Alves Resende ⁵

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

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

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

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mariana.ignacchiti@ufes.br

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: juliana.resende@ufes.br

1 INTRODUÇÃO

A pele é um órgão de barreira vital que protege o ambiente interno do corpo das pressões ambientais externas, incluindo secura, extremos de temperatura, radiação UV, alérgenos, toxinas e microrganismos. Nos cães, como em todos os mamíferos, a pele é a primeira barreira entre o hospedeiro e as mudanças ambientais, podendo representar de 10 a 25% da massa corporal (GNAT *et al.*, 2021). Considerada um ecossistema, a pele é a base para as comunidades bacterianas e fúngica da microbiota residente. A microbiota da pele modula a resposta imune inata e previne a colonização por microrganismos potencialmente patogênicos (HOFFMANN *et al.*, 2014; HOFFMANN, 2017; KOBAYASHI; IMANISHI, 2021).

As doenças de pele são frequentemente caracterizadas por etiologia variada podendo ser agravada por quebra da integridade da barreira cutânea, exposição ambiental, prática inadequada de higiene, além de fatores genéticos e imunológicos do hospedeiro (ZHU *et al.*, 2018). Associado a isso, em muitas doenças da pele, ainda não está claro se são causadas por alterações na microbiota cutânea ou se essas alterações são resultado da própria doença da pele. Atualmente, é muito difícil discernir o papel da modificação da microbiota na fisiopatologia do que são consideradas doenças classicamente não infecciosas, como dermatite atópica e alergia (WEESE, 2013). A maioria dos dados disponíveis sobre alterações da microbiota da pele em doenças são obtidas de amostras humanas. As informações referentes a cães são limitadas e provém de estudos dependentes de cultura (GNAT *et al.*, 2021).

A diversidade de microrganismos da pele canina saudável é influenciada principalmente pela localização do corpo, raça, idade, ambiente e coabitação com outros animais (TANG *et al.*, 2020). As bactérias são os microrganismos mais abundantes da microbiota que vivem na superfície da pele, estudos dependentes de cultivo demonstram que a pele canina abriga menos de 350 bactérias/cm² em cães saudáveis (WEESE, 2013). Em quantidade reduzida, os fungos também têm sido caracterizados na pele de cães (CUSCÓ *et al.*, 2017).

Compreender melhor as populações fúngicas que habitam a pele dos cães pode responder à questão sobre os pontos de ruptura entre a colonização e a doença, revelar o papel destes microrganismos na patogênese, identificar melhores medidas de tratamento e profilaxia (HOFFMANN *et al.*, 2014). Neste contexto, o presente capítulo tem como objetivo descrever a microbiota fúngica (micobiota) dos cães, e como as espécies de *Candida* podem estar presentes nestes animais e estarem associadas no processo saúde-doença.

2 ECOSSISTEMA CUTÂNEO DOS CÃES

O ecossistema cutâneo é formado por microrganismos que desenvolvem uma espécie de barreira de proteção, mantendo o pH da pele em equilíbrio e prevenindo o surgimento de patógenos. Em comparação com os humanos, a pele dos cães é modificada em sua espessura e estrutura para se adaptarem as funções específicas. Entre as principais diferenças entre a pele dos cães e a dos humanos, é a cobertura por uma pelagem densa, que cresce em feixes variando em densidade e volume para cada raça. Com relação à espessura da epiderme, cães apresentam de 3-5 células, enquanto que humanos apresentam de 10-15 células. Nos animais, as glândulas apócrinas estão distribuídas por todo o corpo, enquanto as glândulas sudoríparas écrinas são encontradas apenas em seus pés. Eles também têm distribuição mais uniforme de suas glândulas sebáceas. Por fim, o valor do pH da pele dos cães é mais alcalino, com o pH entre 5,5 e 7,2. Conforme a região, valores mais elevados podem ser observados (6 e 9,5) (D'ANDREANO, 2020; MATOUSEK *et al.*, 2003).

Assim, de muitas maneiras, a pele representa um local inóspito para microrganismos, no entanto a pele abriga uma população microbiana grande e complexa, que é a microbiota residente. Esses microrganismos residentes vivem em uma relação simbiótica com seu hospedeiro, interagindo com as células e os receptores imunológicos para manter o equilíbrio. No entanto, um desequilíbrio dessa microbiota pode resultar em danos ao seu hospedeiro e a colonização por microrganismos potencialmente patógenos (CUSCÓ *et al.*, 2017; D'ANDREANO, 2020; KOBAYASHI; IMANISHI, 2021; MEASON-SMITH *et al.*, 2015).

O local da pele do animal também desempenha um papel na variabilidade e abundância de microrganismos que podem ser encontrados. Isso acontece devido a influência da microbiota de outro local do corpo, como a região perianal com a microbiota gastrointestinal ou a região rostral com a microbiota oral (CUSCÓ *et al.*, 2017). Além das características morfológicas e fisiológicas da pele, outros fatores podem ser responsáveis pelas diferenças na microbiota observada na pele canina e humana. Estes incluem diferenças entre o comportamento humano e animal, hábitos de higiene e quantidade de exposição ambiental. Cães são mais expostos a elementos externos devido à maior proximidade do solo e a comportamentos como rolar na grama e deitar no chão. O contato com o piso dentro de uma casa é outro tipo de exposição ambiental que provavelmente influencia a diversidade. Além disso, cães são banhados com menos frequência do que os humanos, o que poderia possibilitar a colonização de fungos mais

diversos (MEASON-SMITH *et al.*, 2015). Segundo Song *et al.* (2013), a coabitação com outras pessoas ou animais, também podem influenciar a microbiota cutânea.

Cuscó *et al.* (2017) analisaram a composição e variabilidade da microbiota em uma coorte de cães saudáveis de três raças puras, constatando que embora a região do corpo seja uma importante fonte de variabilidade para a composição e diversidade de microrganismos da superfície da pele, o indivíduo é o fator mais importante. A assinatura do microbioma individual é consequência dos efeitos do genótipo, fenótipo e ambiente do cão. Por exemplo, os cães adultos são relatados como tendo maior diversidade bacteriana na superfície da pele em comparação com os filhotes. Em relação aos efeitos do sexo, este estudo relatou diferenças taxonômicas entre machos e fêmeas adultos em determinadas regiões da pele, ou seja, abdômen, dorso e axila.

A compreensão da dinâmica, estrutura e função de uma população microbiana em um determinado hospedeiro requer métodos de estudos que podem ser desafiadores com ecossistemas microbianos grandes e complexos. Tradicionalmente, métodos dependentes de cultivo são empregados. No entanto, a cultura tem limitações significativas na determinação da microbiota geral devido à capacidade variável de cultivar diferentes microrganismos. Mesmo organismos que crescem nestes meios de cultura podem ser ignorados ou subestimados. Diante de tais limitações, métodos independentes de cultura, como sequenciamento gênico, permite que determinados locais possam ser mais bem explorados e leva a estimativas de diversidade e abundância de certas espécies ou grupos. Embora ainda propensa a alguns vieses, principalmente se forem usados métodos inadequados de controle de qualidade e limpeza de dados, essa abordagem está fornecendo uma nova visão sobre o conhecimento de microbiomas cutâneos (WEESE, 2013).

3 MICROBIOTA DA PELE DE CÃES

Alguns estudos relataram os principais gêneros de fungos presentes na microbiota residente de cães. No estudo de Torres *et al.* (2017) foi analisada uma coorte de 40 cães de raças e idade diferentes pertencentes a 20 domicílios, em três estações diferentes (primavera, verão e inverno), e compartilhando o ambiente. Os resultados obtidos através do sequenciamento genético confirmaram que a estação do ano, a região geográfica, as rotinas de limpeza do domicílio e o estilo de vida dos cães, afetam a microbiota cutânea. Curiosamente, a coabitação afeta a diversidade da microbiota da pele de cães e humanos, de forma que não apenas

proprietários e cães compartilham semelhanças, mas também a posse de cães aumenta a diversidade da microbiota da pele humana.

Meason-Smith *et al.* (2015), demonstraram por sequenciamento genético a caracterização da micobiota cutânea canina e disbiose fúngica na dermatite alérgica canina, foram avaliados 10 cães sem histórico de doenças de pele e 8 cães com alergias. Neste estudo, dois fatores foram relevantes: a influência do ambiente e do local do corpo do cão. O filo predominante de organismos fúngicos sequenciados da pele canina sadia foi Ascomycota seguido de Basidiomycota. A principal classe de Ascomycota foi Dothideomycetes e os gêneros mais abundantes dentro desta classe incluíram *Alternaria*, *Cladosporium* e *Epicoccum*. Os gêneros de Basidiomycota mais abundantes incluíram *Cryptococcus* e *Malassezia*.

Na tabela 1 é apresentado uma relação de trabalhos nos quais fungos foram descritos na microbiota cutânea de cães saudáveis, sendo isolados fungos filamentosos, bem como leveduriformes. É possível verificar que a micobiota da pele canina é muito diversificada. A maioria destes estudos realizou a identificação e isolamento fúngico através da metodologia dependente de cultivo (BENTUBO, GAMBALE, FISCHMAN, 2010; CABAÑES *et al.*, 1996; CLEFF *et al.*, 2007; MORIELLO, 2019). Entre os vários fungos incluídos existem gêneros caracterizados como microrganismos oportunistas. Mesmo que na maioria das vezes os oportunistas sejam inofensivos, sua virulência depende da eficiência do sistema imune do hospedeiro, do local de entrada para o patógeno, e se o animal foi submetido a procedimentos invasivos ou antibioticoterapia (GUPTA; GUPTA, 2017).

Tabela 1 - Principais gêneros de fungos que colonizam a pele de cães saudáveis.

Fungos	Local de isolamento no cão	Referências
<i>Aspergillus</i> spp.	Pelame, olhos, narinas, boca, ouvidos, ânus e genitais	Cabañes <i>et al.</i> (1996), Cleff <i>et al.</i> (2007) e D'Andreano (2020)
<i>Cladosporium</i> spp.	Pelame, olhos, narinas, boca, ouvidos, ânus e genitais	Cabañes <i>et al.</i> (1996) e Cleff <i>et al.</i> , (2007) e Meason-Smith <i>et al.</i> (2015)
<i>Candida</i> spp.	Pelame, olhos, narinas, boca, ouvidos, ânus e genitais	Bentubo, Gambale, Fischman, (2010) e Meason-Smith <i>et al.</i> (2015)
<i>Cryptococcus</i> spp.	Pelame, olhos, narinas, boca, ouvidos, ânus e genitais	Cleff <i>et al.</i> (2007) e Meason-Smith <i>et al.</i> (2015)
<i>Fusarium</i> spp.	Pelame, olhos, narinas, boca, ouvidos, ânus e genitais	Cabañes <i>et al.</i> (1996), Cleff <i>et al.</i> (2007) e Moriello, (2019)
<i>Geotrichum</i> spp.	Pelame, olhos, narinas, boca, ouvidos, ânus e genitais	Cleff <i>et al.</i> (2007) e Moriello, (2019)
<i>Malassezia</i> spp.	Pelame, olhos, narinas, boca, ouvidos, ânus e genitais	Cleff <i>et al.</i> (2007) e Meason-Smith <i>et al.</i> (2015)
<i>Microsporum</i> spp.	Pelame, olhos, narinas, boca, ouvidos, ânus e genitais	Cleff <i>et al.</i> (2007) e Moriello, (2019)
<i>Penicillium</i> spp.	Pelame, olhos, narinas, boca, ouvidos, ânus e genitais	Cabañes <i>et al.</i> (1996), Cleff <i>et al.</i> (2007) e Meason-Smith <i>et al.</i> (2015)
<i>Rhodotorula</i> spp.	Pelame, olhos, narinas, boca, ouvidos, ânus e genitais	Cleff <i>et al.</i> (2007) e D'Andreano, (2020)
<i>Scopulariopsis</i> spp.	Pelame, olhos, narinas, boca, ouvidos, ânus e genitais	Cabañes <i>et al.</i> (1996), Cleff <i>et al.</i> (2007) e Sri-Jayantha, Matthews, Scharf (2019)
<i>Trichophyton</i> spp.	Pelame, olhos, narinas, boca, ouvidos, ânus e genitais	Cabañes <i>et al.</i> (1996), Cleff <i>et al.</i> (2007) e Moriello, (2019)
<i>Trichosporon</i> spp.	Pelame, olhos, narinas, boca, ouvidos, ânus e genitais	Cleff <i>et al.</i> (2007) e D'Andreano, (2020)

Fonte: Os autores.

O estado de saúde também tem um efeito significativo na micobiota cutânea dos animais. Hoffmann *et al.* (2014) e Meason-Smith *et al.* (2015) descreveram que cães diagnosticados com doença de pele alérgica apresentam riqueza fúngica reduzida em comparação com cães saudáveis. Além disso, estes autores sugerem que a estabilidade da micobiota cutânea dentro de um cão é perturbada pela doença alérgica da pele, levando a alterações em locais distintos do corpo afetados pela doença.

Dworecka-Kaszak, Biegańska e Dąbrowska (2020) avaliaram os agentes etiológicos mais frequentes das doenças de pele em animais. Os resultados foram obtidos a partir da metodologia baseada em cultivo. Os fungos mais frequentemente isolados do grupo de animais com lesões de pele foram *Malassezia pachydermatis* (29,14%), *Candida* (27,07%), em 216 isolados (23,5%) dos casos foram diagnosticados dermatófitos (fungos filamentosos), incluindo *Microsporum canis* (59,25%), e gênero *Trichophyton* (40,75%). Entre os animais com otite externa, *M. pachydermatis* representou 80% dos isolados e em 19% dos positivos, o agente etiológico foi *Candida*, principalmente *Candida albicans*.

A variabilidade de aspectos externos que afetam a microbiota dos cães faz com que estudos diferem sobre alguns microrganismos descritos. Com relação a *Candida* existem estudos que questionam a presença de *Candida* como microrganismos da pele dos cães. Sihelská *et al.* (2017) descreveram através de um estudo dependente de cultivo, que espécies de *Candida* não são normalmente encontradas na pele de cães saudáveis. Ainda Lee *et al.* (2011) afirmaram que a presença de *Candida* nos cães é sempre expressão de um estado patológico. Enquanto que Bentubo, Gambale e Fischman (2010), concluiu que *C. albicans* compõem a microbiota do pelame de cães sadios jovens adultos, que vivem em regime domiciliar próximos aos proprietários, e que frequentam serviço de estética canina com regularidade. Neste trabalho, também dependente de cultivo, a levedura *C. albicans* foi isolada em 95,2% dos animais (20/21). No estudo não foi estabelecido qualquer relação entre levedura isolada, a raça ou o sexo do animal.

4 ESPÉCIES DE *Candida* NA MICROBIOTA CANINA

As leveduras do gênero *Candida* pertencem ao reino Fungi, divisão Eumycota, subdivisão Deuteromycotina, classe Blastomycetes, família Cryptococcacea (KUSHWAHA, 2020). Este gênero compreende cerca de 200 espécies, entretanto, pequenas porcentagens são descritas como patogênicas em seres vivos (GUPTA; GUPTA, 2017). Em relação a sua morfologia, macroscopicamente as colônias são caracterizadas por consistência cremosa, brilhantes ou opacas, com coloração branca a creme, todavia podem apresentar coloração em cor marfim ao vermelho (GORTHI, 2019). A nível microscópico, podem variar de 3 a 6 µm de diâmetro, como células simples, arredondadas, ovais ou alongadas, parede celular delgada, que comumente se multiplica por brotamento na região polar, de modo que a célula-mãe origina uma gêmula, o blastoconídio. Uma vez liberados, formam células independentes ou continuam

unidos, formando células alongadas, pseudo-hifas, que se diferenciam de células verdadeiras (hifas) por apresentarem constrições nos septos (GUPTA; GUPTA, 2017).

A relação entre presença de *Candida* spp. e a ocorrência de candidíase considera dois fatores importantes: fatores relacionados ao microrganismo e ao hospedeiro. Um desequilíbrio entre esses fatores está associado à patogenicidade de *Candida* spp. A virulência de uma espécie microbiana é uma medida do resultado das interações patógeno-hospedeiro, em vez de uma propriedade fixa dos microrganismos. Ao contrário de patógenos primários que não requerem um hospedeiro lesado para causar doença, patógenos oportunistas/facultativos como *Candida* spp. causam doenças principalmente em hospedeiros susceptíveis (neutropenia prolongada) e imunocomprometidos (CIUREA *et al.*, 2020; GUPTA; GUPTA, 2017) ou com fragilidade nas barreiras epiteliais (trauma pelo uso prolongado de cateteres venosos ou urinários, queimaduras, maceração, excesso de umidade). Ainda por fatores predisponentes podem-se citar as condições fisiológicas (animais jovens, prenhez), nutricionais, patológicas (doenças autoimunes, tumores, endocrinopatias, infecções e parasitoses recorrentes) e iatrogênicas (antineoplásicos, antibioticoterapia prolongada, fármacos imunossupressores) (MEGID; RIBEIRO; PAES, 2016)

A colonização por *Candida* é considerada um importante fator de risco para a ocorrência de infecções oportunistas, visto que o agente infeccioso está em contato direto com o hospedeiro eventualmente susceptível (SOUTO *et al.*, 2018). As estratégias utilizadas para combater os mecanismos naturais de defesa dos hospedeiros são altamente influenciadas pelo ambiente. A virulência não é uma propriedade constante, pois pode ser potencializada, perdida e até mesmo restaurada em diversas circunstâncias. *C. albicans* mostra grande versatilidade ao se transformar de um organismo comensal inofensivo em um patógeno (GORTHI, 2019).

Embora o gênero *Candida* compreenda mais de 200 espécies, poucas espécies foram isoladas como agentes causadores de infecção em humanos e animais. *C. albicans* é a causa mais comum de candidíase e por isso a mais extensivamente estudada (GNAT *et al.*, 2021; SINGH; TÓTH; GÁCSER, 2020). No entanto, outras espécies de *Candida*, ditas não-*albicans*, como *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida dubliniensis*, *Candida guilliermondii*, *Candida kefyr*, *Candida lusitanae*, *Candida famata* e *Candida rugosa*, também são isoladas, porém em menor frequência. (DEORUKHKAR; MATHEW; SAINI, 2014; PAL *et al.*, 2015). A crescente prevalência de infecções causadas por espécies de não-*albicans* representa uma séria ameaça devido ao fato de que muitas dessas

espécies apresentam resistência intrínseca ou adquirida aos antifúngicos comumente usados (SINGH; TÓTH; GÁCSEI, 2020).

A expressão de moléculas de superfície como as adesinas, a formação de biofilme, a secreção de enzimas hidrolíticas, a capacidade de alterar sua morfologia e sua adaptabilidade metabólica são considerados fatores de virulência importantes. Através de tais fatores de virulência, *Candida* spp. pode se adaptar rapidamente a diferentes nichos de hospedeiros e causar infecções em hospedeiros com fatores de risco, como antibioticoterapia prévia, neoplasias ou sistema imunológico comprometido (CIUREA *et al.*, 2020).

A presença de espécies de *Candida* como parte da microbiota residente de cães ainda suscita questionamentos. Souto *et al.* (2018) descrevem que leveduras do gênero *Candida* são agentes colonizadores e patógenos importantes, e não são habitualmente encontradas na microbiota residente da pele de cães. Ainda segundo este trabalho, estes microrganismos estão associados a amplo espectro de doenças superficiais e invasivas, inclusive em cães aparentemente saudáveis.

Um estudo sobre a diversidade de isolados de *C. albicans* de origem humana e animal demonstrou a existência de genótipos hospedeiro-específicos e linhagens espécie-específicas. Os autores ressaltam que os animais, principalmente os domésticos, podem atuar como reservatórios de *C. albicans* para humanos susceptíveis e que mantêm estreito contato com esses animais (EDELMANN; KRUGER; SCHMID, 2005).

Gupta e Gupta (2017) relata que *Candida* spp. podem ser isoladas dos canais auditivos, nariz, cavidade oral e ânus de cães clinicamente saudáveis, portanto, são consideradas comensais da mucosa canina. Cleff *et al.* (2005) descrevem que em cães, as leveduras do gênero *Candida* preferem áreas constantemente úmidas, que favorecem a maceração dos tecidos, como ocorre em mucosas, junções mucocutâneas, áreas intertriginosas, áreas interdigitais da subestrutura ungueal, condutos auditivos e face lateral da orelha e membrana do trato genital. Neste mesmo estudo, foram obtidas 224 amostras da mucosa vaginal de 14 fêmeas caninas. *Candida* spp. foi observada em 83 (37%) amostras, destas, *C. parapsilosis* foi a espécie isolada com maior frequência (21,7%), seguida de *C. guilliermondii* (8,4%), *C. kefir* (6%) e *C. albicans* (4,8%). O trabalho conclui que espécies de *Candida* spp. fazem parte da microbiota vaginal de fêmeas caninas híginas, e que o isolamento é influenciado pelo ciclo reprodutivo.

Navarro *et al.* (2020), coletaram 50 amostras de mucosa oral de cães sem raça definida de São Paulo, Brasil. Foram isoladas e identificadas, por método dependente de cultivo, 43 leveduras, destas, 86,1% eram *Candida* spp., 11,6% do gênero *Trichosporon* e apenas uma

linhagem (2,3%) pertencia ao gênero *Malassezia*. Este estudo ainda encontrou resistência de algumas leveduras à anfotericina B.

Brito (2008), utilizou método de cultivo para identificar espécies de leveduras em 203 cães saudáveis e determinar sua susceptibilidade antifúngica. Foram coletadas amostras da mucosa prepucial, vaginal, oral e perianal de cães saudáveis. Os isolados foram identificados de acordo com suas características morfológicas e perfil bioquímico, sendo *M. pachydermatis* a levedura mais comumente isolada, seguida por *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Rhodotorula* spp.

Santin *et al.* (2013) realizou análise clínica e micológica da cavidade oral de 59 cadelas saudáveis. As amostras foram obtidas da mucosa gengival, biofilme dental e sulco periodontal. A coleta do material foi feita por fricção com swab estéril ou raspagem por cureta estéril, e em seguida foi realizado o cultivo. Foram descritos 61 isolados de leveduras pertencentes aos gêneros *Malassezia* (50,8%), *Candida* (14,7%), *Trichosporon* (14,7%), *Rhodotorula* (13,1%) e *Cryptococcus* (6,6%). Destes cinco gêneros, onze espécies de leveduras foram identificadas: *M. pachydermatis*, *Rhodotorula* spp., *C. albicans*, *Candida catenulata*, *Candida famata*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *C. intermedia*, *Trichosporon asahii*, *Trichosporon mucoides* e *Cryptococcus albidus*. Os autores concluíram que as leveduras fazem parte da microbiota dos diferentes sítios da cavidade oral das cadelas estudadas sem causar alterações significativas.

As candidíases em animais não são muito descritas e, apesar do aumento na incidência e fatalidade de candidíase humana, os relatos em Medicina veterinária são escassos, sendo encontrados poucos casos na literatura envolvendo animais de companhia (SOUTO *et al.*, 2018). Os sítios anatômicos descritos na literatura como os mais acometidos são: pele, unhas, ouvido, trato urinário e sistema gastrointestinal (CIUREA *et al.*, 2020). Em casos de quadros cutâneos, este fato se justifica porque as lesões, na maioria das vezes são atribuídas a fungos filamentosos, bactérias e parasitas, raramente a leveduras (TORRES *et al.*, 2017).

Relatos de candidíase em animais são descritos em diferentes partes do mundo, como Estados Unidos da América, Austrália, Japão, África, Inglaterra, Espanha e Brasil, acometendo diversas espécies e com quadros clínicos variados (BRITO, 2008). Enfermidades provocadas por *Candida* geralmente acometem animais imunocomprometidos. O primeiro relato de candidíase em cães, data de 1949, e se tratou de um caso de dermatomicose por *C. albicans* (REICH; NECHTOW, 1949).

No intuito de investigar a diversidade de leveduras associada ao grau de dermatite seborreica em cães, Yurayart *et al.* (2011) analisaram amostras de pele de animais saudáveis,

com dermatite seborreica primária e secundária. O isolamento e caracterização das leveduras foram realizados com base em características microscópicas e propriedades bioquímicas e biologia molecular. Quatro espécies de levedura foram recuperadas, *M. pachydermatis*, *Malassezia furfur*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*. O estudo conclui que *M. pachydermatis* e *C. parapsilosis* foram isolados de todos os cães e que a colonização destas leveduras foi maior em animais com dermatite e pode estar associada ao estágio da doença e sítio anatômico.

Souto *et al.* (2018) descreve dois casos de infecção cerebral por *C. albicans* em cães que apresentaram sinais nervosos. O diagnóstico utilizado foi baseado nas características histomorfológicas e imuno-histoquímica do agente etiológico. Importante destacar que nos dois casos descritos os cães apresentavam patogenias anteriores que os levaram a ser imunocomprometidos, o primeiro cão era senil e tratado com corticosteroides, e o segundo cão estava infectado com o vírus da cinomose.

Pavelski *et al.* (2018) avaliaram a ocorrência de pneumonia fúngica em cães e gatos com aspectos clínicos pulmonares. Foram selecionados para o estudo, cães e gatos independente de raça ou idade internados no hospital veterinário no Sul do Brasil, com sinais clínicos de doenças do trato respiratório inferior como tosse, dispneia ou taquipneia. Foram realizados exames como radiografias, hemograma, lavado broncoalveolar e análise microbiológica em todos os animais que possibilitou o diagnóstico por fungos oportunistas. Dentre os 43 cães e gatos analisados foram encontrados dois cães que estavam com pneumonia fúngica, sendo um animal positivo para o fungo oportunista *C. parapsilosis*.

Alves *et al.* (2020) observaram que três cachorros infectados com vírus da cinomose apresentaram infecção concomitantemente por *C. albicans*. Nestes animais, foi observado um quadro de candidíase sistêmica confirmado por características morfotintoriais do agente e confirmado por imuno-histoquímica. Os autores justificam que a imunossupressão causada pela infecção viral favoreceu a infecção e proliferação do fungo.

No estudo de Reagan *et al.* (2019), foram identificados dezoito cães com candidúria sem suspeita de infecção sistêmica. Três espécies de *Candida* foram isoladas, *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*, sendo a maioria *C. albicans* e *C. tropicalis*. O estudo relata que os animais tinham passado por tratamento com antimicrobianos nos 30 dias anteriores ao diagnóstico de candidúria. O estudo conclui que, a administração de terapia antibacteriana é um potencial fator de risco para o desenvolvimento de candidúria em cães e uso criterioso desta medicação pode ajudar na prevenção de infecções fúngicas.

Seyedmousavi *et al.* (2018) descreveram infecções fúngicas em animais que se encontram com alguma outra patogenia, demonstrando a infecção por fungos oportunistas que causam infecção quando existem previamente desequilíbrios imunológicos ou outras condições debilitantes no hospedeiro, como leishmaniose, distúrbios imunossupressores, diabetes mellitus, entre outras doenças em que pode ser encontrada uma infecção adjacente por *C. guilliermondii*, *C. glabrata*, *C. albicans*, *C. parapsilosis* ou *C. tropicalis*, como fungos oportunistas.

Couto, Lima e Silva (2022), relataram um aumento durante a pandemia da COVID-19, de dermatopatias fúngicas em cães causadas por leveduras do gênero *Candida* spp. e uma diminuição de infecções por *Trichophyton* spp. Os autores correlacionam que a proximidade entre tutores e seus animais de companhia, bem como a diminuição do contato com ambiente externo durante a realização do lockdown, podem ter promovido uma diminuição na contaminação por *Trichophyton* spp. e uma proliferação das leveduras da microbiota cutânea causada por alterações de equilíbrio homeostático que comprometem o sistema imune do hospedeiro.

Destaca-se que em razão da localização comensal da *Candida* em mucosas dos animais e do comportamento oportunista, não há indicação de ações específicas para controle e profilaxia. Além, disso, poucas diferenças genotípicas são observadas entre as linhagens de *Candida* spp. isoladas de animais domésticos e humanos, fenômeno que sugere um potencial zoonótico para o agente, especialmente para pessoas imunocomprometidas. No entanto, o gênero *Candida* não é descrito como um agente zoonótico clássico (MEGID; RIBEIRO; PAES, 2016).

Na tentativa de demonstrar uma possível transmissão de patógenos de caninos para humanos, Pettit, Diaz e Kaffenberger (2019) relataram dois casos de dermatite perioral atípica por *C. parapsilosis* em pacientes com trabalho voluntário e histórico de exposição significativo aos animais, em um mesmo abrigo para cães. Uma mulher de oitenta anos apresentou-se com manchas escamosas eritematosas bilaterais escoriadas e uma mulher de vinte anos que apresentou placas eritematosas anulares ao redor dos olhos. Nos dois casos foram realizadas culturas em que foram evidenciadas *C. parapsilosis*, demonstrando uma possível correlação entre o abrigo frequentando e as infecções causadas.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pesquisa do microbioma da pele busca entender melhor o maior órgão do corpo, fornecendo informações sobre os processos pelos quais um organismo hospedeiro evolui em associação com sua coleção diversificada de microrganismos. Caracterizar a variabilidade da microbiota da pele em cães saudáveis e determinar quais variáveis do hospedeiro e do ambiente que estão definindo sua estrutura e composição, ampliarão as bases para melhores estudos futuros. Além disso, observar quais características interferem na microbiota, como o habitat, a localização do corpo, raça, idade, ambiente e coabitação com outros animais e estado da doença são fatores que afetam a microbiota da pele dos cães.

Os cães podem ser colonizados por diversas comunidades fúngicas, que geralmente variam entre as superfícies pilosas e mucosas. Apesar dessas variações, estudos demonstraram que o desequilíbrio na população microbiana pode contribuir para o desenvolvimento e/ou gravidade de lesões de pele. As espécies de *Candida* são comensais da pele, genital e respiratório superior dos mamíferos. Esses fungos leveduriformes podem causar infecções oportunistas em animais imunocomprometidos ou tratados com antibióticos, corticosteroides, agentes citotóxicos e drogas imunossupressoras. Na literatura veterinária, infecções ocasionais por espécies de *Candida* têm sido relatadas. Como discorrido, esse microrganismo está associado a inúmeros processos de saúde-doenças dos cães. Embora infecções focais com espécies de *Candida* sejam mais relatadas, há um número limitado de relatos descrevendo candidíase disseminada. Estudos são necessários para investigar como um processo de doença causa o desequilíbrio da microbiota cutânea do hospedeiro e o potencial zoonótico da *Candida*. Uma melhor compreensão da predisposição e da infecção é fundamental para a elucidação da fisiopatologia de várias doenças dermatológicas.

6 AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo – FAPES, termo de outorga nº 428/2021- Edital FAPES nº 03/2021 – Universal e por meio do edital PDPG (Programa de Desenvolvimento da Pós-Graduação – PDPG) através do projeto “*Consolidação dos Programas de Pós-Graduação – parcerias estratégicas no estado na área de Ciências Agrárias do Estado do Espírito Santo – Medicina Veterinária*”, termo de outorga nº 137/2021.

7 REFERÊNCIAS

- ALVES, R. C. *et al.* Systemic candidosis in dogs associated with canine distemper virus. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 48, p. 1-7, 2020.
- BENTUBO, H. D. L.; GAMBALE, W.; FISCHMAN, O. Yeasts isolated from the haircoat of healthy dogs that live indoor. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 4, p. 1018-1021, 2010.
- BRITO, E. H. S. **Uma abordagem fenotípica e molecular em leveduras do gênero *Candida* isoladas de cães**. 2008. 135 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual Do Ceará, Fortaleza, 2008.
- CABAÑES, F. J. *et al.* Seasonal study of the fungal biota of the fur of dogs. **Mycopathologia**, v. 133, n. 1, p. 1-7, 1996.
- CIUREA, C. N. *et al.* *Candida* and candidiasis - opportunism versus pathogenicity: a review of the virulence traits. **Microorganisms**, v. 8, n. 6, p. 857-873, 2020.
- CLEFF, M. B. *et al.* Caracterización de la microbiota levaduriforme residente en la vagina de perras en diferentes fases del ciclo estral. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 39, n. 2, p. 153-158, 2007.
- CLEFF, M. B. *et al.* Isolation of *Candida* spp. from vaginal microbiota of healthy canine females during estrous cycle. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 36, p. 201-204, 2005.
- COUTO, A. D.; LIMA, D. J. S.; SILVA, F. Occurrence of pathogenic and environmental fungi in dogs and cats before and during a Covid-19 pandemic in Santarém/PA, Brazil. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 3, p. 20706-20720, 2022.
- CUSCÓ, A. *et al.* Individual signatures define canine skin microbiota composition and variability. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 4, p. 6-18, 2017.
- D'ANDREANO, S. **The forgotten world of mycobiome in the skin of dogs**. 2020. 108 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal e dos Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e dos Alimentos, Universidade Autônoma de Barcelona, Barcelona, 2020.
- DEORUKHKAR, S. C.; MATHEW, S.; SAINI, S. Non-*albicans* *Candida* infection: an emerging threat. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2014, p. 1-7, 2014.
- DWORECKA-KASZAK, B.; BIEGAŃSKA, M. J.; DĄBROWSKA, I. Occurrence of various pathogenic and opportunistic fungi in skin diseases of domestic animals: a retrospective study. **BMC Veterinary Research**, v. 16, n. 1, p. 1-8, 2020.
- EDELMANN, A.; KRUGER, M.; SCHMID, J. Genetic relationship between human and animal isolates of *Candida albicans*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 12, p. 6164-6166, 2005.

GNAT, S. *et al.* A global view on fungal infections in humans and animals: infections caused by dimorphic fungi and dermatophytoses. **Journal of Applied Microbiology**, v. 131, n. 6, p. 2688-2704, 2021.

GORTHI, L. V. Morphological classification of fungal infections (Yeasts, Mold, Dimorphic). *In*: TURGUT, M.; CHALLA, S.; AKHADDAR, A. **Fungal infections of the central nervous system**. Springer: Cham, 2019. p. 23-30.

GUPTA, R. K.; GUPTA, P. Opportunistic fungal infections. *In*: _____. **Pathology of opportunistic infections: an illustrative atlas**. Springer: Singapura, 2017. p. 53-130.

HOFFMANN, A. R. *et al.* The skin microbiome in healthy and allergic dogs. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. e83197, 2014.

HOFFMANN, A. R. The cutaneous ecosystem: the roles of the skin microbiome in health and its association with inflammatory skin conditions in humans and animals. **Advances in Veterinary Dermatology**, v. 8, p. 71-83, 2017.

KOBAYASHI, T.; IMANISHI, I. Epithelial-immune crosstalk with the skin microbiota in homeostasis and atopic dermatitis - a mini review. **Veterinary Dermatology**, v. 32, n. 6, p. 533-538, 2021.

KUSHWAHA, A. K. **Fungi: viruses, bacteria and mycoplasma**. Reino Unido: Dr. Ak Kushwaha, 2020. 465p

LEE, H. A. *et al.* Mural folliculitis and alopecia with cutaneous candidiasis in a beagle dog. **Laboratory Animal Research**, v. 27, n. 1, p. 63-65, 2011.

MATOUSEK, J. L. *et al.* Evaluation of the effect of pH on in vitro growth of *Malassezia pachydermatis*. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 67, n. 1, p. 56-59, 2003.

MEASON-SMITH, C. *et al.* What is living on your dog's skin? Characterization of the canine cutaneous mycobiota and fungal dysbiosis in canine allergic dermatitis. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 91, n. 12, p. 139-151, 2015.

MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. Rio de Janeiro: Roca, 2016. 1263p.

MORIELLO, K. Dermatophytosis in cats and dogs: a practical guide to diagnosis and treatment. **In Practice**, v. 41, n. 4, p. 138-147, 2019.

NAVARRO, B. S. *et al.* Antifungal sensitivity and species of yeasts in oral mucosa of street mixed-breed dogs. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 30, n. 4, p. 101-110, 2020.

PAL, M. *et al.* Growing role of non-*Candida albicans* species in clinical disorders of humans and animals. **Journal of Mycopathological Research**, v. 53, n.1, p. 41-48, 2015.

PAVELSKI, M. *et al.* Fungal pneumonia in dogs and cats with pulmonary clinical signs in southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 4, p. 696-702, 2018.

PETTIT, C.; DIAZ, S.; KAFFENBERGER, B. Two cases of atypical periorificial dermatitis caused by *Candida parapsilosis* in patients volunteering in dog shelters. **Dermatology Online Journal**, v. 25, n. 9, p. 1-3, 2019.

REAGAN, K. L. *et al.* Risk factors for *Candida* urinary tract infections in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 33, n. 2, p. 648-653, 2019.

REICH, W. J.; NECHTOW, M. J. Canine genital moniliasis as a source of reinfection in the human female. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 141, n. 14, p. 991-992, 1949.

SANTIN, R *et al.* Clinical and mycological analysis of dog's oral cavity. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 1, p. 139-144, 2013.

SEYEDMOUSAVI, S. *et al.* Fungal infections in animals: a patchwork of different situations. **Medical Mycology**, v. 56, n. 1, p. 165–187, 2018.

SIHELSKÁ, Z. *et al.* *Malassezia* versus *Candida* in healthy dogs. **Folia Veterinaria**, v. 61, n. 1, p. 54-59, 2017.

SINGH, D. K.; TÓTH, R.; GÁCSE, A. Mechanisms of pathogenic *Candida* species to evade the host complement attack. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, p. 94-118, 2020.

SONG, S. J. *et al.* Cohabiting family members share microbiota with one another and with their dogs. **eLife**, v. 2, p. 1-22, 2013.

SOUTO, E. P. F. de *et al.* Cerebral *Candida albicans* infection in two dogs. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 46, p. 6-14, 2018.

SRI-JAYANTHA, L.; MATTHEWS, K. G.; SCHARF, V. *Scopulariopsis brevicaulis* rhinosinal infection in a dog. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 55, n. 1, p. e551-02, 2019.

TANG, S. *et al.* The canine skin and ear microbiome: a comprehensive survey of pathogens implicated in canine skin and ear infections using a novel next-generation-sequencing-based assay. **Veterinary Microbiology**, v. 247, p. 1-10, 2020.

TORRES S. *et al.* Diverse bacterial communities exist on canine skin and are impacted by cohabitation and time. **PeerJ**, v. 5, p. 1-13, 2017.

WEESE, J. S. The canine and feline skin microbiome in health and disease. **Veterinary Dermatology**, v. 24, n. 1, p. 137-145, 2013.

YURAYART, C. *et al.* Comparative analysis of the frequency, distribution and population sizes of yeasts associated with canine seborrheic dermatitis and healthy skin. **Veterinary Microbiology**, v. 148, n. 2, p. 356-362, 2011.

ZHU, T. H. *et al.* Epithelial barrier dysfunctions in atopic dermatitis: a skin-gut-lung model linking microbiome alteration and immune dysregulation. **British Journal of Dermatology**, v. 179, n. 3, p. 570-581, 2018.



O papel da educação na prevenção das parasitoses intestinais humanas

Poliana Demuner Pereira¹
Natânia do Carmo Sperandio²
Lais Sperandio Cassani³
Amanda Figueiredo Martins de Almeida⁴
Isabella Vilhena Freire Martins⁵

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

² Universidade Federal de Viçosa, e-mail: natania.sperandio@ufv.br

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

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: amanda.m.almeida@edu.ufes.br

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: isabella.martins@ufes.br

1 INTRODUÇÃO

O parasitismo intestinal em humanos, causado por helmintos e protozoários, são recorrentes, principalmente em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, onde se tem o impacto direto do déficit de saneamento básico, atrelado às condições de higiene e alimentação, constituindo um problema de saúde pública. Neste sentido, as endoparasitoses muitas vezes são usadas como importante indicador de sanidade em que vive uma dada população (CARDONA-ARIAS, 2018; NERES *et al.*, 2011).

Dentre as espécies de enteroparasitos mais encontrados em humanos, segundo Romano *et al.* (2019) e Lima (2015) estão os helmintos *Ascaris lumbricoides*, *Taenia solium*, *Taenia saginata*, *Hymenolepis nana*, *Strongyloides stercoralis*, *Trichuris trichiura*, *Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus*. Entre os protozoários, destacam-se a *Entamoeba histolytica*, *Endolimax nana*, *Entamoeba dispar*, *Giardia intestinalis* (syn. *Giardia duodenale* e *Giardia lamblia*) e os coccídios *Cryptosporidium parvum* e *Cystoisospora belli*. E mais uma vez, as condições de moradia e saneamento básico são determinantes na transmissão destes parasitos, tendo em vista que sua maioria é transmitida pela ingestão de água e alimentos contaminados ou pela presença de larvas no solo.

As parasitoses refletem consequências negativas no crescimento e desenvolvimento, principalmente infantil, mas também em adultos, muitas vezes interferindo no rendimento escolar e no trabalho (LIMA, 2015). De acordo com Pivetta, Martins e Souza (2021), as parasitoses intestinais acometem expressivamente as crianças em idade escolar, e os autores atribuem o fato destas não possuírem hábitos higiênicos como os adultos e sua imunidade ainda não está totalmente desenvolvida para a eliminação dos parasitos.

No Brasil, acredita-se que a prevalência em escolas pode chegar a 70%, contudo, nos municípios de baixo índice de desenvolvimento humano (IDH), essa porcentagem pode variar entre 2% e 36% (BRAGAGNOLLO *et al.*, 2019). Teixeira *et al.* (2020) ressaltam que as ações de saúde não devem estar direcionadas apenas no diagnóstico ou prescrição de cuidados terapêuticos, mas engloba processos de intervenção para que o indivíduo e a coletividade disponham de meios para recuperação do seu estado de saúde e condições preventivas para diminuir novas infecções.

Segundo Santos (2019) um ambiente mais poluído e mais precário, deixa as pessoas mais susceptíveis a infecção, desta forma, as práticas educativas em saúde, são fundamentais

para o indivíduo obter o conhecimento, a fim de se alcançar a prevenção e consequentemente a redução das parasitoses (SOUSA *et al.*, 2019).

No entanto, embora muito se discuta sobre a importância das parasitoses intestinais, principalmente entre crianças em idade escolar, pouca atenção tem sido dada ao assunto nos programas de formação de educadores, e neste sentido, o objetivo desta revisão é trazer as principais parasitoses intestinais humanas de ocorrência no Brasil e enfatizar o papel da educação na prevenção dessas enfermidades.

2 PARASITOSES INTESTINAIS HUMANAS

As doenças parasitárias constituem uma das principais causas de morte no mundo, com destaque para as parasitoses intestinais, as quais podem ser causadas por helmintos e protozoários. No Brasil são enfermidades com alta prevalência devido à má condição de vida, por fatores sociais, econômicos, ambientais, culturais e principalmente por conta de aspectos relacionados às práticas e condições sanitárias inadequadas, potencializando a disseminação do parasitismo entre os indivíduos (ANTUNES *et al.*, 2020; REY, 2008). As enfermidades parasitárias acometem mais as crianças em idade escolar devido estarem mais expostas aos parasitos, e menos conhecimento sobre princípios básicos de higiene, atrelado ao fato do processo de construção do sistema imunológico adquirido (ANDRADE; SÁ; BEZAGIO, 2017; FARIA *et al.*, 2019).

Embora apresentem baixas taxas de mortalidade, as parasitoses intestinais ainda continuam representando um significativo problema de saúde pública, haja vista o grande número de indivíduos infectados. No qual aproximadamente, um terço da população das cidades dos países subdesenvolvidos vive em condições ambientais propícias à disseminação das infecções parasitárias; e as várias alterações orgânicas que podem provocar. Pois além dos efeitos patológicos diretos da parasitemia, as infecções parasitárias exercem importante influência sobre o estado nutricional, crescimento e função cognitiva do hospedeiro (HAQUE, 2007; PRADO *et al.*, 2001).

De acordo com trabalho realizado por Maldotti e Dalzochio (2021), dentre os parasitos intestinais mais frequentes em crianças no Brasil dentre os anos de 2010 a 2019, estão: *G. intestinalis* com a maior prevalência de citação nos estudos brasileiros (29,6%), seguido de *A. lumbricoides* e *Entamoeba coli*, ambos com prevalência de 18,5%. Ademais, a *E. histolytica* e

Blastocystis sp., compreenderam as menores prevalências, sendo de 11,1%, e outros parasitos reportados abrangem 11,1% de prevalência em estudos publicados entre 2010 e 2019.

Em relação às regiões brasileiras, a Figura 1 apresenta a pesquisa de Maldotti e Dalzochio (2021), a qual aborda o percentual de pesquisas referentes à prevalência de parasitos intestinais em crianças, a partir de trabalhos envolvidos entre os anos de 2010 a 2019 - com o total de 27 trabalhos.

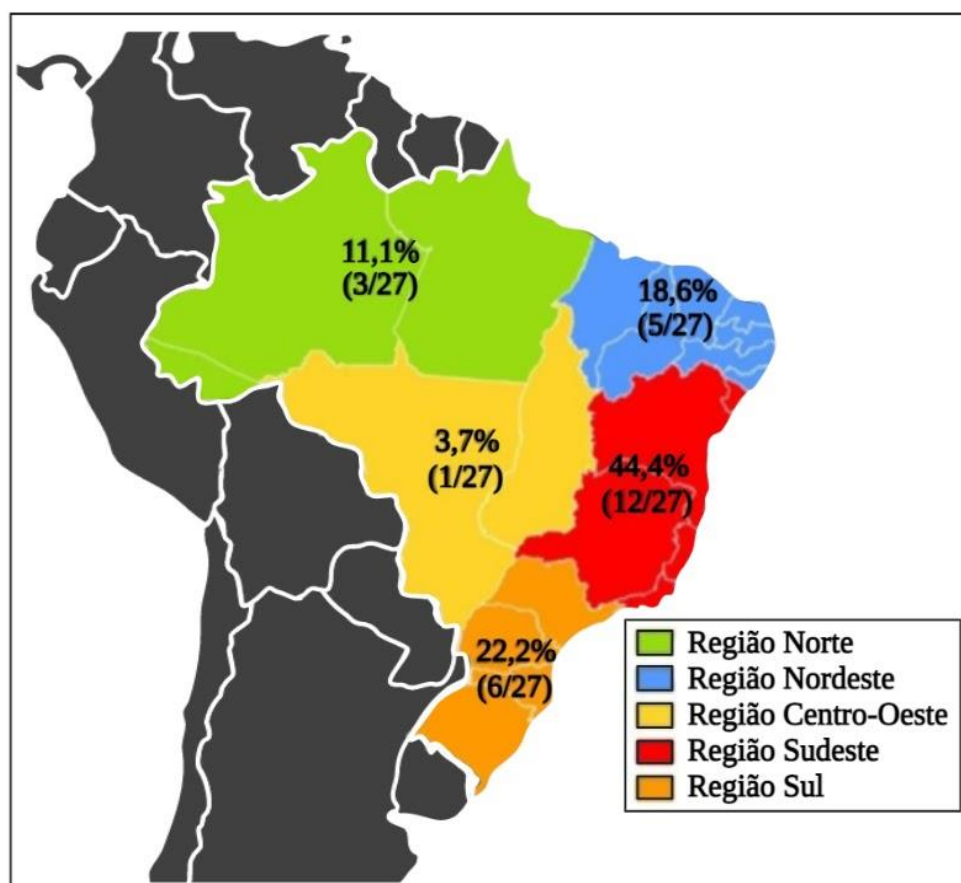


Figura 1 - Mapa envolvendo a quantidade de estudos referente a prevalência de parasitos intestinais em crianças nas regiões do Brasil, com base em estudos de 2010 a 2019.

Fonte: Adaptado Maldotti e Dalzochio (2021).

2.1 HELMINTOSES

As principais helmintoses na população humana são a ascaridíase, causada por *Ascaris lumbricoides*, a tricuriase, causada pelo nematoide *Trichuris trichiura*, a enterobiose, causada por *Enterobius vermicularis*, a ancilostomose, causada principalmente por *Necator americanus* no Brasil, e a estrogiloidíase, que tem como agente o nematoide *Strongyloides stercoralis* (ANDRADE *et al.*, 2010; PEDROSO; CUNHA; NETO, 2020; SILVA; SANTOS, 2001).

O Quadro 1 ilustra as principais helmintoses intestinais em humanos, com o agente etiológico da enfermidade e as principais formas de transmissão para o homem.

Quadro 1 - Principais doenças acarretadas por helmintos intestinais em humanos, juntamente com a respectiva forma de transmissão.

Doença	Helminto	Forma de infecção
Ascaridíase	<i>Ascaris lumbricoides</i>	Ingestão de água ou alimentos contaminados com ovos contendo a larva L3.
Tricuríase	<i>Trichuris trichiura</i>	Ingestão de água e alimentos contaminados pelos ovos.
Enterobiose	<i>Enterobius vermicularis</i>	Ingestão de ovos presentes em alimentos, poeira e outros fômites; Autoinfecção externa, o indivíduo parasitado após coçar a região perianal leva os ovos até a boca; Autoinfecção interna, larvas migram do reto até o ceco; Retroinfecção, larvas eclodidas na região perianal readentram o sistema digestivo pelo ânus.
Ancilostomose	<i>Ancylostoma duodenale</i> , <i>Necator americanus</i> e <i>Ancylostoma ceylanicum</i> *	Penetração na pele ou pela ingestão das larvas L3.
Estrongiloidíase	<i>Strongyloides stercoralis</i> e <i>Strongyloides fuelleborni</i>	Penetração de larvas filaroides L3 através da pele e retroinfecção, larvas presentes na região perianal penetram na pele reiniciando o ciclo.
Teníase	<i>Taenia solium</i> e <i>Taenia saginata</i>	Ingestão de carne suína ou bovina crua ou malcozida, contaminada, respectivamente, pelo cisticerco de cada espécie de <i>Taenia</i> .
Himenolepiíase	<i>Hymenolepis nana</i>	Ingestão de água ou alimentos contaminados com ovos ou ingestão acidental de insetos contaminados.

Fonte: Adaptado Neves (2016).

*: *A. ceylanicum* é mais prevalente na Ásia.

Segundo o Boletim epidemiológico da Secretaria de Vigilância em Saúde, ligada ao Ministério da Saúde no Brasil inúmeras são as doenças negligenciadas no Brasil e as geo-

helmitíases constituem um grupo de doenças parasitárias que causam infecções intestinais (BRASIL, 2021). Esses helmintos que passam parte de seu ciclo de vida no solo, acarretando contaminação da água e de alimentos com os seus ovos ou larvas, se desenvolvendo no trato intestinal, tendo o homem como reservatório e principal hospedeiro definitivo. A ocorrência da infecção está associada às precárias condições de higiene, à falta de acesso à água e ao saneamento inadequado, sendo classificadas como doenças negligenciadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Segundo dados de inquérito realizado entre 2010 a 2015 a ascaridíase aparece com prevalência de 6% na população, seguida de 5,41% de *T. trichiura* e 2,73% para ancilostomatídeos (BRASIL, 2021).

Dentre as outras enfermidades parasitárias causadas por helmintos, a teníase é uma doença de extrema importância tanto para o âmbito econômico quanto para a saúde pública. O ciclo é basicamente composto pelo ser humano, hospedeiro definitivo, que ao ingerir a carne suína ou bovina, contaminada por cisticercos de *T. solium* ou *Taenia saginata* respectivamente, e dá progressão ao ciclo, portando o cestóide adulto no intestino elimina proglotes e os ovos que serão ingeridos pelos hospedeiros intermediários (suíno ou bovino) através da água e alimento contaminado (NEVES, 2016; REY, 2008; TOLEDO *et al.*, 2018). Dessa forma, ilustra dois graves problemas, a presença de carcaças contaminadas de animais de produção, e consequentemente, se não supervisionadas na inspeção de alimentos no abatedouro, os indivíduos podem ingerir a carne contaminada e desenvolver a doença parasitária denominada teníase (REY, 2008; TOLEDO *et al.*, 2018).

Dentro dos sinais/sintomas de maior predomínio entre as doenças intestinais relacionadas a helmintos são a presença de anemia devido às lesões parasitárias nas mucosas do intestino causadas pela aderência das larvas, as dores abdominais, desnutrição, diarreia sanguinolenta ou não e perda de apetite, e nos casos de penetração de larvas na pele pode ocorrer o aparecimento de algumas lesões (PEDROSO; CUNHA; NETO, 2020; REY, 2008; SILVA; SANTOS, 2001). No caso da teníase, a maioria dos portadores são assintomáticos, e mesmo quando desenvolvem algum tipo de sintoma, muitas das vezes são semelhantes à outras parasitoses, o que dificulta no diagnóstico clínico final (NEVES, 2016).

A partir dos estudos de Antunes *et al.* (2020), ao realizar exames laboratoriais e questionários a fim de analisar as principais parasitoses intestinais em moradores de rua de Anápolis (GO), foram encontrados entre os helmintos intestinais *A. lumbricoides*, *S. stercoralis* e *E. vermiculares*, e de protozoários *G. intestinalis*, *E. histolytica* e *E. coli*. Diante dos sinais e sintomas destacaram-se dor abdominal (86%), irritabilidade nervosa (75%) e diarreia (68%).

Com tais dados os autores concluíram que uma frequência alta de parasitoses e também com associações de infecções parasitárias. Além disso citam a necessidade de adoção de medidas de prevenção e controle, como a necessidade de melhorias no saneamento básico e de educação em saúde.

A falta de condições sanitárias mínimas propicia a contaminação ambiental por fezes humanas com cistos, ovos e larvas de helmintos, poluindo a água utilizada na irrigação das hortaliças, como um exemplo. No Brasil, a contaminação de hortaliças por dejetos humanos é uma das principais vias de transmissão de enteroparasitos (SOARES; CANTOS, 2005). Neres *et al.* (2011) analisaram amostras de alface crespa (*Lactuca sativa*) de cultivo tradicional e hidropônico, adquiridas de supermercados, feiras livres e sacolões de diferentes regiões da cidade de Anápolis, Goiás, e constataram que todas as amostras estavam positivas para enteroparasitos e relacionam tal achado as más condições sanitárias de produção, provavelmente pela contaminação da água usada no cultivo. Foram registrados ovos e larvas de ancilostomatídeos, ovos de *A. lumbricoides* e *H. nana*; e larvas de *S. stercoralis*. Além das formas ambientais dos protozoários: *E. coli*, *E. histolytica*, *E. nana*, *Iodamoeba butschlii*, *G. lamblia* e *Cystoisospora belli* (syn. *Isospora belli*).

O diagnóstico dessas enfermidades em humanos pode ser feito através de exames coproparasitológicos com observação de ovos e larvas, por exemplo com o uso da técnica de sedimentação espontânea, denominada técnica de Hoffman (HOFFMAN; PONS; JANNER, 1934), para detecção de ovos de helmintos e o método de Baermann-Moraes (BAERMANN, 1917; MORAES, 1948) para identificação de larvas de nematódeos (ANTUNES *et al.*, 2020). Outras formas de diagnóstico também podem ser implementadas como com o uso da técnica de Graham no diagnóstico de enterobíase, e do uso de técnicas como ELISA e PCR (ANTUNES *et al.*, 2020; NEVES, 2016; REY, 2008).

2.2 PROTOZOOSSES

As protozooses intestinais são destaques entre as doenças tropicais negligenciadas, perpetuadas principalmente em função da falta de acesso à água potável e ao saneamento, de maneira que confere um problema grave de saúde pública, afetando principalmente os países subdesenvolvidos (MONTEIRO, 2017; SALAM *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2014).

Segundo estudos realizados por Caldeira *et al.* (2019), Fantinatti (2019), Nogueira *et al.* (2021), Pereira (2014), Silva (2016), Teixeira *et al.* (2020), Li *et al.* (2020) e Cunha *et al.*

(2022), os protozoários patogênicos de destaque são *G. intestinalis*, causador da giardíase, *E. histolytica* ou *E. dispar*, a qual ocasiona a amebíase, *Cryptosporidium spp.*, causador da criptosporidiose e *C. belli*, agente causador da cistoisosporíase. O quadro 2 apresenta as principais protozooses intestinais em humanos, evidenciando a espécie parasitária e a forma de infecção.

Quadro 2 - Principais doenças acarretadas por protozoários intestinais em humanos, juntamente com a respectiva forma de transmissão.

Doença	Protozoário	Forma de infecção
Amebíase	<i>Entamoeba histolytica</i>	Ingestão de alimentos e água contaminados com cistos
Giardíase	<i>Giardia lamblia</i>	Ingestão de alimentos, água e fezes contaminados com cistos
Criptosporidiose	<i>Cryptosporidium spp.</i>	Ingestão de alimentos e água contaminados com oocistos
Cistoisosporíase	<i>Cystoisospora belli</i>	Ingestão de alimentos e água contaminados com oocistos

Fonte: Adaptado Neves (2016).

A giardíase é a protozoose de maior prevalência mundial, com destaque para o acometimento em crianças, podendo gerar prejuízos no desenvolvimento estrutural e intelectual dos acometidos, bem como no rendimento escolar (CIMERMAN; CIMERMAN, 2010; NEVES, 2016). Cabe destacar que o maior risco de acometimento da doença é em crianças devido apresentarem poucos hábitos e orientações sobre educação e higiene pessoal (ALKMIN *et al.*, 2021; WALDRAM *et al.*, 2017).

O protozoário *G. lamblia* é considerado a principal causa de diarreia associada à ingestão de água contaminada. Além do mais, a transmissão da doença também pode ocorrer via fecal-oral e crianças que frequentam creches estão mais suscetíveis à infecção por este protozoário (MALDOTTI; DALZUCHIO, 2021),

O diagnóstico de giardíase é realizado por meio de exames coproparasitológicos, utilizando a técnica de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco (FAUST *et al.*, 1938) sendo uma técnica qualitativa que se baseia na centrífugo-flutuação em solução de sulfato de zinco a 33%, apresentando alta especificidade. Além disso, o diagnóstico também pode ser realizado por meio de ensaios de detecção de antígeno e ácido nucléico. Utilizando anticorpos contra cistos ou antígenos de trofozoítos, é possível detectar o antígeno e fechar o diagnóstico, de

maneira que são feitos por meio de kits incluindo ensaios de imunofluorescência direta que utilizam anticorpos monoclonais marcados com fluoresceína, imunocromatográficos e ensaios imunoenzimáticos (ELISA). Cabe destacar que alguns estudos mostraram que o ensaio de imunofluorescência direta tem sensibilidade (ALKMIN *et al.*, 2021; ANDRADE *et al.*, 2011; MOURA FILHO *et al.*, 2021).

No que se refere à amebíase, sua ocorrência é estimada em 50 milhões de casos invasivos/ano (ALMEIDA; LEITE, 2020; SILVA, 2016; SILVA, 2021). A prevalência da infecção por *E. histolytica* no Brasil varia de acordo com as regiões, sendo encontrado com bastante frequência na região Nordeste do Brasil, o que pode ser associado às diferenças socioeconômicas e carências de saneamento básico, quando comparadas com regiões como Sudeste e Sul do país (DANTAS *et al.*, 2019; NOGUEIRA *et al.*, 2021).

No Brasil, estudos demonstraram que infecção por *E. histolytica* são altas, uma vez que foi observada a ocorrência de internações com mais de 14 mil óbitos entre 2012 e 2016, sendo destacado os altos gastos hospitalares com os serviços de saúde. Diante disso, é possível observar que a amebíase é uma doença recorrente e de grande importância na saúde pública (CASTRO *et al.*, 2019; KADRI *et al.*, 2021). O diagnóstico da amebíase compreende o exame coproparasitológico com a identificação morfológica dos cistos e trofozoítos de *E. histolytica*. Além disso, também pode-se realizar um imunodiagnóstico, por meio da técnica de reação de imunofluorescência indireta (RIFI), a qual busca anticorpos específicos contra o parasito no soro do paciente, como também há o diagnóstico por meio do o ensaio imunoenzimático (ELISA) para detecção de coproantígenos nas fezes (CARDOSO *et al.*, 2022; DULGHEROFF *et al.*, 2015).

O impacto clínico de ambas as infecções podem ser assintomático ou causar sintomas agudos, devido ao fato da interferência na absorção e metabolismos dos macros e micronutrientes, além de sintomas como fortes dores abdominais, diarreia aguda, fezes esteatorreicas, náuseas, vômito e indisposição, de maneira que comprometem o estado nutricional, bem como causam hemorragias e anemias (SILVA *et al.*, 2016; WELCH *et al.*, 2019).

Causador da Criptosporidiose, o protozoário *Cryptosporidium* spp. acarreta em danos significativos para a saúde humana e animal, visto que se apresenta com sintomatologia de diarreia aquosa autolimitada em indivíduos imunocompetentes, além de exibir efeitos comprometedores em pacientes imunocomprometidos e, em alguns casos, pode ser fatal devido

à desidratação causada por diarreia crônica (BOUZID; KINTZ; HUNTER, 2018; CUNHA *et al.*, 2022; LI *et al.*, 2020,).

As espécies de *Cryptosporidium* mais associadas a doenças em humanos são *C. parvum* e *Cryptosporidium hominis*, de maneira que esse protozoário pode sobreviver por meses de maneira latente fora dos hospedeiros, tendo o seu desenvolvimento biológico endógeno, culminando na produção de um estágio encistado nas fezes de seu hospedeiro (CUNHA *et al.*, 2022; FENG; RYAN; XIAO, 2018; LI *et al.*, 2020;).

A cistoisossporíase é causada pelo protozoário *C. belli*, o qual é distribuído mundialmente, porém possui maior prevalência em áreas tropicais e subtropicais. Causando sinais clínicos como diarreia líquida de início súbito, acompanhada de febre, cólicas abdominais, náuseas, anorexia e mal-estar, esse parasito é caracterizado por infectar as células epiteliais do intestino (BLOHM *et al.*, 2021; DUBEY *et al.*, 2019; LI *et al.*, 2020;)

O diagnóstico da criptosporidiose e cistoisossporíase consiste na análise morfológica do agente etiológico por meio do exame coproparasitológico feito pela técnica de Ziehl-Neelsen com detecção dos oocistos, como também por meio de testes de imunofluorescência e imunoenaios (BOUZID; KINTZ; HUNTER, 2018; LI *et al.*, 2020).

3 PREVENÇÃO DAS PARASITOSES INTESTINAIS

Embora o parasitismo intestinal seja relevante na epidemiologia e na saúde pública, ainda são insuficientes as referências sobre o tema, em especial no Brasil. Tal situação, aliada à dificuldade de realização de exames coproparasitológicos em maior escala, pouco contribui para o conhecimento das consequências na população geral (ANDRADE *et al.*, 2010).

Assim, inquéritos e estudos epidemiológicos sobre os conhecimentos dos principais parasitos intestinais que acometem a população no Brasil devem continuar sendo realizados, buscando identificar os principais problemas e regiões de ocorrência. Além disso, algumas dessas parasitoses mencionadas são consideradas zoonoses, ou seja, enfermidades transmitidas entre os animais e o homem, tornando ainda mais importante o papel da prevenção também associado ao controle das enfermidades nos animais (COCIANCIC; ZONTA; NAVONE, 2018). Estudos desses autores revelam a necessidade de engajamento mais aprofundado na prevenção, vigilância e controle dessas infecções a partir do compromisso da comunidade científica em consonância com programas regionais e nacionais de educação, saúde pública e posse responsável de animais de estimação.

Em 2012, o Ministério da Saúde instituiu um plano de controle de diversas enfermidades, incluindo as geo-helminthíases. Neste plano, um dos objetivos foi a redução da carga das geo-helminthíases por meio do tratamento coletivo quimioprofilático preventivo de escolares que vivem em localidades com precárias condições de saneamento básico (BRASIL, 2021).

A educação em saúde é um componente essencial na prevenção e controle das parasitoses intestinais. Salam *et al.* (2014) reforçam que um componente de educação em saúde com foco em higiene geral e saneamento, juntamente com a administração do medicamento recomendada são medidas necessárias para a prevenção dessas parasitoses.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As parasitoses são constantemente diagnosticadas nos mais diversos hospedeiros. Em humanos, o parasitismo intestinal reflete, muitas vezes, a falta do conhecimento quanto à profilaxia, somado às precárias condições sanitárias. Frente a este cenário, observa-se a necessidade desse assunto ser discutido em sociedade, por meio da educação, a fim de conscientizar quanto às medidas básicas de saúde e profilaxia, incluindo as zoonoses.

As estratégias profiláticas estão relacionadas à melhoria do saneamento básico, abastecimento hídrico, conscientização da população sobre a importância da higienização pessoal e coletiva, além da ampliação e qualificação dos serviços de saúde governamentais, promovendo sobretudo a educação, por meio da formulação de medidas socioeducativas públicas para garantir o acesso aos serviços de saúde e tratamentos básicos de água e esgoto, reduzindo a prevalência das parasitoses intestinais e prevenindo infecções parasitárias.

Neste sentido, conteúdos educativos devem ser oferecidos por meio das instituições competentes à comunidade, principalmente por meio dos educadores de ensino básico, que atuam em crianças e jovens, as categorias mais acometidas pela parasitose, justamente em decorrência dessa falta de conhecimento. Portanto, a educação em saúde ambiental no controle das parasitoses intestinais pode ser uma estratégia de baixo custo e capaz de atingir resultados bastante significativos e duradouros, uma vez que ela corresponde a um processo educativo constante, dinâmico e criativo.

5 REFERÊNCIAS

- ALKMIN, A. C. M. A. *et al.* Giardíase: epidemiologia, manifestações clínicas e diagnóstico. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR**, v. 36, n. 1, p. 101-105, 2021.
- ALMEIDA, A. A.; LEITE, T. S. A. *Entamoeba histolytica* como causa da amebíase. **Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA**, v. 10, n. 1, p. 133-139, 2020.
- ANDRADE, A. O.; SÁ, A. R. N.; BEZAGIO, R. C. Prevalência de parasitoses intestinais em crianças de um centro municipal de educação infantil de Campo Mourão, PR, Brasil. **Revista UNINGÁ**, v. 29, n. 3, p. 36-41, 2017.
- ANDRADE, E. C. *et al.* Parasitoses intestinais: uma revisão sobre seus aspectos sociais, epidemiológicos, clínicos e terapêuticos. **Atenção Primária à Saúde**, v. 13, n. 2, p. 231-240, 2010.
- ANDRADE, E. C. D. *et al.* Prevalência de parasitoses intestinais em comunidade quilombola no Município de Bias Fortes, Estado de Minas Gerais, Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 20, n. 3, p. 36-41, 2011.
- ANTUNES, R. S. *et al.* Parasitoses intestinais: prevalência e aspectos epidemiológicos em moradores de rua. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 52, n. 1, p. 87-92, 2020.
- BAERMANN, G. Eine einfache methode zur auffindung von ankylostomum (nematoden) larven in erdproben. **Geneeskunding Tijdschrift voor Nederlandsch-Indië**, v. 57, p. 131-137, 1917.
- BLOHM, M. *et al.* Comparison of two real-time PCR assays targeting ribosomal sequences for the identification of *Cystoisospora belli* in human stool samples. **Pathogens**, v. 10, n. 8, p. 1053, 2021.
- BOUZID, M.; KINTZ, E.; HUNTER, P. R. Risk factors for *Cryptosporidium* infection in low and middle income countries: a systematic review and meta-analysis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 6, p. 1-13, 2018.
- BRAGAGNOLLO, G. R. *et al.* Intervenção educativa lúdica sobre parasitoses intestinais com escolares. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v.72, n. 5, p. 1268-1275, 2019.
- BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. **Doenças tropicais negligenciadas**. Brasília, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/boletins-epidemiologicos/especiais/2021/boletim_especial_doencas_negligenciadas.pdf>. Acesso em: 27 jun. 2022.
- CALDEIRA, I. P. *et al.* Prevalência de parasitas em pacientes atendidos em laboratório de um centro universitário da cidade de Montes Claros, MG. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 51, n. 3, p. 234-40, 2019.

- CARDONA-ARIAS, J. A. Determinantes sociais de parasitismo intestinal, desnutrição e anemia: revisão sistemática. **Revista Pan-Americana de Saúde Pública**, v. 41, n.8, p. 1 -9, 2018.
- CARDOSO, A. M. *et al.* Perfil da amebíase e sua relação com os indicadores de saneamento básico no Brasil: contexto de emergência entre 2010 e 2021. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, p. e50511730435, 2022.
- CASTRO, A. A. *et al.* *Entamoeba histolytica* como causa de diarreia crônica. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, v. 14, n. 41, p. 1917-1926, 2019.
- CIMERMAN, B.; CIMERMAN, S. **Parasitologia humana e seus fundamentos gerais**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2010. 402 p.
- COCIANCIC, P.; ZONTA, M. L.; NAVONE, G. T. A cross-sectional study of intestinal parasitoses in dogs and children of the periurban area of La Plata (Buenos Aires, Argentina): Zoonotic importance and implications in public health. **Zoonoses Public Health**, v. 65, p. 1-10, 2018.
- CUNHA, G. L. C. *et al.* Revisão integrativa: retrato da presença de *Cryptosporidium* spp. em humanos e águas do Brasil. **Revista Unimontes Científica**, v. 24, n. 1, p. 1-19, 2022.
- DANTAS S. H. *et al.* Perfil socioeconômico e qualidade de vida dos pacientes com protozooses intestinais. **Revista Saúde (Santa Maria)**, v. 45, n. 2, p. 1490-1527, 2019.
- DUBEY, J. *et al.* *Cystoisospora belli* infections in humans: the past 100 years. **Parasitology**, v. 146, n. 12, p. 1490-1527, 2019.
- DULGHEROFF, A. C. *et al.* Amebíase intestinal: diagnóstico clínico e laboratorial. **Revista Científica do ITPAC**, v. 8, n. 2, p. 1-5, 2015.
- FANTINATTI, M. Zoonotic potential of *Giardia lamblia* and control of giardiasis. **Insights in Veterinary Science**, v. 3, p. 1-4, 2019.
- FARIA, K. F. *et al.* Ensino em parasitologia: ação extensionista com crianças em idade escolar. **Revista Conexão UEPG**, v. 15, n. 3, p. 294-300, 2019.
- FAUST, E. C. *et al.* A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces I. Preliminary communication. **American Journal of Tropical Medicine**, v. 18, p. 169-183, 1938.
- FENG, Y.; RYAN, U. M.; XIAO, L. Genetic diversity and population structure of *Cryptosporidium*. **Trends in Parasitol**, v. 34, n. 11, p. 997-1011, 2018.
- HAQUE, R. Human intestinal parasites. **Journal of Health, Population and Nutrition**. v. 25, n. 4, p. 387-391, 2007.
- HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The sedimentation concentration method in schistosomiasis. **Puerto Rico Journal of Public Health**, v. 9, p. 281-298, 1934.

KADRI, S. *et al.* PTEN differentially regulates endocytosis, migration, and proliferation in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. **PLoS Pathogens**, v. 18, n. 5, p. 1-31 2021.

LI, J. *et al.* Detection of human intestinal protozoan parasites in vegetables and fruits: a review. **Parasites & Vectors**, v. 13, n. 380, p. 1-19, 2020.

LIMA, F. S. **Uma proposta de intervenção para prevenção de parasitoses em crianças escolares na estratégia saúde da família**. 2015. 21 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Atenção Básica em Saúde da Família), Universidade Federal de Minas Gerais, 2015.

MALDOTTI, J.; DALZUCHIO, T. Parasitos intestinais em crianças no Brasil: revisão sistemática. **Revista Cereus**, v. 13, n. 1, p. 62-73, 2021.

MONTEIRO, A.C.S. **Prevalência e fatores associados à enteroparasitoses em escolares**. 2017. 82 f. Dissertação (Mestrado em Modelos de Decisão e Saúde) - Programa de Pós-Graduação em Modelos de Decisão e Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.

MORAES, R. G. Contribuição para o estudo do *Strongyloides stercoralis* e da estrongiloidíase no Brasil. **Revista do Serviço Especial de Saúde Pública no Brasil**, v.1, p. 507-624, 1948.

MOURA FILHO, E. P. *et al.* Morphological and molecular characterization of *Giardia duodenalis* cysts in clinical samples of children from Parnaíba, Piauí. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. 1-8, 2021.

NERES, A. C. *et al.* Intestinal parasites in samples of lettuce (*Lactuca sativa* var. *crispa*) from the municipality of Anápolis, state of Goiás, Brazil. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 2, p. 336-341, 2011.

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 13 ed. São Paulo: Atheneu, 2016. 616p.

NOGUEIRA, M. R. *et al.* Análise epidemiológica dos resultados de exames parasitológicos de protozooses intestinais no município de Teresina - PI. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 13, n. 5, p. 1-13, 2021.

PEDROSO, R. C.; CUNHA, S. N.; NETO, A. Helminths of importance for public health in alfalfa in Brazil: a systematic review. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 6, p. 19200-19225, 2020.

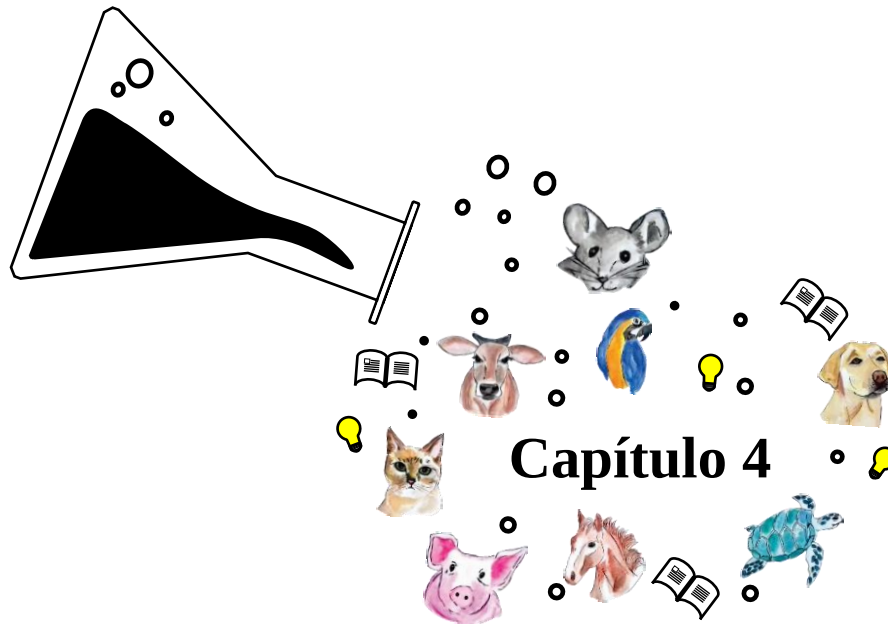
PEREIRA, C. Fatores de risco das enteroparasitoses de escolares públicos da Bahia. **Revista Saúde**, v. 10, n. 3, p. 245-253, 2014.

PIVETTA, H.; MARTINS, J. S.; SOUZA, M. A. A. Parasitoses intestinais em estudantes de uma escola pública do município de São Mateus, Espírito Santo, Brasil. **Brazilian Journal of Production Engineering**, v. 6, n. 9, p. 1-13, 2021.

- PRADO, M. S. *et al.* Prevalência e intensidade da infecção por parasitas intestinais em crianças na idade escolar na cidade de Salvador (Bahia, Brasil). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 1, p. 99-101, 2001.
- REY, L. **Parasitologia**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A, 2008. 888p.
- ROMANO, R. N. *et al.* Avaliação das enteroparasitoses em crianças e adultos na comunidade do Lixão município Patos, Paraíba -Brasil. **Brazilian Journal of health Review**, v. 2, n. 6, p. 6124-6136, 2019.
- SALAM, R. A. *et al.* Community based interventions for the prevention and control of helminth neglected tropical diseases. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 3, n. 23, p. 1- 17, 2014.
- SANTOS, I. P. S. “Parasitismo e degeneração” na América Latina: os conceitos biologizantes de Manoel Bomfim. **Revista do Instituto Histórico e Geográfico de Sergipe**, n. 49, p. 57-60, 2019.
- SILVA, A. M. B. *et al.* Ocorrência de enteroparasitoses em comunidades ribeirinhas do Município de Igarapé Miri, Estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, n. 4, p. 45-51, 2014.
- SILVA, B. R. N. **Aspectos epidemiológicos da amebíase (*Entamoeba histolytica*) em crianças e adolescentes no estado de Alagoas**. 2021. 35f. Trabalho de Conclusão de Curso, Faculdade UNIRB, Arapiraca, 2021.
- SILVA, C. G.; SANTOS, H. A. Ocorrência de parasitoses intestinais da área de abrangência do Centro de Saúde Cícero Idelfonso da Regional Oeste da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, Minas Gerais. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 1, n. 1, p. 1-11, 2001.
- SILVA, I. M. R. **Geohelmintíases e protozooses intestinais em população adscrita à estratégia saúde da família de Parnaíba-PI**. 2016. 74f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Programa de Pós-graduação da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016,
- SILVA, J. V. L. *et al.* Factors associated with gastrointestinal parasitic infections among young population in northeast Brazil. **Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**, v. 2016, p. 1-7, 2016.
- SOARES, B.; CANTOS, G. A. Qualidade parasitológica e condições higiênico-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 8, n. 4, p. 377-384, 2005.
- SOUSA, F. D. C. A. *et al.* Prevalência de parasitoses intestinais em crianças de uma escola pública municipal. **Revista Enfermagem Atual In Derme**, v. 90, n. 28, p. 1-7, 2019.
- TEIXEIRA, P. A. *et al.* Parasitoses intestinais e saneamento básico no Brasil: estudo de revisão integrativa. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 22867-22890, 2020.
- TOLEDO, R. C. C. *et al.* Complexo teníase/cisticercose: uma revisão. **Higiene Alimentar**, v. 32, n. 282-283, p. 30-34, 2018.

WALDRAM, A. *et al.* Prevalence of *Giardia* infection in households of *Giardia* cases and risk factors for household transmission. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 1-7, 2017.

WELCH, V. A. *et al.* Deworming children for soil-transmitted helminths in low and middle-income countries: systematic review and individual participant data network metaanalysis. **Journal of Development Effectiveness**, v. 11, n. 3, p. 288-306, 2019.



Tipos cercarianos de trematódeos digenéticos presentes em moluscos aquáticos dulcícolas no Brasil

Poliana Demuner Pereira¹
Natânia do Carmo Sperandio²
Lais Sperandio Cassani³
Ygor Henrique da Silva⁴
Isabella Vilhena Freire Martins⁵

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

² Universidade Federal de Viçosa, e-mail: natania.sperandio@ufv.br

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

⁴ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e-mail: yhenrique@ufrj.br

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: isabella.martins@ufes.br

1 INTRODUÇÃO

Digenea (Carus, 1863) é considerado o grupo mais diverso e abundante de parasitos internos, compreendendo cerca de 18.000 espécies descritas (LEÓN; HERNÁNDEZ-MENA, 2019). Esses platelmintos possuem de ciclo de vida complexo, possuindo na maioria das vezes, diferentes grupos de vertebrados como hospedeiros definitivos e moluscos gastrópodes como hospedeiros intermediários (MIRANDA *et al.*, 2016; RODRIGUES *et al.*, 2017).

Em seu ciclo de vida observa-se até três tipos de hospedeiros (hospedeiro definitivo, primeiro hospedeiro intermediário, e em alguns casos, segundo hospedeiro intermediário), como também até sete diferentes estágios de vida (adultos, ovos, miracídios, esporocistos, rédias, cercárias e metacercárias) (TOLEDO *et al.*, 2014). Os estágios adultos são encontrados nos hospedeiros definitivos e os de ovos, miracídios, esporocistos, rédias, cercárias e metacercárias no ambiente e/ou nos hospedeiros intermediários (PINTO; MELO, 2013b).

No ambiente, são observados dois principais estágios evolutivos infectantes, sendo estes: miracídios, que infectam unicamente moluscos gastrópodes – hospedeiro intermediários e; cercárias, que infecta ativamente os hospedeiros definitivos ou, em alguns casos, se insista no ambiente e/ou em um segundo hospedeiro intermediário desenvolvendo em metacercária (MIRANDA *et al.*, 2016).

Esses trematódeos levam a doenças de importância na saúde pública e na medicina veterinária como esquistossomose, paragonimíase, clonorquíase e fasciolose, além das perdas econômicas causadas pela infecção desses trematódeos nos vertebrados (PINTO; MELO, 2013b). Muitos estudos vêm objetivando descrever os diferentes estágios larvares, principalmente de cercárias, presente em moluscos gastrópodes, com o intuito de entender a biodiversidade dos moluscos alvos e associar os tipos larvares com as formas adultas presentes no hospedeiro definitivo (OHLWEILER *et al.*, 2013; PINTO; MELO, 2013a; RODRIGUES *et al.*, 2017; SILVA; MELO, 2013; SOUZA; MELO, 2012).

No Brasil, o primeiro relato desse tipo de estudo data no início do século XX, pelo Dr. Augusto Pirajá da Silva, em Salvador-BA, no qual observou-se a liberação de larvas de trematódeos em espécime de *Biomphalaria glabrata* (Paraense, 1972), descrevendo-a como Cercária blanchardi, e anos após, as larvas foram associadas ao trematódeo *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907) (PINTO; MELO, 2013b). A partir daí, diferentes tipos cercarianos de trematódeos foram descritos infectando moluscos no Brasil (PINTO; MELO, 2013a), observando uma maior frequência de tipos como Xifidiocercária, Cercária Equinóstoma,

Cercária Magnacauda, Cercária Gimnócefala, Estrigeocarcária, Cercária Ocelífera (CARRAMÃO; GUIMARÃES, 2021; SILVA; MELO, 2013), sendo estes encontrados principalmente em espécies de moluscos da família Planorbidae, Lymnaeidae, Ampullariidae (SILVA; MELO, 2013; SOUZA; MELO, 2012), Physidae e Thiaridae (CARRAMÃO; GUIMARÃES, 2021).

A forma de identificação se baseia no tipo de movimentação, no tamanho das cercárias, na presença ou ausência de estruturas como estiletos, espinhos, concreções, pré-faringe e cauda furcada, na posição de órgãos como faringe, ceco e ocelos, como também, na quantidade e tamanho das células presente em toda extensão da cauda (SILVA; MELO, 2013; SOUZA; MELO, 2012). Apesar do estudo morfológico das cercárias não possibilitar a identificação específica dos parasitos, fornece informações sobre possíveis famílias de trematódeos, potenciais hospedeiros definitivos e prováveis mecanismos de transmissão, auxiliando em estudos mais específicos (PINTO; MELO, 2013b).

Nesse contexto, esta revisão tem como objetivo apresentar as diferentes formas de cercárias de trematódeos digenéticos relatadas em moluscos aquáticos dulcícolas.

2 FORMAS LARVARES DE TREMATÓDEOS

No ciclo dos trematódeos digenéticos podem ser observados sete estágios de vida: o adulto, ovo, miracídio, esporocisto, rédia, cercária e metacercárias (TOLEDO *et al.*, 2014). Numa ênfase ao ciclo aquático, no hospedeiro definitivo o parasito adulto alcança a maturidade e realiza produção de milhares de ovos, esses ovos no ambiente aquático darão origem a formas larvares denominadas de miracídios, sendo nessa fase em que o molusco gastrópode aquático se infecta a partir da penetração ativa do miracídio (ESCH; BARGER; FELLIS, 2002).

Os miracídios são larvas ciliadas que apresentam uma intensa atividade natatória e contém um comportamento de fototropismo positivo para se guiar, além disso dependendo do tipo de trematoda em questão o miracídio irá apresentar características específicas de cada espécie (ESCH; BARGER; FELLIS, 2002; OTTILINA, 1957; SUKHDEO; SUKHDEO, 2004). Ottilina (1957) retrata de forma detalhada em seu trabalho às características da forma larvar miracidial de *S. mansoni*, como a forma cilíndrica, a papila apical na extremidade (terebratorium) onde são encontradas as glândulas adesivas, as terminações da glândula de penetração e terminações nervosas, células germinativas e as células secretoras, entre outras mais diversas estruturas.

No molusco o miracídio irá sofrer diversas divisões celulares e se desenvolver em esporocisto, uma ou duas gerações, e em seguida em rédias. A rédia é uma forma que se alimenta diretamente dos tecidos do hospedeiro intermediário, e são bastante distintas dos esporocistos por possuírem boca, faringe e intestino primitivo (ESCH; BARGER; FELLIS, 2002; SUKHDEO; SUKHDEO, 2004). Após um certo período a rédia resultará na produção de milhares de cercárias por um processo de poliembrião, sendo essas cercárias organismos de vida livre com cauda que abandonam os moluscos, além disso por não serem capazes de se alimentar possuem uma reserva de glicogênio em sua estrutura (ALEMU, 2019; COELHO *et al.*, 2008; ESCH; BARGER; FELLIS, 2002).

Em geral as cercárias apresentam corpo ovalado ou alongado e uma cauda simples ou bifurcada, estrutura na qual se perde após a penetração do segundo hospedeiro intermediário/definitivo ou encistamento, transformando-se em metacercárias na maioria dos ciclos de trematódeos digenéticos (COELHO *et al.*, 2008; SUKHDEO; SUKHDEO, 2004; TRINDADE *et al.*, 2022). Morfologicamente as larvas de cercárias possuem diversas estruturas, como duas ventosas (maioria) cuja disposição depende da espécie do trematódeo, o sistema digestório composto por boca, pré-faringe, faringe e esôfago, glândulas de penetração, órgãos sensoriais e pode conter algumas estruturas acessórias no corpo, por exemplo espinhos e estiletos. Em espécies que se encistam são observadas células cistogênicas (TRINDADE *et al.*, 2022).

A maioria dos ciclos dos trematódeos necessita de um segundo hospedeiro intermediário, onde é formada a metacercária, na qual o hospedeiro definitivo adquire através da ingestão do segundo hospedeiro intermediário. Contudo, nem todos os ciclos seguem esse padrão de transmissão, podendo ocorrer das cercárias penetrarem a pele do hospedeiro definitivo, como no caso de *S. mansoni*, e ainda havendo a formação de metacercárias em substrato sólido ou na película d'água, como por exemplo no ciclo de *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758), em que o hospedeiro definitivo ingere as metacercárias em alimentos contaminados e em seu interior desenvolve a forma juvenil e adulta no trato biliar, por onde ocorrerá a liberação dos ovos posteriormente, e eliminação nas fezes do hospedeiro (ESCH; BARGER; FELLIS, 2002; GOMES, 2012).

As metacercárias são uma forma sexualmente imatura que ao ser ingerida pelo hospedeiro definitivo do trematódeo em questão, migra para o local específico no organismo em que se desenvolve até o amadurecimento sexual chegando na fase adulta (COELHO *et al.*, 2008; ESCH; BARGER; FELLIS, 2002; GOMES, 2012).

Com o objetivo de ilustrar as formas larvares encontradas em ciclos de moluscos dulcícolas, a Figura 1 representa as formas evolutivas presentes no ciclo do trematódeo *F. hepatica*, juntamente com as principais características morfológicas de cada fase deste trematoda digenético.

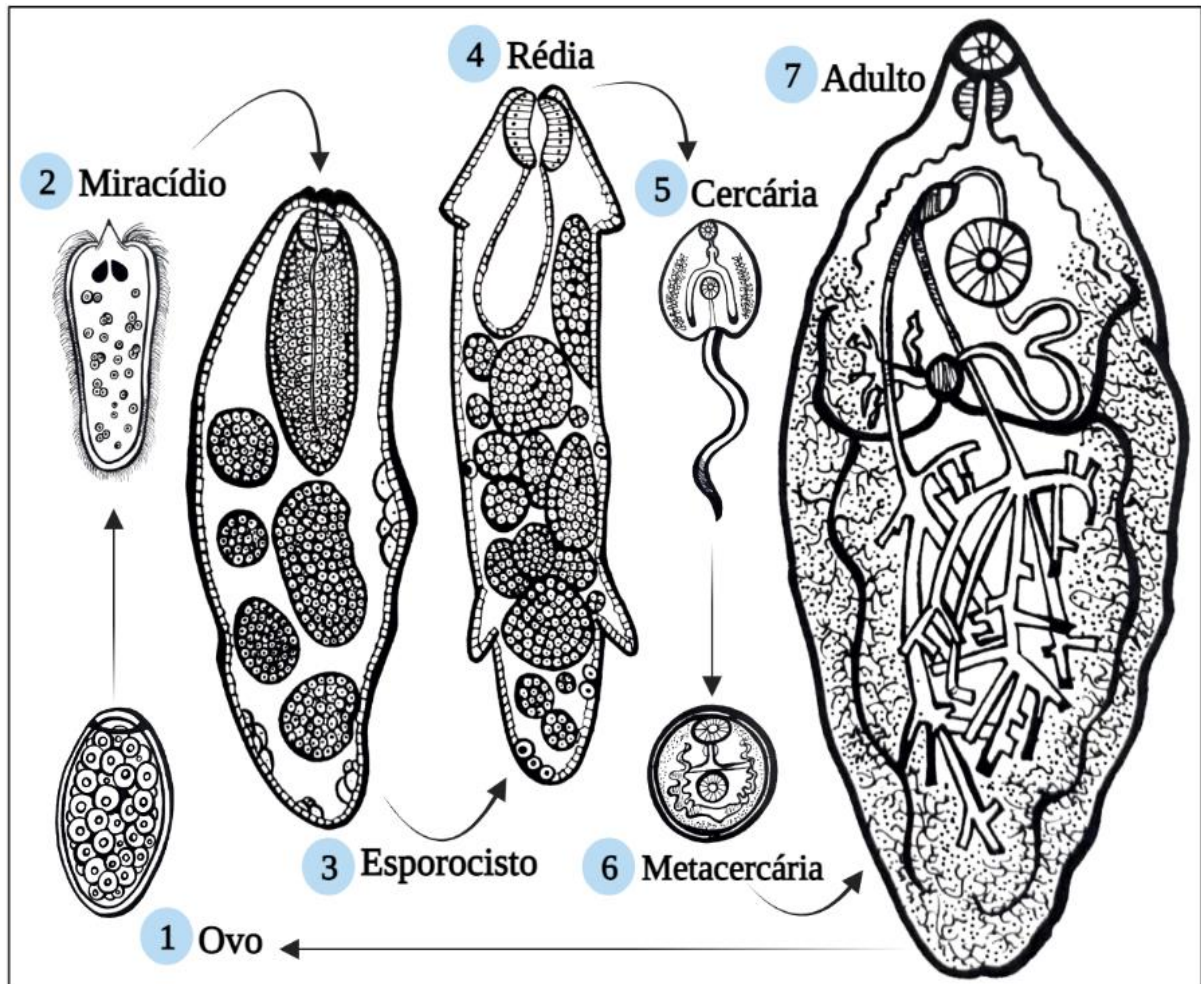


Figura 1 - Esquema ilustrativo das formas larvares encontradas no ciclo de *Fasciola hepatica*.

Fonte: O autor.

3 TIPOS CERCARIANOS ENCONTRADOS EM MOLUSCOS AQUÁTICOS

Os principais tipos cercarianos que serão mencionados, utilizam um molusco aquático como hospedeiro intermediário para o desenvolvimento larval dos trematódeos e assim completar o ciclo biológico destes platelmintos (PINTO; MELO, 2013b).

3.1 ANFISTOMA (*Amphistome*)

Segundo Pinto e Melo (2013b) anfistoma são larvas encontradas em moluscos pulmonados aquáticos, produzidas a partir de rédias em representantes do grupo Paramphistomoidea, com importância veterinária, principalmente para ruminantes. A larva foi descrita em mamíferos ruminantes e em aves e se encistam em substratos no meio externo ao seu hospedeiro intermediário, como concha de molusco, tegumento de girinos, crustáceo ou vegetação (CARRAMÃO; GUIMARÃES, 2021). Para identificação morfológica dessas larvas segundo a chave taxonômica é necessário a presença de ventosa ventral na região posterior do corpo, ventosa oral na região anterior e cauda simples com espessura média em relação a espessura do corpo, a Figura 2A traz uma representação esquemática deste tipo cercariano (PINTO; MELO, 2013b). Segundo Carramão e Guimarães (2021) e Martorelli *et al.* (2013) houveram registros de Anfistoma em *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1835).

3.2 CISTÓFORA (*Cystophorous*)

As larvas cistóforas são encontradas em moluscos gastrópodes de água doce, produzidas em rédias de trematódeos digenéticos da família Hemiuridae, que quando adultos parasitam peixes, anfíbios e raramente répteis (FONSECA *et al.*, 2022). Essas larvas foram descritas em *Biomphalaria alexandrina* (Ehrenberg, 1831) e para a identificação morfológica de sua fase larval é preciso a observação de ventosa oral e ventral, cauda com bulbo em forma de cisto com a presença de apêndice (Figura 2B) (LOTFY; LOTFY; KHALIFA, 2017).

3.3 EQUINOSTOMA (*Echinostome*)

Equinostoma são as larvas encontradas em moluscos gastrópodes, produzidas por espécies das famílias Echinostomatidae e Psilostomidae. Após as cercárias emergirem, encistam-se em moluscos, anfíbios ou peixes. Os indivíduos adultos parasitam diversas classes de vertebrados, inclusive são encontrados em seres humanos no continente asiático. A identificação morfológica da forma larval acontece através da presença de cauda de tamanho igual ou maior que o corpo (Figura 2C). É possível visualizar ventosa ventral e colar cefálico, um colar de espinhos em torno da ventosa oral (PINTO; MELO, 2012).

Moluscos *Pseudosuccinea columella* (Say, 1817) foram relatados como sendo

naturalmente infectados com *Echinostoma caproni* (LOTFY; LOTFY; KHALIFA, 2017). Também foram descritas larvas do tipo equinostoma em *B. glabrata* (SOUZA; MELO, 2012), *B. tenagophila* (CARRAMÃO; GUIMARÃES, 2021), e *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) (MARTORELLI *et al.*, 2013).

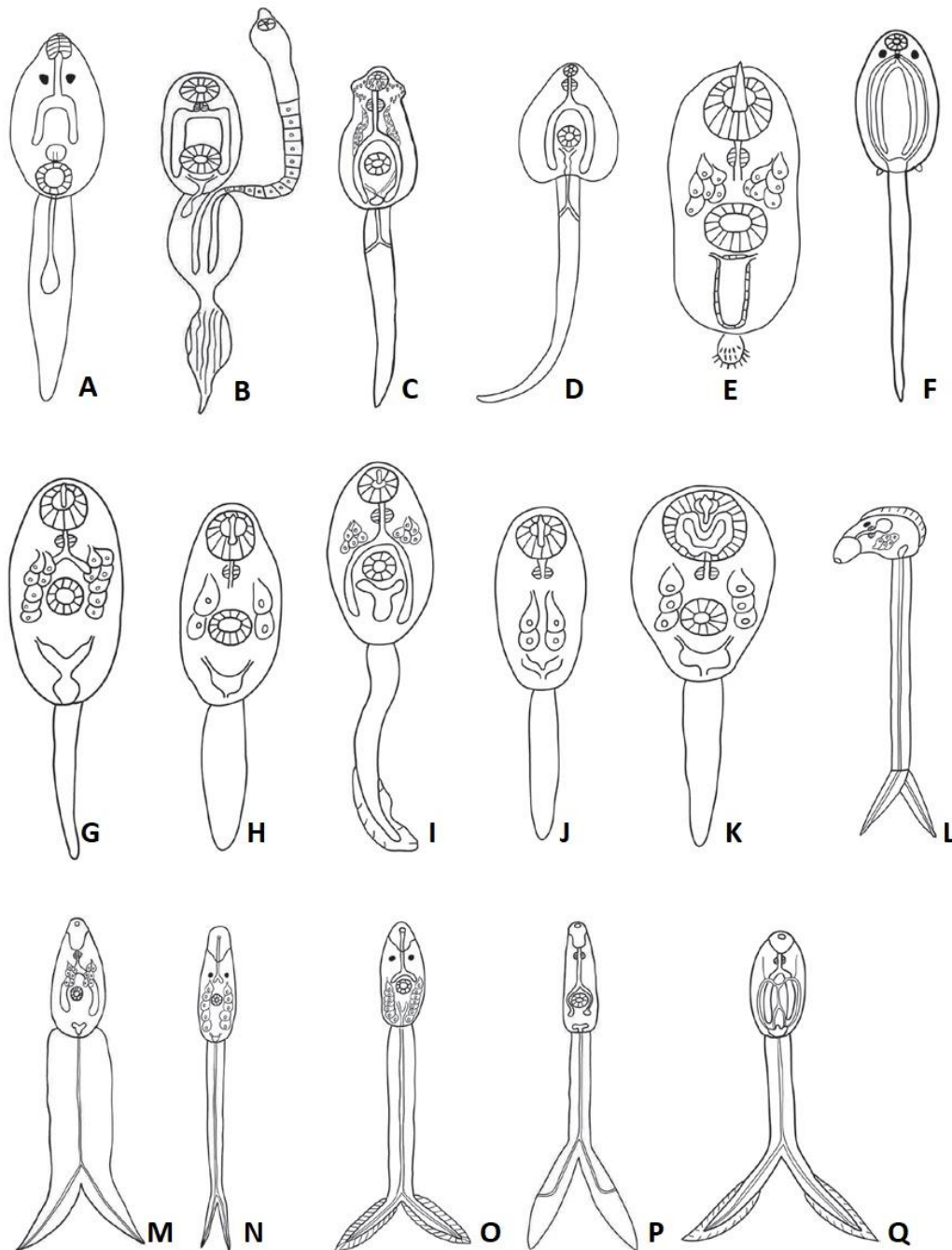


Figura 2 - Principais tipos cercarianos encontrados em moluscos dulcícolas no Brasil: (A) Anfistoma, (B) Cistófora, (C) Equinostoma, (D) Gimnocéfala, (E) Microcerca, (F) Monostoma, (G-K) Xifidiocercária, (G) Grupo Armata, (H) Grupo Microcotile, (I) Grupo Ornata, (J) Grupo Ubiquita, (K) Grupo Virgulata, (L) Distoma brevifurcada faringeada, (M) Distoma brevifurcada faringeada com tronco caudal largo, (N, O) Distoma brevifurcada afaringeada, (P) Distoma longifurcada faringeada, (Q) Monostoma longifurcada faringeada.

Fonte: Adaptado de Pinto e Melo (2013b).

3.4 GIMNOCÉFALA (*Gymnocephalous*)

As larvas gimnocéfalas são encontradas em diferentes espécies de gastrópodes, geralmente as rédias são produzidas em várias famílias de trematódeos. Entre elas se encontram as cercárias da família Fasciolidae que necessitam de um substrato sólido para se fixar. A cercária do tipo gimnocéfala indicada na Figura 2D é caracterizada pela presença de cauda simples e lisa, maior que seu corpo, e ventosa ventral com maior diâmetro que a ventosa oral (SOUZA; MELO, 2012).

Segundo Souza e Melo (2012) foram registradas larvas do tipo gimnocéfalas em *B. glabrata* em Mariana, Minas Gerais. Também foi identificado por Lotfy, Lotfy e Khalifa (2017) nos espécimes *B. alexandrina*, *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758) e *P. columella*.

3.5 MICROCERCA (*Microcercous*)

As microcercas são larvas encontradas em moluscos prosobrânquios, sendo produzidas por rédias representantes da família Paragonimidae, em especial por *Paragonimus westermani* (Kerbert, 1878), parasito pulmonar de humanos no continente asiático. Suas metacercárias são encontradas em artrópodes. E algumas espécies também possuem este tipo cercariano, como da família Dicrocoelidae, destacando *Eurytrema coelomaticum* (Giard & Billet, 1892). É possível identificar este tipo cercariano Figura 2E através do seu formato arredondado, presença de ventosa oral e ventral, e cauda curta em forma de protuberância ou xícara (PINTO; MELO, 2013b). As larvas do tipo microcerca foram relatadas na Tailândia no molusco *Hydrobioides nassa* (Theobald, 1865) (TAPDARA *et al.*, 2022). Pinto e Melo (2016), relacionaram este tipo cercariano em *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) envolvidos no ciclo de *E. coelomaticum*.

3.6 MONOSTOMA (*Monostome*)

Monostoma são cercárias encontradas em gastrópodes aquáticos, produzidas em rédias por espécies de trematódeos da família Notocotylidae, parasitos de mamíferos e aves, e Pronocephalidae, parasitos de quelônios. As metacercárias são formadas em película d'água ou substrato sólido. Para identificar essa larva é necessário observar a presença de ventosa oral pequena, cauda delgada e mais longa que o corpo (Figura 2F) (MARTORELLI *et al.*, 2013). As larvas do tipo monostoma foram relatadas em *B. alexandrina* no Egito (LOTFY; LOTFY;

KHALIFA, 2017) e *B. tenagophila* no rio Uruguai, Rio Grande do Sul (MARTORELLI *et al.*, 2013).

3.7 XIFIDIOCERCÁRIA (*Xiphidiocercaria*)

O tipo cercariano dito xifidiocercária é encontrado em moluscos gastrópodes aquáticos e as metacercárias deste grupo são formadas principalmente em larvas de insetos aquáticos (odonata, díptera, coleóptera) ou em anfíbios (PINTO; MELO, 2013b). A larva é caracterizada principalmente pela presença de um estilete na extremidade anterior da ventosa oral (Figura 2G-K) (PAVIOTTI-FISCHER *et al.*, 2018). Este tipo cercariano foi registrado por Miranda *et al.* (2016) em moluscos do gênero *Pomacea* (Perry, 1810) e *Physa* (Draparnaud, 1801), após serem deixados em câmara escura, na região metropolitana da ilha do Maranhão. Foi descrito também em *B. glabrata* e *Physa marmorata* (Guilding, 1828) por Souza e Melo (2012) em Mariana, Minas Gerais, com um índice de positividade de 0,18% e 0,08%, respectivamente.

Segundo Lutz (1919) e Miranda *et al.* (2016), o grupo das xifidiocercárias é o mais abundante no Brasil e subdivide-se nos grupos: grupo armata (*Armatae*), grupo microcotile (*Microcotilous*), grupo ornata (*Ornatae*), grupo ubiquita (*Ubiquita*) e grupo virgulata (*Virgulate*) (PINTO; MELO, 2013b).

3.7.1 Grupo armata (*Armatae*)

Cercárias do grupo armata foram registradas em diferentes famílias como Plagiorchiidae (parasitos de todas as classes de vertebrados), Telorchiidae (parasitos de anfíbios e répteis) e Reniferidae (parasitos de répteis). Apresentam ventosas de mesmo tamanho e cauda sem membrana natatória (Figura 2G) (PINTO; MELO, 2013b). Mereta *et al.* (2019), ao pesquisarem a distribuição de hospedeiros intermediários de água doce e taxas de infecção cercarial na Bacia do Rio Omo-Gibe, no sudoeste da Etiópia, relatam xifidiocercária armatae em *Lymnaea natalensis* (Krauss, 1848). No Brasil, Cantanhede *et al.* (2014) relataram a presença deste tipo cercariano no Maranhão, em *Pomacea maculata* (Perry, 1810), *P. marmorata* e *B. glabrata*; Fernandez *et al.* (2018) observaram em *B. tenagophila* e *Drepanotrema lucidum* (Pfeiffer, 1839), em uma hidroelétrica no Rio Paraíba do Sul, no Sudeste do Brasil, nos estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais.

3.7.2 Grupo microcotile (*Microcotilous*)

O grupo microcotile apresenta cercárias encontradas em diferentes famílias como Eumegacetidae, parasitos de aves (PINTO; MELO, 2013b). São cercárias muito pequenas com corpo menor que 200 µm de comprimento, com ventosa ventral pós equatorial, que é menor em tamanho do que a ventosa oral e está situada atrás do corpo e uma cauda sem dobra de barbatana, não muito diferente em comprimento do corpo (KUDLAI; STUNZENAS; TKACH, 2015) (Figura 2H). O grupo microcotile foi identificado em *Pomacea* sp. por Miranda *et al.* (2016).

3.7.3 Grupo ornata (*Ornatae*)

Por sua vez o grupo ornata apresenta larvas produzidas por representantes das famílias Macroderoididae (parasitos intestinais de peixes, anfíbios e répteis) e Haplometridae (parasitos pulmonares de anfíbios) (PINTO; MELO, 2013b; SOUZA; MELO, 2012). Esse tipo cercariano foi descrito por Miranda *et al.* (2016) em *Physa* sp., a qual foi classificado como pertencente ao grupo ornata, por apresentar estilete na ventosa oral e aleta caudal (Figura 2I). Boaventura *et al.* (2002), em um estudo realizado na microrregião do Rio de Janeiro, também relataram o encontro de nove exemplares de *P. marmorata*, sendo que dois eliminaram xifidiocercárias do grupo ornata (índice de positividade de 22,2%). Cantanhede *et al.* (2014) descreveram espécimes de *D. lucidum* como hospedeiros intermediários desta cercária no Maranhão e Fernandez *et al.* (2018) em *B. tenagophila* e *P. columella* no Rio Paraíba do Sul, no Sudeste do Brasil.

Ainda sobre o grupo ornata, Paviotti-Fischer *et al.* (2018) ao coletarem e analisarem espécimes de *P. columella*, coletados de plantações urbanas de agrião, recuperaram o tipo cercariano xifidiocercaria ornatae, e as descreveram morfológicamente com presença de ventosa oral anterior evidente e cauda alongada, acetábulo localizado na região médio-posterior do corpo, estilete bem desenvolvido localizado acima e atrás da ventosa oral. A região da cauda contém uma projeção tegumentar formando a dobra da nadadeira, essa membrana começa no terço médio da cauda e chega até o final.

3.7.4 Grupo *ubiquita* (*Ubiquita*)

O grupo *ubiquita* (*ubiquita*) é composto por cercárias de espécies da família Microphallidae e parasitam o intestino de aves. As metacercárias são formadas em crustáceos ou no próprio molusco hospedeiro intermediário. Apresentam ventosa ventral ausente ou vestigial (Figura 2J) (PINTO; MELO, 2013b). Cantanhede *et al.* (2014) recuperaram este tipo cercariano em *D. lucidum* e *P. maculata* no Maranhão e Fernandez *et al.* (2018) em *B. tenagophila* e *Pomacea* sp. no Rio de Janeiro e em Minas Gerais.

3.7.5 Grupo *virgulata* (*Virgulate*)

Este tipo cercariano contém representantes da família Lecithodendridae, que são parasitos intestinais de quirópteros e formam metacercárias em insetos. Apresentam órgão vírgula na ventosa oral e cauda menor do que o corpo (Figura 2K) (PINTO; MELO, 2013b). No Brasil, Fernandez *et al.* (2018) relataram *virgulata* em *B. tenagophila*, porém em outros países como em Filipinas, esse tipo cercariano foi encontrado em outras espécies de moluscos, como descreveram Gregorio *et al.* (2018) em Batangas, onde as cercárias foram coletadas de *Lymnaea (radix) quadrasi* (Montfort, 1810) e Paller *et al.* (2019) em Laguna, que descreveram este grupo extraído do molusco *Radix rubiginosa* (Michelin, 1831).

3.8 DISTOMA BREVIFURCADA FARINGEADA (*Brevifurcate pharyngeate distome*)

São cercárias encontradas em moluscos gastrópodes, sendo produzidas em rédias por representantes da família Clinostomidae, parasitos da cavidade oral de aves, com as metacercárias formadas em peixes. Apresentam tronco caudal estreito, corpo com membrana natatória dorsal, ceco em forma de bulbo e com ocelos (Figura 2L). Casos de infecção acidental de seres humanos por espécies de *Clinostomum* foram relatados (PINTO; MELO, 2013b).

3.9 DISTOMA BREVIFURCADA FARINGEADA COM TRONCO CAUDAL LARGO (*Brevifurcate pharyngeate distome with swollen tailstem*)

São encontradas em moluscos planorbídeos, sendo produzidas em esporocistos por espécimes de Apharyngostrigea (Strigeidae), por não possuírem a fase de rédia. Metacercárias

são formadas na cavidade abdominal de peixes. Apresentam tronco caudal largo, cecos longos e sem ocelos pigmentados (Figura 2M) (PINTO; MELO, 2013b).

3.10 DISTOMA BREVIFURCADA AFARINGEADA (*Brevifurcate apharyngeate distome*)

Cercárias dependentes dos moluscos gastrópodes, representantes das famílias Schistosomatidae, parasitos do sistema circulatório de aves e mamíferos, e Spirorchiidae, parasitos sanguíneos de quelônios. A transmissão ocorre por penetração das larvas na pele ou mucosas dos hospedeiros definitivos (PINTO; MELO, 2013b). Souza e Melo (2012) descrevem morfologicamente o tipo cercariano como: ventosa oral oval; musculatura radial imperceptível; ventosa ventral esférica, menor que a ventosa oral, situada na região subequatorial do corpo; esôfago curto, bifurcado anteriormente aos ocelos; cecos curtos terminando próximo à ventosa ventral e faringe ausente. Cauda longa, com numerosas células e furca típica das cercárias brevifurcadas (Figura 2N-O). O tipo cercariano foi relatado nos planorbídeos *B. glabrata* em Mariana, Minas Gerais (SOUZA; MELO, 2012) e no Maranhão (MIRANDA *et al.*, 2016); em *B. Pfeifferi* na Etiópia (MERETA *et al.*, 2019) e em *B. tenagophila* no Rio de Janeiro e Minas Gerais (FERNANDEZ *et al.*, 2018). Cantanhede *et al.* (2014) trouxeram o gastrópode ampulário *P. maculata* como também hospedeiro intermediário.

3.11 DISTOMA LONGIFURCADA FARINGEADA (*Longifurcate pharyngeate distome*)

São tipos cercarianos representantes das famílias Diplostomidae e Strigeidae, parasitos intestinais de aves e mamíferos, encontradas em moluscos gastrópodes, sendo produzidas em esporocistos e suas metacercárias são formadas em anelídeos, peixes, moluscos ou anfíbios (PINTO; MELO, 2013b). Souza e Melo (2012) observaram este tipo cercariano em *B. glabrata* e a descreveram morfologicamente com o comprimento do corpo cerca de duas vezes maior que a largura; ventosa oral arredondada pouco menor que a ventosa ventral e situada na porção subterminal do corpo; ventosa ventral esférica, um pouco acima da região equatorial do corpo; faringe curta e estreita; esôfago longo bifurcado antes da ventosa ventral; cecos ultrapassam a ventosa ventral. Cauda longifurcada, com numerosas células em sua extensão: apresenta um canal excretor na região mediana, que percorre toda a extensão (Figura 2P). Zanardi (2018) também relatou o molusco *B. glabrata* albergando este tipo cercariano na Lagoa do Urubu presente no Distrito Sanitário de Pau da Lima, Salvador, Bahia. O planorbídeo da espécie *B.*

pfeifferi também foi descrito como hospedeiro por Mereta *et al.* (2019) e o limineídeo *L. R. quadrasi* por Gregorio *et al.* (2018), na Etiópia e Filipinas, respectivamente.

3.12 DONOSTOMA LONGIFURCADA FARINGEADA (*Longifurcate pharyngeate monostome*)

Tipo cercariano encontradas em moluscos gastrópodes e metacercárias que se desenvolvem em peixes e anfíbios, sendo produzidas em esporocistos por representantes da família Yatocotyliidae, parasitos intestinais de aves e mamíferos. Apresentam ventosa ventral vestigial ou ausente e dois pares de ductos excretores coletores (PINTO; MELO, 2013b) (Figura 2Q).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O grupo dos trematódeos digenéticos apresenta uma ampla variedade de espécies e, devido a sua importância significativa na medicina veterinária e na saúde única e a característica de seus ciclos de vida envolverem obrigatoriamente moluscos gastrópodes, conhecer os tipos cercarianos presentes nestes moluscos se torna de suma importância científica.

A descrição da presença de cercárias em trematódeos é registrada desde o século XX em diversos trabalhos que certificaram a participação dos moluscos na transmissão desses platelmintos, entretanto, em muitas pesquisas, a larva encontrada não era associada ao trematódeo adulto.

A identificação dos tipos cercarianos, bem como das espécies de moluscos suscetíveis, possibilita não só conhecer a diversidade de espécies de trematódeos presente em cada local, mas também contribui para reforçar os estudos a respeito das cercárias, suas morfologias e as interações parasito-hospedeiro.

5 REFERÊNCIAS

ALEMU, B. Bovine fasciolosis in Ethiopia. A review. **Journal of Veterinary and Animal Research**, v. 2, n. 2, p. 1-11, 2019.

BOAVENTURA, M. F. *et al.* Formas larvais de Trematoda provenientes de gastrópodes límnicos da microrregião Rio de Janeiro, sudeste do Brasil. **Lundiana**, v. 3, n. 1, p. 45-49, 2002.

- CANTANHEDE, S. P. D. *et al.* Freshwater gastropods of the Baixada Maranhense Microregion, an endemic area for schistosomiasis in the State of Maranhão, Brazil: I - qualitative study. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 1, p. 79-85, 2014.
- CARRAMÃO, N. J. Z; GUIMARÃES, M. C. A. Trematódeos emergentes de moluscos dulciaquícolos coletados em valas, no município de Peruíbe, estado de São Paulo, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 12, n. 1, p. 1-10, 2021.
- COELHO, P. M. Z. *et al.* Evolução de *Schistosoma mansoni* no hospedeiro intermediário. In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. **Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2008, p. 147-160.
- ESCH, G. W.; BARGER, M. A.; FELLIS, K. J. The transmission of digenetic trematodes: style, elegance, complexity. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, n. 2, p. 304-312, 2002.
- FERNANDEZ, M. A. *et al.* Snail transmitters of schistosomiasis and other mollusks of medical and economic importance at the simplício queda única hydroelectric plant, Southeast Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 05, p. 689-694, 2018.
- FONSECA, M. C. G. *et al.* Hemiurid and lecithasterid digenetic trematodes and camallanid and cucullanid nematodes parasitizing flounders collected off the coast of Rio de Janeiro State, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 31, n. 1, p. 1-18, 2022.
- GOMES, C. A. V. C. **Fasciolose em bovinos de engorda**. 2012. 84f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2012.
- GREGORIO L. *et al.* Morphological characterization of emerging cercariae among lymnaeid snails from Barangay Cawongan, Padre Garcia, Batangas, Philippines. **Journal of Parasitology Research**, p. 1- 13, 2018.
- KUDLAI, O; STUNZENAS, V; TKACH, V. The taxonomic identity and phylogenetic relationships of *Cercaria pugnax* and *C. helvetica* XII (Digenea: Lecitho-dendriidae) based on morphological and molecular data. **Folia Parasitology**, v. 1, n. 62, p. 1-7, 2015.
- LEÓN, G. P. P. de; HERNÁNDEZ-MENA, D. I. Testing the higher-level phylogenetic classification of Digenea (Platyhelminthes, Trematoda) based on nuclear rDNA sequences before entering the age of the 'next-generation' Tree of Life. **Journal of Helminthology**, v. 93, n. 3, p. 260-276, 2019.
- LOTFY, W.; LOTFY, L.; KHALIFA, R. An overview of cercariae from the Egyptian inland water snails. **Journal of Coastal Life Medicine**, v. 5, n. 12, p. 562-574, 2017.
- LUTZ, A. *Schistosoma mansoni* e a schistosomatose segundo observações feitas no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 11, n. 3201, p. 121-155, 1919.

- MARTORELLI, S. *et al.* Larval digeneans in *Biomphalaria* snails from the Salto Grande Dam area in the Uruguay River. **Laboratório de Helmintos y Parasitos de Crustáceos del CEPAVE**, v.13, p. 1-13, 2013.
- MERETA, S. T. *et al.* Environmental determinants of distribution of freshwater snails and trematode infection in the Omo Gibe River Basin, southwest Ethiopia. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 8, n. 93, p. 1-10, 2019.
- MIRANDA, G. S. *et al.* Moluscos límnicos como hospedeiros de trematódeos digenéticos de uma região metropolitana da ilha do Maranhão, Brasil. **Scientia Plena**, v. 12, n. 9, p. 1-11, 2016.
- OHLWEILER, F. P. *et al.* Larvas de trematódeos associadas a moluscos de água doce em municípios da Região Metropolitana de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 4, n. 3, p. 12-12, 2013.
- OTTILINA, C. El miracidio del *Schistosoma mansoni*. anatomia, citologia, fisiologia. **Revista de Sanidad y Asistencia Social**, v. 22, n. 1-4, p. 1-411, 1957.
- PALLER, V. G. V. *et al.* Cercarial fauna of freshwater snails in selected agricultural areas in Laguna, Philippines. **Helminthologia**, v. 56, n. 1, p. 81-86, 2019.
- PAVIOTTI-FISCHER, E. *et al.* Xiphidiocercariae from naturally infected *Lymnaea columella* (Mollusca, Gastropoda) in urban area: morphology and ultrastructure of the larvae and histological changes in the mollusc host. **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. 3, p. 446-451, 2018.
- PINTO, H. A.; MELO, A. L. A checklist of cercariae (Trematoda: Digenea) in molluscs from Brazil. **Zootaxa**, v. 3666, n. 4, p. 449-475, 2013a.
- PINTO, H. A.; MELO, A. L. Comments on human eurytremiasis in Brazil. **World Journal of Experimental Medicine**, v. 20, n. 6, p. 55-57, 2016.
- PINTO, H. A.; MELO, A. L. Larvas de trematódeos em moluscos do Brasil: panorama e perspectivas após um século de estudos. **Journal of Tropical Pathology**, v. 42, n. 4, p. 369-386, 2013b.
- PINTO, H. A.; MELO, A. L. *Physa marmorata* (Mollusca: Physidae) as intermediate host of *Echinostoma exile* (Trematoda: Echinostomatidae) in Brazil. **Neotropical Helminthology**, v. 6, n. 2, p. 291-299, 2012.
- RODRIGUES, J. G. M. *et al.* Larvas de trematódeos de *Biomphalaria* spp.(Gastropoda: Planorbidae) de dois municípios do leste da Amazônia Legal brasileira. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 8, n. 3, p. 1-8, 2017.
- SILVA, R. E.; MELO, A. L. de. Caracterização de larvas de trematódeos emergentes de moluscos de água doce coletados na bacia hidrográfica do Lago Soledade, Ouro Branco, Minas Gerais, Brasil. **Lundiana: International Journal of Biodiversity**, v. 11, n. 1, p. 21-33, 2013.

SOUZA, M. A. A.; MELO, A. L. Characterization of larval trematodes emerging from gastropod mollusks collected in Mariana, Minas Gerais, Brazil. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 102, n. 1, p.11-18, 2012.

SUKHDEO, M. V. K.; SUKHDEO, S. C. Trematode behaviours and the perceptual worlds of parasites. **Canadian Journal of Zoology**, v. 82, n. 2, p. 292-315, 2004.

TAPDARA, S. *et al.* Trematode infection in a freshwater snail *Hydrobioides nassa* (Gastropoda: Bithyniidae) in Thailand. **Helminthologia**, v. 59, n. 1, p. 111-116, 2022.

TOLEDO, R. *et al.* History of echinostomes (Trematoda). **Acta parasitologica**, v. 59, n. 4, p. 555-567, 2014.

TRINDADE, J. V. F. *et al.* Spiders in Brazil: from arachnidism to potential therapeutic use of their venom part 1 of 2. **Journal of Tropical Pathology**, v. 51, n. 1, p. 1–16, 2022.

ZANARDI, V. S. **Prevalência de infecção de *Biomphalaria glabrata* infectados por *Schistosoma mansoni* em coleções hídricas de Salvador, Bahia, Brasil.** 2018. 78 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Medicina. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Gonçalo Moniz, 2018.



Anatomia externa, alimentação e reprodução de camarões peneídeos

Amanda Soares dos Santos¹
Henrique David Lavander²
Mariana de Oliveira Lima³
Thiago Queiroz Pereira⁴
Maria Aparecida da Silva⁵

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

² Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: henrique.lavander@ifes.edu.br

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: marianadeoliveiralima@outlook.com.br

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

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

1 INTRODUÇÃO

Os camarões peneídeos são espécies ecologicamente diversas, são pelágicos ou bentônicos e alguns ocorrem em água salobra. Apresentam importância comercial significativa na pesca e na aquicultura em todo o mundo, e a maioria é explorada em níveis acima da sustentabilidade (BRUSCA; BRUSCA, 2007; CASTILHO, 2016; DALL *et al.*, 1990; FRANZOZO, 2008; TAVARES; MARTIN, 2010).

De acordo com o último Boletim da FAO, que apresenta o estado mundial da pesca e aquicultura, a produção pesqueira de crustáceos no mundo em 2018 correspondeu a aproximadamente seis milhões de toneladas. Dentro do grupo de maior captura marinha mundial, nomeado como natantia, encontra-se exemplares decápodos, entre eles os peneídeos (FAO, 2020).

Os peneídeos são uma família pertencente ao filo dos artrópodes e que dividem com a família dos sergestídeos (Sergestidae) a subordem Dendrobranchiata (Quadro 1) (BARBIERI JUNIOR; OSTRENSKY NETO, 2001).

Quadro 1 - Taxonomia dos camarões peneídeos.

Filo	Arthropoda
Sub-filo	Crustácea
Classe	Malacostraca
Subclasse	Eumalacostraca
Superordem	Eucarida
Ordem	Decapoda
Subordem	Dendrobranchiata
Superfamília	Penaeoidea
Família	Penaeidae

Fonte: Adaptado de Barbieri Junior e Ostrensky Neto (2001).

Há representantes dessa família em todos os oceanos, sendo a grande maioria estenotérmicos tropicais, e poucas espécies de peneídeos prosperam em temperaturas abaixo de 15°C, habitando águas tropicais e subtropicais rasas e costeiras (BOOS *et al.*, 2016; DALL *et al.*, 1990). No Brasil, os camarões peneídeos tem ocorrência registrada em todos os estados, desde o Amapá até o Rio Grande do Sul (DIAS NETO, 2011).

Os peneídeos apresentam espécies de camarões que estão entre as de maior valor econômico, e estão sujeitas a grande exploração pesqueira, o que torna o conhecimento da biologia e reprodução indispensável, pois a preservação dos estoques naturais submete-se destes conhecimentos (DALL *et al.*, 1990; FRANSOZO, 2008; MARTIN; DAVIS, 2001).

Assim, o objetivo deste capítulo é abordar aspectos sobre a anatomia externa, alimentação e reprodução de camarões peneídeos, contribuindo para o conhecimento biológico dessas espécies e discutir os impactos ambientais decorrentes da pesca e de ações antrópicas que afetam o ciclo de vida destes animais em seu habitat.

2 BIOLOGIA DOS CAMARÕES PENEÍDEOS

2.1 ANATOMIA EXTERNA

Os camarões peneídeos possuem corpo achatado lateralmente, coberto por exoesqueleto composto por quitina, proteínas (composta por aminoácidos essenciais, como isoleucina, leucina, lisina, metionina mais cistina, fenilalanina mais tirosina, treonina, triptofano e valina) e carbonato de cálcio (BARBIERI JUNIOR; OSTRENSKY NETO, 2001; TENUTA FILHO; ZUCAS, 1981). Pelo fato do exoesqueleto ser rígido, estes animais só podem aumentar de tamanho periodicamente, por meio do processo chamado muda, que proporciona a troca do exoesqueleto velho por um novo. O aumento do corpo do animal se dá no momento da ecdise, no qual ocorre elevação da pressão interna causado por uma rápida absorção de água (CASTILHO, 2016). A realização do processo de muda influencia a morfologia, fisiologia e no comportamento dos crustáceos, bem como define os períodos em que ocorrem as várias fases da reprodução (DALL *et al.*, 1990).

Nos peneídeos, a cabeça e o tórax estão fundidos, formando uma estrutura única chamada de cefalotórax, no qual pode-se observar os olhos, o rostro, e a carapaça, que cobre as brânquias, gânglio cerebral, estômago, hepatopâncreas e coração. Após o cefalotórax pode ser observado o abdômen, região onde se concentra a maior parte do músculo do camarão, e possui seis segmentos chamados de somitos até terminar no télson, a parte mais posterior do corpo do animal (Figura 1) (BARBIERI JUNIOR; OSTRENSKY NETO, 2001).

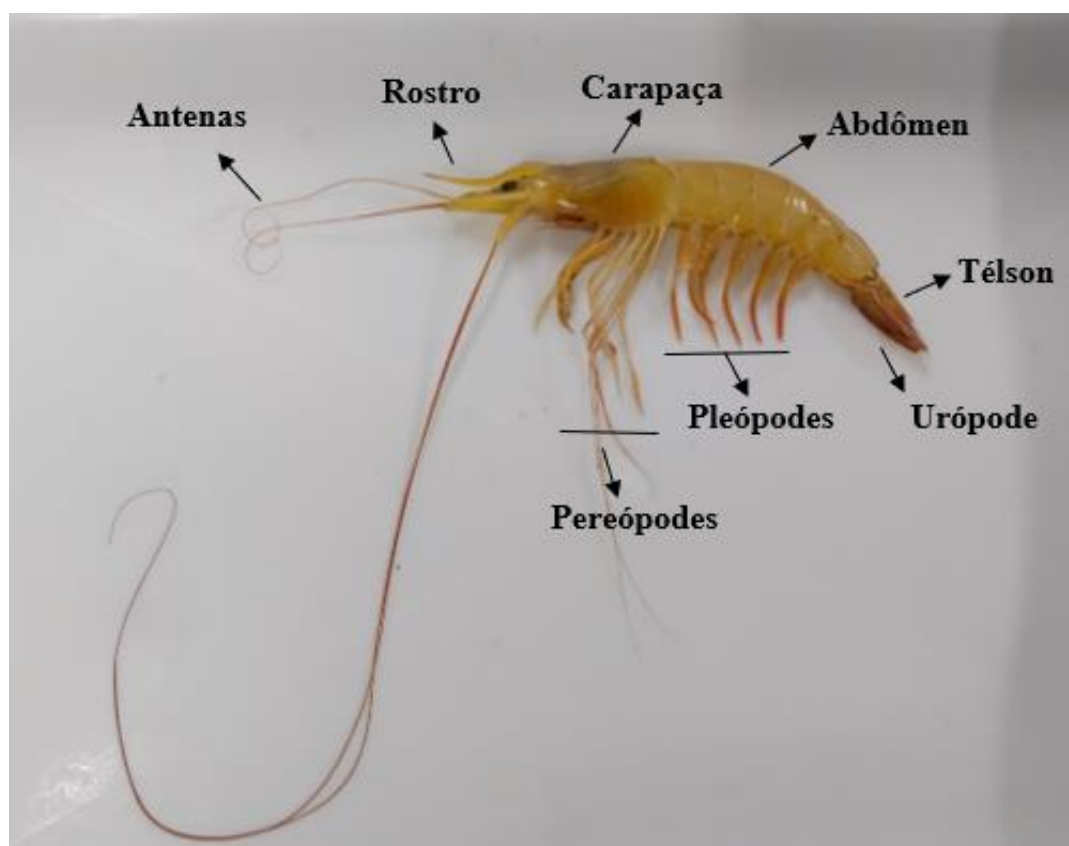


Figura 1 - Anatomia externa de um camarão peneídeo.

Fonte: Os autores.

O rostro é uma estrutura parecida com um espinho, que auxilia na defesa do animal contra possíveis predadores, e um item muito importante que ajuda na identificação das diferentes espécies de peneídeos. Os apêndices localizados no início do cefalotórax possuem atribuições sensoriais e alimentares. Os pereópodes compostos pelos últimos cinco pares de apêndices do cefalotórax, podem apresentar especializações para: andar, nadar, realizar trocas gasosas, alimentação e defesa. Os pleópodes que são cinco pares de apêndices presente no abdômen, são utilizados para nadar. Os urópodes, em conjunto com o télson, formam um leque caudal característico de muitos malacóstracos, também utilizado para defesa. O télson é uma estrutura pontiaguda que fica na porção final do corpo, onde é localizado o ânus do animal (BARBIERI JUNIOR; OSTRENSKY NETO, 2001; BRUSCA; BRUSCA, 2007).

Possuem brânquias dendrobranquiadas (brânquias que se ramificam) e os três primeiros pereópodos quelados com formas e tamanhos parecidos. A pleura do segundo somito abdominal sobrepõe a terceira, mas não a primeira, e estas características são importantes para os diferenciar dos camarões carídeos (COSTA *et al.*, 2003; WOLF, 2014).

2.2 DIMORFISMO SEXUAL

Os peneídeos possuem dimorfismo sexual, no qual nos machos é possível identificar, no primeiro par de pleópodes, o aparelho copulador, identificado como o órgão sexual masculino, chamado de petasma (Figura 2). O petasma é uma estrutura complexa formada a partir de dois ramos internos de apêndices bifurcados, chamados endópodes, que quando os indivíduos atingem a fase de vida adulta, estão unidos nos primeiros pleópodos. Caso os dois apêndices estejam separados, este ainda se caracteriza como indivíduo jovem (DALL *et al.*, 1990; TAVARES; MARTIN, 2010).

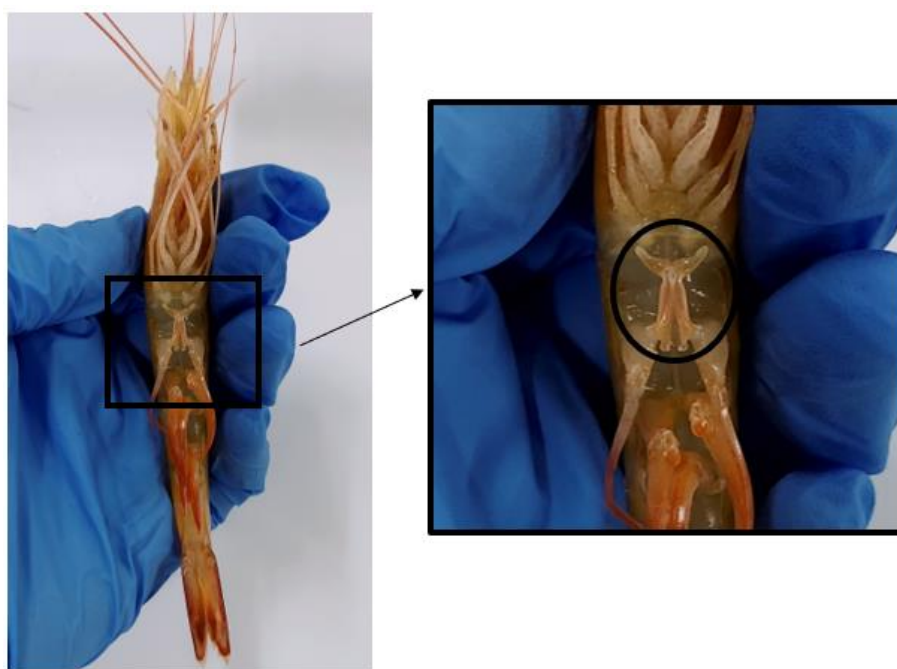


Figura 2 – Região entre o primeiro par de pleópodos (quadrado) onde se localiza o petasma unido (círculo), em um indivíduo macho adulto de peneídeo.

Fonte: Os autores.

O formato do petasma de camarões peneídeos, possui variações entre as espécies, mas tem a forma de Y em sua maioria, e o modo como os endopoditos no primeiro par de pleópodos unem-se é basicamente igual (Figura 3). A união é feita de forma que ocorra o encaixe de minúsculas estruturas, como cerdas entrelaçadas, chamadas de cincinnuli, que são encontradas na face medial de cada endopodito (HASSAN, 1981).



Figura 3 - Petasma de um camarão *Xiphopenaeus* spp., em destaque (seta) pode-se observar o local de união dos endopoditos.

Fonte: Os autores.

Nas fêmeas, entre o quarto e quinto par de pereópodes, há uma estrutura situada ventralmente nomeada como téllico (Figura 4). Este é o local especializado com a função de receber o espermatóforo do macho, no momento da cópula. O téllico pode ser de dois tipos: fechado ou aberto. O aberto contém placas laterais que formam um receptáculo, para que o espermatóforo ser depositado internamente no momento da cópula. Enquanto no fechado, a massa espermática fica disposta sobre o receptáculo e a fertilização ocorre externamente (CRAVEIRO, 2018; DALL *et al.*, 1990; PÉREZ-FARFANTE, 1988).

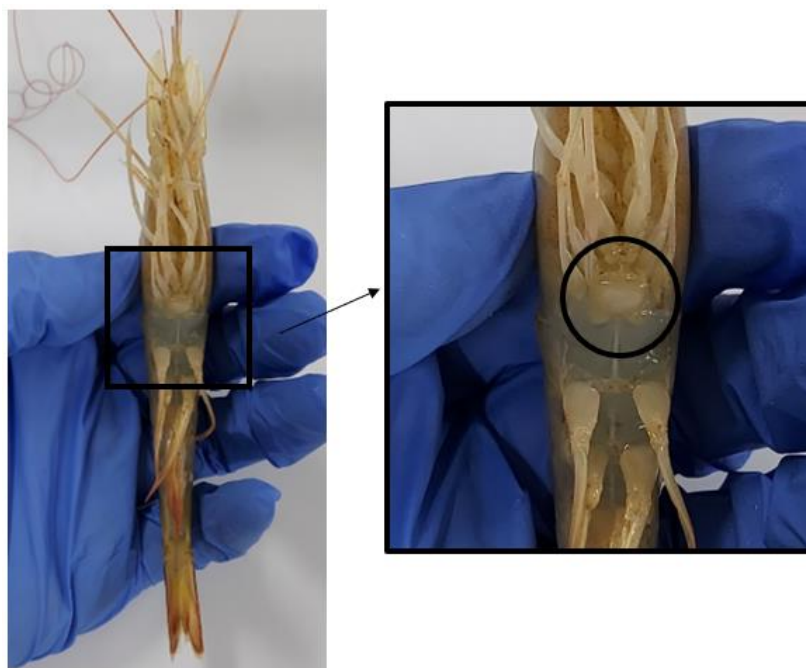


Figura 4 – Região entre o quarto e o quinto par de pereópodo (quadrado) onde localiza-se o téllico (círculo) de um peneídeo fêmea.

Fonte: Os autores.

2.3 ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO

As classificações macroscópicas e microscópicas dos estádios de desenvolvimento gonadal dos camarões peneídeos, são considerados os métodos mais utilizados na descrição dos processos reprodutivos (BOLOGNINI *et al.*, 2017).

Para a análise dos estádios maturacionais das fêmeas, macroscopicamente são definidos a partir da coloração do ovário fresco (Figura 5) em comparação com um catálogo de cores cromáticas disponível. Enquanto, microscopicamente é realizado a observação do tecido das gônadas em microscópio óptico para observação dos ovócitos característicos de cada estágio maturacional (CRAVEIRO, 2018).



Figura 5 – Coloração do ovário fresco em diferentes fases de estádios maturacionais. 1: imaturo, 2: desenvolvimento inicial, 3: desenvolvimento avançado, 4: maduro, 5: desovado.

Fonte: Os autores.

A quantidade de estádios de maturação pode variar conforme a espécie e a definição de cada autor. Campos *et al.* (2009) classificou em quatro estádios de maturação as gônadas do camarão *Xiphopenaeus kroyeri*: estágio I ou imaturo quando a gônada é translúcida; estágio II ou em maturação a gônada apresenta coloração amarela ou esverdeada; estágio III ou madura a gônada possui cor verde oliva; e estágio IV ou desovada a gônada está voltando a ser translúcida. Bolognini *et al.* (2017) classificou em cinco estádios de maturação as gônadas do camarão *Penaeus kerathurus*: imaturo quando os ovários são pequenos e translúcidos; em

desenvolvimento inicial os ovários são maiores e com coloração clara; em desenvolvimento avançado os ovários são maiores e com coloração mediana; maturo os ovários preenchem quase toda cavidade abdominal e possuem coloração bem acentuada; e por último, desovado, os ovários são pequenos, com coloração discreta ou translúcida.

Garcia *et al.* (2021) analisaram o desenvolvimento gonadal de fêmeas do camarão *Penaeus schmitti*, capturados no litoral sul do Espírito Santo, e classificaram em cinco estádios gonadais: Maturo (I): as gônadas são estreitas, semelhantes ao intestino, com superfície lisa e translúcida. Maturação inicial (II): ovários começam a ficar mais túrgidos no cefalotórax com coloração amarelo-clara e preenchem discretamente a região abdominal. Maturação avançada (III): a gônada é ligeiramente mais consistente, mais áspera e espessa em relação ao estágio anterior, apresentando desenvolvimento na porção dos somitos abdominais, a coloração amarelo médio é mais aparente e está presente em todos os lobos do ovário. Maduro (IV): o ovário é facilmente visualizado, preenche toda a cavidade abdominal e cefalotórax. A gônada é muito túrgida, com superfície áspera e muito espessa, a coloração nesta fase é amarelo escuro. Desovado (V): a coloração deste estágio é semelhante ao estágio imaturo. No entanto, os ovários são mais flácidos e a superfície é ligeiramente rugosa.

2.4 REPRODUÇÃO E FASES DO DESENVOLVIMENTO

Os peneídeos são dióicos e possuem o modo de reprodução no qual as fêmeas não encubam os ovos fecundados (embriões), deste modo, os ovos dos peneídeos são diretamente liberados na água, realizando a fecundação do tipo externa (COSTA *et al.*, 2003; DALL *et al.*, 1990; WOLF, 2014).

Quanto aos aspectos de acasalamento, este comportamento vai variar conforme a espécie. Um fator determinante nos períodos de acasalamento são as espécies serem portadoras de fêmeas com télico aberto ou fêmeas com télico fechado. O acasalamento das espécies de télico aberto ocorre no final do ciclo, após a maturação dos ovários, enquanto o acasalamento das espécies de télico fechado ocorre logo após a fêmea realizar a muda, no tempo em que o exoesqueleto ainda está macio (DALL *et al.*, 1990).

O período do dia em que acontece o acasalamento também é diferente nas espécies que possuem télico aberto ou fechado. Espécies como *Penaeus merguensis*, *Penaeus japonicus* e *Penaeus monodon*, que apresentam o télico fechado, acasalam à noite, porém há registro, de acasalamento em período diurno para a espécie *Penaeus paulensis*. Contudo, a espécie

Litopenaeus vannamei, que apresenta a característica de télico aberto, acasala ao pôr do sol (DALL *et al.*, 1990; TAVARES; MARTIN, 2010).

Dall *et al.* (1990), relataram três fases durante o acasalamento na observação de alguns exemplares de camarões peneídeos. Na primeira fase, a fêmea move-se após a muda, nadando e em seguida parando no fundo do substrato. Um ou mais machos seguem a fêmea durante este período, e então o macho move-se para debaixo da fêmea, agarrando a sua carapaça com seus pereópodes enquanto continua a nadar, caracterizando esta posição como pré-copulatória. Na segunda fase, o macho vira de cabeça para baixo abaixo da fêmea, e eles se agarram. Se o macho bem-sucedido é desalojado dessa posição naquele momento, ele volta à primeira fase do acasalamento e segue a fêmea. Na terceira fase, o macho enquanto continua segurando a fêmea, gira rapidamente perpendicular ao corpo dela, arqueia seu corpo em torno, a aperta e, simultaneamente, sacode a cabeça e o télson, o que, provavelmente, faz com que ocorra a transferência de espermatóforos neste ponto, então o macho se separa da fêmea e nada para longe.

Apesar de variações específicas, o acasalamento e desova ocorrem em mar aberto, como exemplo, alguns reprodutores de *L. vannamei* foram encontrados em profundidades de até 72 metros, *P. paulensis* foram capturados em profundidades superiores a 100 metros, e o *P. schmitti*, que se reproduz mais próximo à costa, em profundidades máximas de 45 metros. Os ovos são liberados durante o período noturno, possivelmente para minimizar a ação de predadores. Como a fecundação é externa, os óvulos são fecundados apenas no momento da sua liberação. As fêmeas nadam rapidamente, para que o deslocamento da água pelos pleópodos facilite o contato dos óvulos com os espermatozoides (BARBIERI JUNIOR; OSTRENSKY NETO, 2001; DALL *et al.*, 1990).

Após a fecundação, os náuplios eclodem dos ovos, utilizando suas antenas como forma de movimentação. São seres planctônicos de aproximadamente 3-4 µm, atraídos pela luz, possuem três pares de apêndices e utilizam somente as reservas de vitelo para nutrição. Mas ao serem atraídos pela luz, procuram as camadas superiores do mar, para a zona onde se concentra a maior parte do fitoplâncton, alimento procurado na segunda fase, a de protozoéa. Em protozoéa, o corpo torna-se alongado com um cefalotórax. Na fase inicial, tem um par de olhos compostos projetados, na segunda é caracterizado pela presença de um rostro e na fase três pelo par de urópodes. É no estágio de protozoéa que a larva começa a se alimentar com partículas menores que 100 micras, partículas em suspensão, como algas unicelulares, que são filtradas e

ingeridas (BARBIERI JUNIOR; OSTRENSKY NETO, 2001; DALL *et al.*,1990; SENAR, 2016).

Depois da fase de protozoéa, os indivíduos realizam muda e vão para a fase de mísis, na qual a carapaça passa a cobrir todo o tórax, e passam a perseguir e se alimentar de fito e zooplâncton. Após essa fase, possuem todos os apêndices encontrados no indivíduo adulto e a fase larval termina, sendo considerado uma pós-larva. Os ovos e as larvas são planctônicos (vivem na coluna d'água), e são carregados em direção à costa. Na fase de pós-larva o camarão deixa de ser planctônico e passa a ser bentônico (vivem no fundo), também é nessa fase que algumas espécies de camarões deixam o ambiente tipicamente marinho para terminar o seu desenvolvimento em zonas estuarinas marinhas (BARBIERI JUNIOR; OSTRENSKY NETO, 2001; DALL *et al.*,1990; SENAR, 2016).

Os indivíduos jovens crescem quase exclusivamente nas zonas estuarinas, onde encontram abrigo e alimento em abundância. Quando se aproximam da maturidade sexual, começam a migrar para o mar aberto onde ocorrerá a maturação sexual e reprodução (Figura 6). Depois de adultos, estes não retornam as zonas de crescimento, por isso os exemplares grandes são capturados exclusivamente em zonas marinhas (BARBIERI JUNIOR; OSTRENSKY NETO, 2001; DALL *et al.*,1990; SENAR, 2016).

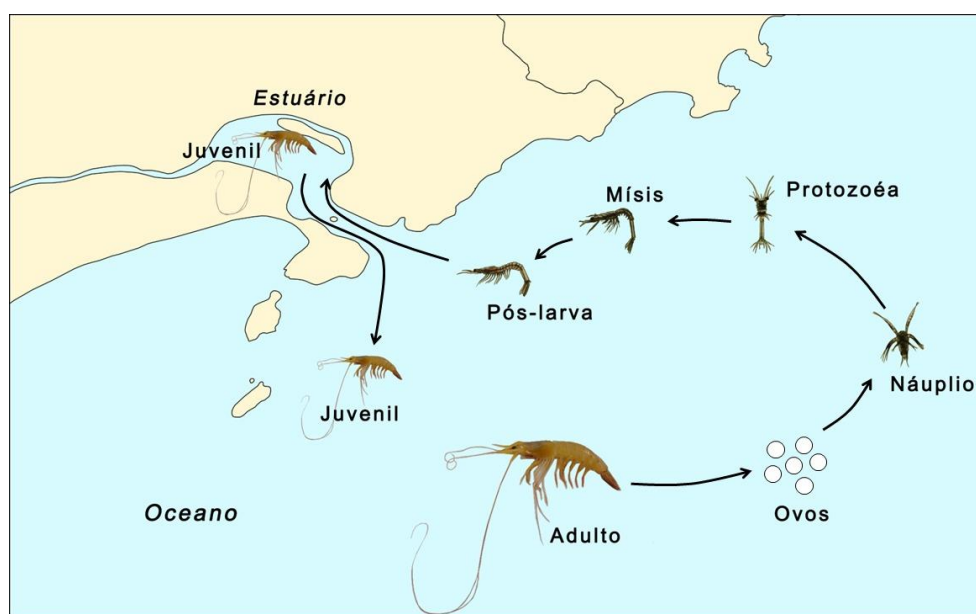


Figura 6 - Representação do ciclo de vida de camarões peneídeos, no qual os indivíduos jovens crescem em zonas estuarinas, enquanto os indivíduos adultos, os ovos, e as fases de Náuplio, Protozoéa e Mísis se encontram em mar aberto ou na região costeira.

Fonte: Os autores com utilização do programa QGIS, (2022).

Espécies de camarões como *Penaeus brasiliensis*, *Penaeus paulensis*, *Penaeus subtilis* e *Penaeus schmitti* frequentam estuários e baías costeiras na fase juvenil e mar aberto em sua

fase adulta, como ilustrado na Figura 6 (BOOS *et al.*, 2016; D'INCAO, 1991; D'INCAO; VALENTINI; RODRIGUES, 2002; SANTOS; FREITAS, 2007). E espécies como *X. kroyeri*, *Rimapenaeus constrictus*, *Rimapenaeus similis* e *Artemesia longinaris* não dependem dos estuários (Figura 7), realizando seu ciclo de vida totalmente na região costeira marinha ou vão durante a desova ao mar aberto como os camarões do gênero *Rimapenaeus* (BAUER; LIN, 1994; BOOS *et al.*, 2016; COSTA *et al.*, 2005; SANTOS; FREITAS, 2007).

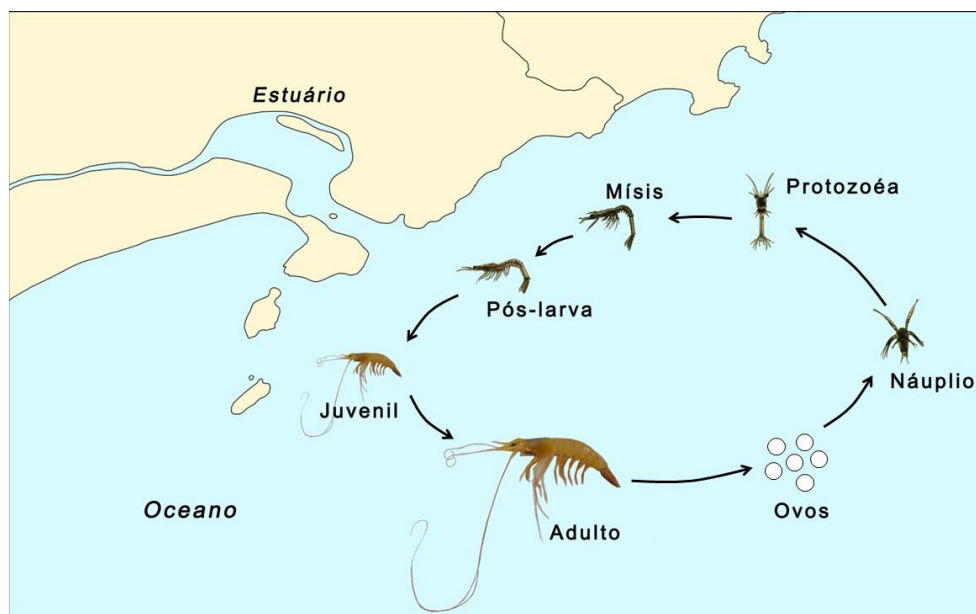


Figura 7 - Representação do ciclo de vida de camarões peneídeos, no qual todas as fases de vida do animal ocorrem em mar aberto e, portanto, os indivíduos jovens não crescem em zonas estuarinas.

Fonte: Os autores com utilização do programa QGIS, (2022).

2.5 ALIMENTAÇÃO

A alimentação divide-se em três categorias principais: material microbiano e detritico, plantas e animais. Em estudos que exemplares de peneídeos foram capturados em estuários e águas costeiras, foi disponibilizado itens alimentares e estes não mostraram preferência alimentar, e em condições experimentais os peneídeos mostram preferências, quando podem escolher, sendo então descritos como onívoros oportunistas (BOOS *et al.*, 2016; DALL *et al.*, 1990).

A maioria dos peneídeos passam o dia enterrados no substrato, e escolhem emergir e se alimentar à noite. Além de se alimentar de pequenas partículas ou organismos isolados, os peneídeos podem lidar com grandes itens alimentares, como tapetes de algas ou grandes presas vivas. Os camarões peneídeos procuram comida no fundo do substrato, sondando com seus pereópodes, e qualquer alimento encontrado é recolhido e manipulado por seus pereópodes e

peças bucais. O comportamento de escavação possui duas vantagens, a de reduzir a demanda total de energia e uma importante forma de defesa. As tocas feitas desta forma no substrato não são permanentes e os camarões peneídeos não são considerados territoriais (DALL *et al.*, 1990).

3 PENEÍDEOS: EXPLORAÇÃO PESQUEIRA E AÇÕES ANTRÓPICAS

A pesca é uma atividade que está em direta relação com os camarões peneídeos, pois devido ao alto interesse econômico para os pescadores, estes são alvo dela. As espécies peneídeas ficam então, sujeitas a intensa exploração pesqueira, por agregar grande valor à economia do setor pesqueiro (FRANSOZO, 2008).

A pesca de arrasto, principal meio de captura dos camarões, é um vetor de impacto de grande escala sobre os ecossistemas do fundo marinho, reduzindo sua riqueza e diversidade. Assim, o fator de intensidade da atividade tem relação inversa com o equilíbrio dos estoques pesqueiros. Portanto, além de não ser seletiva, superexplorar os estoques pesqueiros, ela degrada o substrato aquático por onde passa (DIAS, 2020; DIAS NETO, 2011).

Niencheski *et al.* (2014) realizaram estudos de bioacumulação de metais traço em quatro estuários da costa brasileira, localizados em Pernambuco, Espírito Santo, Paraná e Rio Grande do Sul. Estas regiões apresentam ações antrópicas além da pesca, como lançamento de efluentes domésticos e industriais sem tratamento resultando em eutrofização, desmatamento das áreas de manguezais para diversos fins, como empreendimentos imobiliários causando ocupação desordenada do litoral, derramamento de petróleo e de cargas tóxicas, entre outros fatores. O estudo constatou que as fontes de poluição decorrentes de interferências humanas, são o principal fator de alteração das condições naturais, afetando a qualidade de vida da biota ali existente.

Silva, Silva e Almeida (2016) avaliaram os impactos ambientais em estuários das regiões de Caravelas e Mucuri, localizados no extremo sul da Bahia, Brasil. Estas são regiões costeiras que apresentam grande importância no ciclo de vida de muitas espécies. Na região de Caravelas está situado o Parque Nacional Marinho dos Abrolhos que possui grande importância na preservação de muitos indivíduos da fauna local, vem vivenciando impactos ambientais decorridos do turismo e da pesca. Com o estudo foi possível verificar grande mudança em toda a paisagem nas duas regiões nos últimos anos, pois áreas de mangues e brejos vem apresentando uma redução devido a prática de monocultura de eucalipto, além da indústria do turismo que

também vem gerando mudanças com implementação de resorts e hotéis, promovendo impactos ambientais que precisam ser avaliados e estudados.

O elevado esforço de pesca em estuários, baías e mar aberto prejudica o fechamento do ciclo de vida, além de diminuir a abundância de peneídeos no ambiente. A situação agrava-se ainda mais quando é somado a degradação ambiental de estuários. Desde o ano de 2008 não se encontra dados disponível de estatísticas pesqueiras do Brasil, portanto, não é conhecido o atual nível de captura de camarões nos estados brasileiros, o que prejudica ainda mais tomadas de decisão que colaborem para o manejo destas espécies que são alvo da pesca (BOOS *et al.*, 2016).

Estratégias de manejo pesqueiro, como os períodos de defeso, são as principais ferramentas relacionadas à proteção da migração de recrutamento desde a zona de criação até a zona do estoque de indivíduos adultos, que além de proteger o processo de recrutamento, objetiva a diminuição do esforço pesqueiro. Áreas de exclusão de pesca e limitação de esforço pesqueiro em número de barcos são outras medidas fundamentais à preservação dos criadouros de camarões peneídeos (BOOS *et al.*, 2016).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os camarões peneídeos possuem importância ambiental e social para as comunidades costeiras, e a ação sobre este recurso proporciona impactos em todo o seu ciclo de vida, tanto em mar aberto, sofrendo ação direta pela ação pesqueira, quanto nas primeiras fases de vida, para as espécies que frequentam o ambiente estuarino, sendo afetada por poluição de diversas fontes, todas estas advindas de ações antrópicas ao ambiente.

O entendimento de aspectos reprodutivos e biológicos são essenciais para fomentar ações que tentem minimizar os impactos a estes indivíduos, como a compreensão do ciclo de maturação sexual das espécies, para encaixe de um período de defeso que dê tempo para a população conseguir se reproduzir em seu habitat e recrutar indivíduos jovens para o ambiente novamente. Com o conhecimento do ciclo de vida, também é possível estabelecer medidas protetivas em ambientes chaves para o desenvolvimento dos animais, como o estuário, e então trabalhar em ações que atuem pontualmente nos fatores antrópicos que poluem estes ecossistemas, prejudicando a continuidade da vida dos peneídeos.

5 REFERÊNCIAS

- BARBIERI JUNIOR, R. C.; OSTRENSKY NETO, A. **Camarões marinhos**. Viçosa: Aprenda fácil, 2001. 225 p.
- BAUER, R. T.; LIN, J. Temporal patterns of reproduction and recruitment in populations of the penaeid shrimps *Trachypenaeus similis* (Smith) and *T. constrictus* (Stimpson) (Crustacea: Decapoda) from the north-central Gulf of Mexico. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 182, n. 2, p. 205-222, 1994.
- BOLOGNINI, L. *et al.* A multidisciplinary approach to study the reproductive biology of wild prawns. **Scientific Reports**. v. 7, n. 16781, p. 1-12, 2017.
- BOOS, H. *et al.* Avaliação dos camarões peneídeos (Decapoda: Penaeidae). In: PINHEIRO, M.; BOOS, H. **Livro vermelho dos crustáceos do Brasil: avaliação 2010-2014**. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Carcinologia - SBC, 2016. p. 300-317.
- BRUSCA, R. C.; BRUSCA, G. J. **Invertebrados**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 968 p.
- CAMPOS, B. R. *et al.* Ovarian development and length at first maturity of the sea-bob-shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller) based on histological analysis. **Nauplius**, v. 17, n. 1, p. 9-12, 2009.
- CASTILHO, A. L. Crustacea. In: FRANSOZO, A.; NEGREIROS-FRANSOZO, M. L. **Zoologia dos invertebrados**. 1. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016. p. 435-442.
- COSTA, R. C. *et al.* Annual, seasonal and spatial variation of abundance of the shrimp *Artemesia longinaris* (Decapoda: Penaeoidea) in south-eastern Brazil. **Journal of the Marine Biological Association**, v. 85, n. 1, p. 107-112, 2005.
- COSTA, R. C. *et al.* Chave ilustrada para identificação dos camarões Dendobranchiata do litoral norte do estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 3, n. 1, p. 1-12, 2003.
- CRAVEIRO, C. F. F. **Aspectos reprodutivos dos camarões peneídeos *Litopenaus schmitti* e *Farfantepenaeus subtilis* capturados em Lucena, litoral norte da Paraíba, Brasil**. 2018. 73 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros) - Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2018.
- DALL, W. *et al.* **Marine biology: the biology of the Penaeidae**. Australia: Academic Press, 1990. 504p.
- DIAS, M. **Impactos da pesca de arrasto no Brasil e no mundo: dados atualizados e tendências globais**. Brasília: Oceana Brasil, 2020. 68p.
- DIAS NETO, J. **Proposta de plano nacional de gestão para o uso sustentável de camarões marinhos do Brasil**. Brasília: Ibama, 2011. 242p.

D'INCAO, F. Pesca e biologia de *Penaeus paulensis* na Lagoa dos Patos. **Atlântica**, v. 13, n. 1, p. 159-169, 1991.

D'INCAO, F.; VALENTINI, H.; RODRIGUES, L. F. Avaliação da pesca de camarões nas regiões sudeste e sul do Brasil. 1965-1999. **Atlântica**, v. 24, n. 2, p. 103-116, 2002.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION). **The state of world fisheries and aquaculture (SOFIA): Sustainability in action**. Roma: Food and Agriculture Organization, 2020. 244 p.

FRANSOZO, V. N. **Morfologia dos caracteres sexuais secundários e caracterização gonadal masculina em *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Crustacea, Dendrobranchiata, Penaeoidea)**. 2008. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração: Zoologia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2008.

GARCIA, R. C. P. *et al.* Gonadal development of females of the white shrimp *Penaeus schmitti* (Burkenroad, 1936) caught in southeastern Brazil. **Journal of Marine Science and Engineering**, v. 9, n. 653, p. 1-9, 2021.

HASSAN, H. U. The genital organs and their development in *Metapenaeus affinis* (Decapoda, Penaeidae) studied through rearing them in the laboratory. **Hydrobiologia**, v. 78, n. 1, p. 49-58, 1981.

MARTIN, J. W.; DAVIS, G. E. **An updated classification of the recent Crustacea**. California: Natural History Museum of Los Angeles Country, 2001. 124p.

NIENCHESKI, L. F. *et al.* Metais traço em peixes e filtradores em quatro estuários da costa brasileira. **Tropical Oceanography**, v. 42, n. 1, p. 94-93, 2014.

PÉREZ-FARFANTE, I. **Illustrated key to penaeoid shrimp of commerce in the Americas**. Maryland: NOAA Technical Report, 1988. 32p.

QGIS. **Um sistema de informação geográfica livre e aberto**. Disponível em: <https://www.qgis.org/pt_BR/site/>. Acesso em: 01 jun. 2022.

SANTOS, M. C. F.; FREITAS, A. E. T. S. Avaliação biológica de camarões peneídeos capturados no município de São José da Coroa Grande (Pernambuco – Brasil). **Boletim Técnico-Científico do CEPENE**, v. 15, n. 1, p. 63-79, 2007.

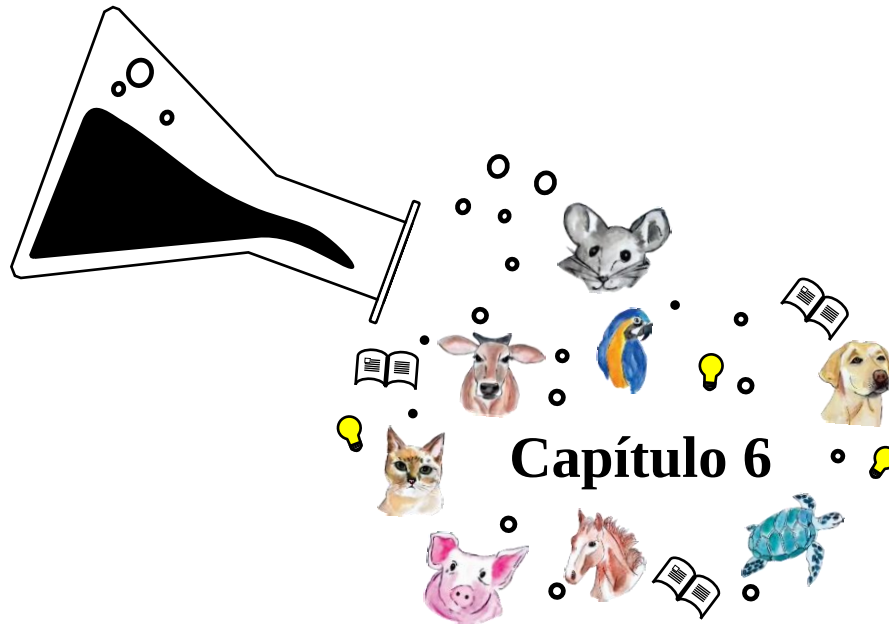
SENAR (SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM RURAL). **Larvicultura de camarão marinho: do náuplio a pós-larva**. Brasília: SENAR, 2016. Disponível em: <<https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/166-LARVICULTURA.pdf>>. Acesso em: 28 mai. 2022.

SILVA, E. G.; SILVA, E. R.; ALMEIDA, J. R. Avaliação dos impactos ambientais nos estuários das regiões de Caravelas e Mucuri (BA-Brasil) com base no modelo Pressão Estado Impacto Resposta (PEIR). **Revista Internacional de Ciências**, v. 6, n.1, p. 1-19, 2016.

TAVARES, C.; MARTIN, J. W. Suborder Dendrobranchiata (Bate, 1888). *In*: FOREST, J.; VAUPEL KLEIN, J. C.; SCHRAM, F. R. **Treatise on zoology**: anatomy, taxonomy, biology. The Crustacea, complementary to the volumes of the *Traité de zoologie*. The Netherlands: Brill, 2010. p. 99-164.

TENUTA FILHO, A.; ZUCAS, S. M. Cefalotórax de camarão-rosa, I, valor nutricional da proteína de sua farinha. **Boletim do Instituto Oceanográfico**, v. 30, n. 1, p. 41-47, 1981.

WOLF, M. R. **Ecologia das populações e comunidade dos camarões decapoda no litoral norte de Santa Catarina**. 2014. 186 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração: Zoologia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.



Répteis não-avianos: evolução, anatomofisiologia comparada e diagnóstico por imagem do sistema urinário

Mariana de Oliveira Lima¹
Thiago Queiroz Pereira²
Amanda Soares dos Santos³
Rodrigo Giesta Figueiredo⁴
Rafael Otaviano do Rego⁵
Maria Aparecida da Silva⁶

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: marianadeoliveiralima@outlook.com.br

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

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

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: rodrigo.figueiredo@ufes.br

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: rafael.rego@ufes.br

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

1 INTRODUÇÃO

Os répteis, incluindo as aves, são animais amniotas classificados no grupo Sauropsida, linhagem que surge entre 315 e 330 milhões de anos atrás, no período Carbonífero da era Paleozóica (CARROLL, 1964). Como amniotas, sua reprodução é independente de ambientes aquáticos e, além disso, o sistema tegumentar apresenta características morfológicas (p.ex. escamas epidérmicas) que evitam a perda de água (KARDONG, 2016). Ao longo da era Mesozóica, os répteis apresentaram grande diversificação, se tornando os vertebrados terrestres com maior número de espécies conhecidas, e dominando diferentes ecossistemas em todo o globo terrestre (BENTON, 2014). O surgimento desse grupo causou enorme avanço na diversidade da vida na Terra, e atualmente são descritas mais de 10.000 espécies de répteis não-avianos por todo o planeta, sendo eles animais que podem ser encontrados em todos os continentes, com exceção da Artártida (GIRLING; RAITI, 2019).

Os répteis não-avianos, descritos dessa forma devido a características cladísticas que inclui as aves no grupo dos répteis (HICKMAN *et al.*, 2016), podem ser divididos em quatro grandes grupos com representantes viventes nos dias atuais: Testudines, que inclui as tartarugas de água doce e salgada, cágados e jabutis; Squamata, englobando as cobras e os lagartos; Crocodylia, incluindo os aligátors, gaviais, crocodilos e jacarés; e, por fim, a Rynchocephalia – ou Sphenodontia –, que inclui dois representantes do gênero *Sphenodon*, conhecidos popularmente como tuatara (KARDONG, 2016).

O corpo animal possui a tendência de estar sempre em estabilidade e constância. A partir dessa ideia estabelecida por Claude Bernard, fisiólogo francês do século 19, Walter B. Cannon, fisiólogo americano, redefiniu o conceito e descreveu a manutenção dos processos fisiológicos que restaura o corpo ao estado normal quando ele foi perturbado, chamando-o de homeostase. Processo regulado por atividades que se coordenam por todo o corpo, com exceção do sistema reprodutor (HICKMAN *et al.*, 2016).

Entretanto, atividades metabólicas exercidas pelo corpo necessitam de estoque infinito de materiais, como, oxigênio, diversos nutrientes e sais que são retirados do meio e utilizados pelas células. Essa atividade celular resulta em metabólitos residuais que precisam ser eliminados para que a homeostade aconteça. Órgãos dos sistemas circulatório, nervoso, endócrino, rins, pulmões ou brânquias, trato digestivo e tegumento trabalham para a manutenção. Por meio desses, todos os componentes entram e saem do corpo permitindo que o meio interno permaneça em constante equilíbrio. Neste capítulo será apresentado o sistema

urinário, que tem como principal função a homeostase, sendo o rim o órgão regulador do volume e da composição do fluido corporal interno (HICKMAN *et al.*, 2016).

Os rins de vertebrados amniotas (Figura 1) se desenvolveram a partir de rins encontrados no embrião de feiteiras, chamados de arquinefro. A partir disso, durante o desenvolvimento embrionário, os rins dos vertebrados amnióticos receberam três classificações: pronefro, mesonefro e metanefro. O pronefro é o primeiro estágio renal de embriões vertebrados, se localiza na região anterior do corpo, e durante a evolução dá espaço aos rins mesonéfricos que se localizam próximos à porção medial da cavidade, tornando-se os rins funcionais dos embriões amnióticos de répteis, aves e mamíferos. Os rins metanéfricos são o último estágio renal, que ocupa o lugar dos rins mesonéfricos em indivíduos adultos dos grupos citados anteriormente (HICKMAN *et al.*, 2016).

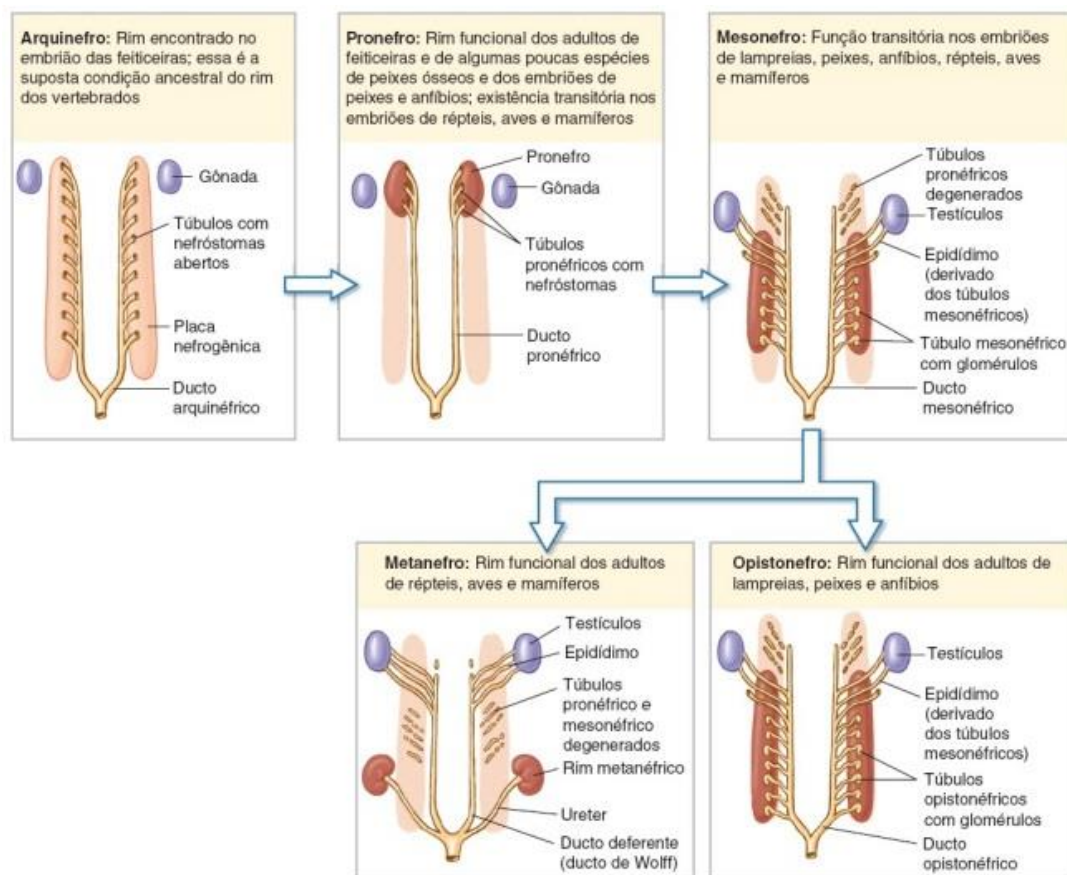


Figura 1 – Rins funcionais de embriões e adultos de vertebrados amnióticos.

Fonte: Adaptado de Hickman *et al.* (2016).

Os diferentes grupos de répteis não-avianos apresentam espécies com conformação, tamanho corporal e sistema urinário bastante diferentes, representando um desafio no diagnóstico por imagem desses animais, entretanto, com a manutenção dos mesmos fora do seu ambiente natural, seja em zoológicos, ou como animais de estimação, maior atenção é dada a

seus problemas de saúde. Com o avanço tecnológico e o maior interesse no estudo sobre esses animais, o diagnóstico por imagem pode contribuir com diagnósticos mais assertivos, gerando ainda dados sobre anatomia e fisiologia básica desses espécimes (LOJSZCZYK-SZCZEPANIAK *et al.*, 2018).

O conhecimento morfológico dos diferentes grupos de répteis é necessário para que se entenda quais são os mecanismos de sobrevivência utilizados pelas espécies permitiram que esses animais obtivessem sucesso evolutivo (KARDONG, 2016). Conhecer a anatomia dos sistemas, as funcionalidades de cada órgão e a sua respectiva fisiologia, permite compreender a biologia das espécies, bem como utilizar esses conhecimentos para correlacionar os grupos, e construir conhecimento para o manejo correto desses animais (LOJSZCZYK-SZCZEPANIAK *et al.*, 2018). Diante do exposto, este capítulo tem como objetivo apresentar um panorama sobre a evolução dos répteis não-avianos recentes, bem como a anatomofisiologia e a realização de diagnóstico por imagem do sistema urinário.

2 EVOLUÇÃO DOS RÉPTEIS NÃO-AVIANOS

Amniotas são aqueles vertebrados que, na fase embrionária, ficam envoltos em membranas extraembrionárias (KARDONG, 2016). O ovo amniótico encontrado nos amniotas, pode exibir parede calcárea ou coriácea, e é uma característica presente nas tartarugas, nos lepidossauros, nos crocodilianos, nas aves e nos mamíferos monotremados (POUGH; JANIS; HEISER, 2008). Eles são considerados um grupo monofilético que evoluiu de tetrápodes primitivos durante o início do período Carbonífero (CARROLL, 1988). A partir deles, surgiram duas linhagens principais conhecidas: os Sauropsida e os Synapsida. Os saurópsidos deram origem ao que conhecemos como répteis, incluindo todos os dinossauros e, portanto, também as aves, além de uma gama de outras espécies extintas que irradiaram o planeta desde a era Paleozoica. Os Synapsida, por sua vez, constituíram formas de vida que incluiu os Therapsida e os mamíferos atuais (KARDONG, 2016).

Os amniotas eram agrupados com base na caracterização da região temporal do crânio, levando em consideração o número de aberturas temporais e a posição dos arcos temporais (Figura 2). Assim, “Anapsida” era o nome dado ao grupo de espécies que não possuíam aberturas temporais, sendo essa condição observada em várias linhagens de amniotas basais. Os Testudines apresentam perda secundária das fenestras temporais. O grupo dos Synapsida possui apenas um par de aberturas temporais, as fenestras infratemporais. Nos répteis não-

avianos são encontrados dois pares de aberturas temporais, as fenestras supra e infratemporais, característica dos Diapsida (KARDONG, 2016). A função dessas fenestrações é fornecer espaço para músculos, pois os amniotas possuem a musculatura do crânio maior e mais diferenciada do que a linhagem não-amniótica (POUGH; JANIS; HEISER, 2008).

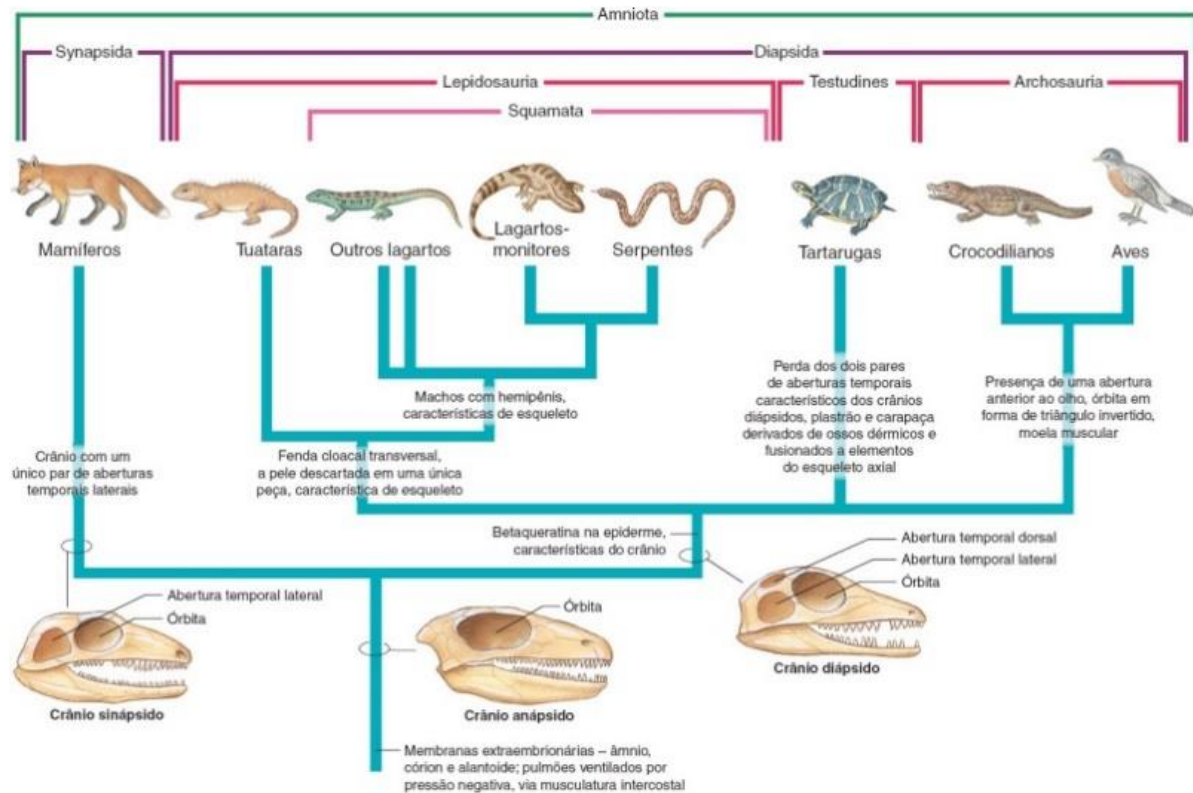


Figura 2 – Cladograma representando a diversificação do grupo dos Amniotas atuais a partir da diversificação dos crânios anápsidos, sinápsidos e diápsidos.

Fonte: Hickman *et al.* (2016).

O grupo dos Sauropsida deu origem à duas linhagens, os Parareptilia e os Eureptilia. A hipótese filogenética mais tradicional inclui os testudíneos dentro dos Parareptilia, pois esses indivíduos não possuem aberturas temporais. No entanto, hipóteses alternativas indicam que esses animais perderam as aberturas da condição diapsida, de forma secundária e independente dos pararépteis (BEVER *et al.*, 2015). Em contrapartida, o grupamento dos Eureptilia é caracterizado por indivíduos que possuem duas aberturas temporais e uma abertura palatina, e deu origem à três linhagens de indivíduos diápsidos: os Lepidosauromorpha (cobras, lagartos e tuataras), os Arcosauromorpha (dinossauros, incluindo aves, e crocodilianos) e os Euryapsida (répteis marinhos do Mesozoico, ictiossauros e sauropterígeos) (KARDONG, 2016).

O termo “réptil” é utilizado de maneira informal para se referir às espécies de testudíneos, lepidossauros, crocodilianos e espécies extintas relacionadas, porém, não é suficiente para definir todas as espécies com exatidão, apenas diferenciá-las dos outros grupos

amniotas, as aves e os mamíferos. O grupo dos répteis não-avianos é muito heterogêneo, tendo em vista que crocodilianos possuem características mais semelhantes às aves do que aos lagartos, cobras e testudíneos (CARROLL, 1988). Fato comprovado por análises filogenéticas, nas quais, indivíduos desse grupo não estão relacionados intimamente uns com os outros, e crocodilianos, por exemplo, estão muito mais ligados ao grupo dos dinossauros e aves do que aos demais répteis. As divergências evolutivas entre algumas linhagens são muito antigas, como os Testudines que possuem sua linhagem há cerca de 260 milhões de anos (BEVER *et al.*, 2015; SHINE, 2013). Relacionar os diferentes grupos de répteis exige que se faça profunda análise dos níveis taxonômicos, identificando todas as relações filogenéticas existentes entre os grupos e os indivíduos desse clado (SHINE, 2005).

3 ANATOMOFISIOLOGIA DO SISTEMA URINÁRIO

O desenvolvimento embrionário dos rins dos vertebrados em geral ocorre de maneira semelhante, dentro da mesoderme intermediária. No entanto, a maneira como ocorre esse desenvolvimento difere nos grupos e isso é observado na formação dos rins e dos ductos nos machos e nas fêmeas (KARDONG, 2016). Em répteis, as estruturas renais evoluíram a partir de estruturas tubulares uniformes e organizadas, formando os rins (FOX, 1977).

Os néfrons dos reptilianos possuem glomérulo, tufo de capilares glomerulares, colo curto, túbulo contorcido proximal e coletor distal, que se desembocam no ducto mesonéfrico que se assemelha ao ureter. Possuem rins lobulares, em sua maioria, ductos mesonéfricos distintos que drenam cada lóbulo e não possuem alça de Henle para concentração de urina, impossibilitando a capacidade dos répteis de excretar o excesso de eletrólitos presentes no sangue sem que haja a perda de água. A urina segue o caminho para o meio externo passando pelos ductos mesonéfricos chegando ao urodeu, desembocando na vesícula urinária quando presente, ou na porção cranial do cólon, onde ocorre a reabsorção de água (GIRLING; RAITI, 2019).

No geral, os répteis não-avianos possuem rins metanéfricos emparelhados dentro da cavidade celomática e se localizam na porção retroperitoneal que varia dentre os grupos. Em Testudines (Figura 3), são aderidos à carapaça internamente e estão localizados na posição craniodorsal em relação à pelve. Nos crocodilianos, localizam-se dorsocaudalmente, e o rim esquerdo possui maior tamanho que o rim direito. Em lagartos, estão inseridos dorsalmente na pelve e caudalmente à crista ilíaca. Em serpentes, ocorre no terço caudal da cavidade

celomática, onde o rim direito se encontra sutilmente mais cranial que o rim esquerdo (GIRLING; RAITI, 2019).

Em Testudines, no sistema urogenital, foi descrita uma vesícula urinária que chega ao urodeu através da uretra. A cloaca possui três compartimentos: coprodeu, urodeu e proctodeu, e esses compartimentos incorporam dois sistemas, o urogenital e o digestório. Na cloaca, se inserem a porção final do intestino grosso, a uretra, os ureteres, os ovidutos nas fêmeas e os ductos deferentes nos machos. O coprodeu se conecta ao reto; a uretra, os ureteres, ovidutos das fêmeas e ductos deferentes dos machos se comunicam com o urodeu; e no proctodeu, inserem-se as bolsas cloacais, o pênis nos machos e o clitóris nas fêmeas. Urodeu e proctodeu se comunicam pela fenda ventral, e coprodeu e proctodeu por um ducto presente na parte ventral do coprodeu. Em *Podocnemis expansa*, *Podocnemis unifilis*, *Phrynops geoffroanus* e *Chelus fimbriatus* são descritas duas “bexigas” cloacais ou acessórias (ROSA, 2008).

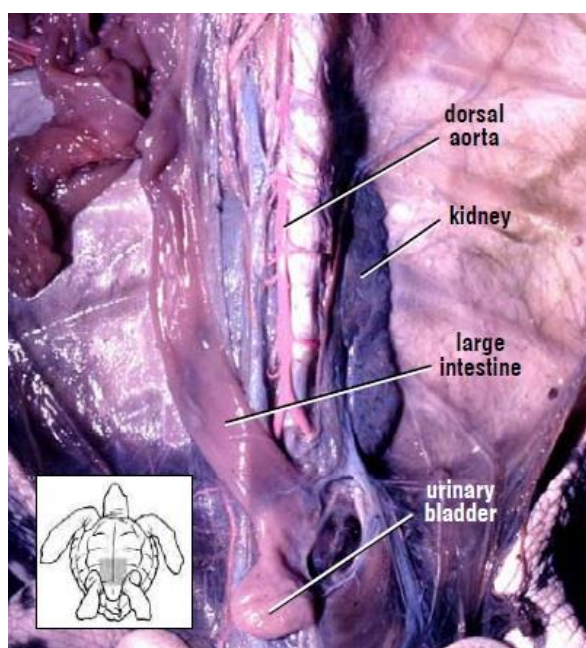


Figura 3 – Topografia dos órgãos da tartaruga-de-couro (*Dermochelys coriacea*) jovem, evidenciando órgãos internos próximos aos rins e a vesícula urinária. Fonte: Wyneken (2001).

Estudos realizados anteriormente com a espécie *Geochelone carbonaria*, popularmente conhecida como jabuti-piranga, mostraram que os rins desses animais são compactos, possuem forma piramidal, coloração vermelho escuro, e em toda a sua extensão possuem lóbulos envoltos por uma membrana capsular, além de apresentarem aspecto cerebrióide em sua superfície. Os rins estão em contato com a carapaça, localizados entre a 3ª e 4ª placa córnea, nas fêmeas caudalmente aos ovários e, nos machos, mantém contato direto com o testículo e o epidídimo juntamente à região do hilo renal. A vesícula urinária foi descrita como bilobada,

desenvolvida e presente em todos os espécimes estudados. Foi descrita ausência de uretra e presença de ureter que é a estrutura responsável por levar a urina até a vesícula urinária. Nas fêmeas foi localizado ventralmente à cloaca, abrindo-se na região crânio-ventral da prega uretral. Enquanto, nos machos, os ureteres foram localizados juntamente aos ductos deferentes que desembocam na região do colo da vesícula (FARIA, 2003).

Nos Squamata, estudo com três espécies de serpente descreveu a anatomia dos rins de *Crotalus durissus*, *Bothrops neuwiedi* (Figura 4 A, B e C) e *Bothrops moojeni*. Foi descrito em todas as espécies um par de rins alongados e assimétricos, envoltos por uma membrana capsular de tecido conjuntivo. Ambos os rins posicionados na porção final do corpo, próximos à cloaca, sendo o rim direito posicionado mais cranialmente do que o esquerdo, e possuindo maior tamanho. Foi observada que a coloração variou do rosa-pálido ao vermelho. Dois ureteres também foram observados nas três espécies, formados por um tubo cilíndrico dorsalmente aos rins. Nos machos estava dorsal ao canal deferente, e, nas fêmeas, dorsal ao oviduto, ambos desembocando nas papilas urinárias da cloaca (SILVA, 2008).

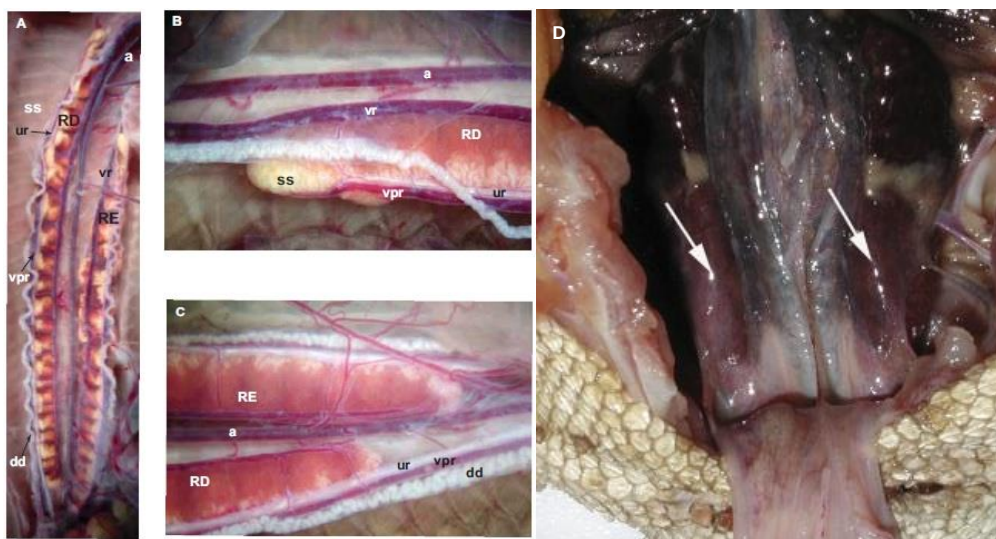


Figura 4 – Rins de indivíduo da espécie de *Bothrops neuwiedi*. A - Vista medial onde se visualizam os rins direito e esquerdo, no sentido craniocaudal; B - Vista cranial do rim direito visualizando a coloração rosa pálido e vermelho em algumas regiões renais; C- Porção caudal dos rins esquerdo e direito visualizando os ureteres e o ducto deferente ventralmente aos rins; D - Rins (setas) de indivíduo da família Gekkonidae, da subordem dos lagartos. RD – rim direito, RE – rim esquerdo, a – aorta dorsal, dd – ducto deferente, ss – segmento sexual, ur – ureter, vpr – veias porta-renais, vr – veias renais.

Fonte: A, B e C - Silva (2008); D - Adaptado de Reavill e Schmidt (2010).

Em Crocodylia, os rins dos crocodilianos encontram-se aderidos à parede do corpo, dorsoventralmente (Figura 5). Os rins são constituídos de camadas corticais e pélvicas, e tem dobramentos que crescem à medida que os animais crescem, dando forma ao par, sendo que o

padrão é específico de cada espécie. Em algumas espécies como *Crocodylus niloticus* (crocodilo-do-Nilo), possuem forma triangular, e em outros, como *Osteolaemus tetraspis* (crocodilo-anão-africano), são achatados. Possuem dois ureteres, e se caracterizam por não possuir vesícula urinária, portanto, a urina é armazenada no reto (HUCHZERMEYER, 2003).

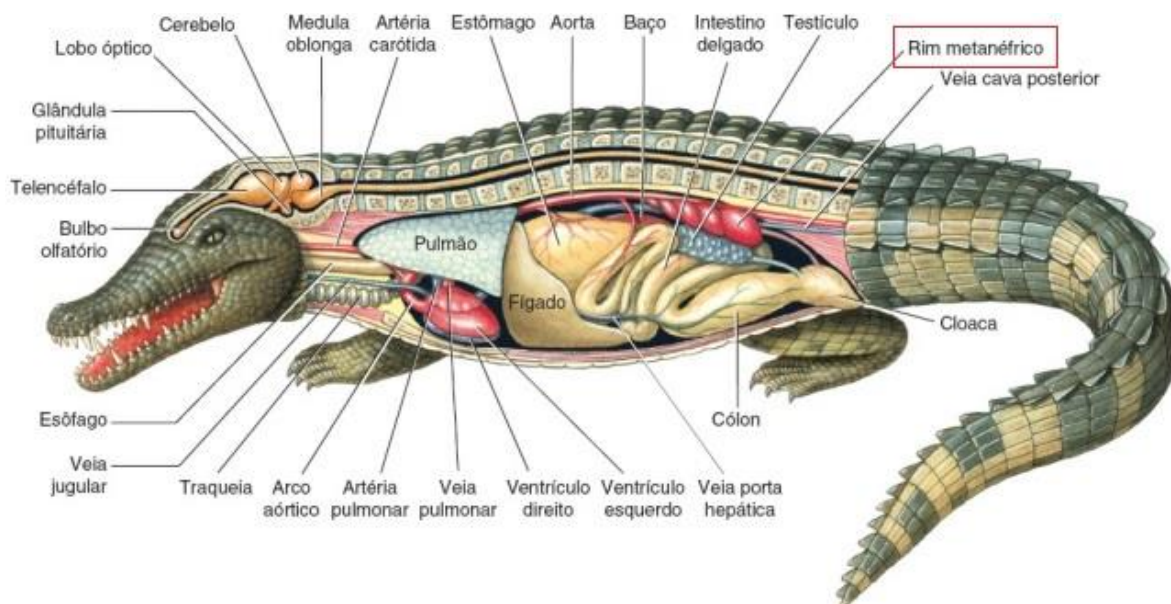


Figura 5 – Esquema representando os órgãos internos de crocodilo adulto macho, e em evidência rim metanefrítico esquerdo.
Fonte: Adaptado de Hickman *et al.*, 2016.

Relacionado a fisiologia urinária, todos os metabólitos excretados pela urina são, em sua maioria, componentes acumulados no organismo que necessitam serem eliminados para que não interfiram na homeostase do corpo (KARDONG, 2016). Os indivíduos do grupo dos Sauropsida são uricotélicos, ou seja, excretam resíduos nitrogenados. Nesses animais, de 80 a 90% do nitrogênio excretado é em forma de ácido úrico, com exceção das tartarugas de água doce. Quando animais excretam ácido úrico ao invés de ureia, a conservação da urina precisa acontecer de forma diferente. A ureia é um composto solúvel, portanto, a manutenção da urina nos rins pode conservar água, visto que a ureia não interfere na funcionalidade dos rins, porém, a concentração de ácido úrico pode causar precipitação e o bloqueio dos néfrons (POUGH; JANIS; HEISER, 2008).

A maioria dos túbulos renais dos répteis não possuem glomérulos, seus corpúsculos renais são muito reduzidos e possuem menor quantidade de capilares glomerulares que os demais vertebrados, fazendo com que a filtração tubular seja drasticamente reduzida. Espécies com hábitos de vida primariamente aquáticos ou que passem parte do tempo nesses ambientes, eliminam outras formas além do ácido úrico, como por exemplo os crocodilos e serpentes de

água salgada que eliminam uma parte dos resíduos em forma de amônia, e algumas espécies de tartarugas aquáticas em forma de ureia. Isso ocorre, pois estas espécies possuem maior disponibilidade e acesso à água, o que viabiliza a diluição das excretas (LIEM *et al.*, 2013).

4 DIAGNÓSTICO POR IMAGEM DO SISTEMA URINÁRIO

Os répteis não-avianos são comumente conhecidos como animais de zoológicos ou aquários, mas com a popularidade da sua criação como animais de estimação, maior atenção é dada a seus problemas de saúde, bem como para meios de diagnóstico que auxiliem médicos veterinários no atendimento desses pacientes (LOJSZCZYK-SZCZEPANIAK *et al.*, 2018). Para uma boa aplicação do diagnóstico por imagem, o conhecimento anatômico da espécie a ser estudada, assim como de suas variações de normalidade é imprescindível na interpretação das imagens. Contudo o avanço tecnológico e a validação científica a respeito da classe têm levado a diagnósticos mais assertivos (PEES, 2011).

Dentre as doenças que podem acometer o sistema urinário dos reptilianos, se destacam o cálculo urinário, gota, lesão renal aguda e crônica, e hiperparatireoidismo secundário renal. Portanto técnicas de imagem podem ser fundamentais no diagnóstico dessas patologias, com destaque para a radiologia e ultrassonografia como os exames mais utilizados no diagnóstico dessas patologias, principalmente pela maior disponibilidade (JOHNSON *et al.*, 2015).

O exame radiográfico apesar de simples, possui ótimo custo benefício, é uma modalidade não invasiva e encontra-se disponível em grande parte dos locais de atendimentos veterinários. São úteis na identificação de aumento renal, urólitos e efeitos de massa, mas apresentam desvantagem na avaliação pela sobreposição dos tecidos além de exposição à radiação ionizante (JOHNSON *et al.*, 2015; SCHMIDT; GIROLAMO; SELLERI, 2020).

O exame ultrassonográfico tem sido utilizado de forma frequente para fins clínicos, na avaliação da repleção urinária, do parênquima renal, para cistocentese e identificação de ovos ectópicos. É uma ferramenta de rápida visualização e significativa na avaliação do sistema urinário, entretanto possui limitação quanto aos artefatos de imagens gerados por gases e mineralizações (SCHMIDT; GIROLAMO; SELLERI, 2020).

Embora o exame ultrassonográfico quando comparado a radiografia tenha vantagens na avaliação celomática, não é escolhido como primeira ferramenta de avaliação e frequentemente é utilizado para obter imagens adicionais quando se suspeita de anormalidade. Uma vantagem da ultrassonografia é a possibilidade de realizar aspirados de citologia ou biópsias guiadas. A

avaliação renal envolve observação da ecogenicidade, tamanho e formato. A vesícula urinária quando presente deve ser avaliada quanto a espessura, regularidade da parede, além de presença ou não de conteúdo estranho como urólitos, identificados pela formação de sombra acústica posterior (HOCHLEITHNER; SHARMA, 2019).

Os rins reptilianos não possuem córtex, medular e pelve renal marcados, aparecendo com ecogenicidade uniforme na ultrassonografia. No geral, os rins são hiperecóticos quando comparados com o fígado, mas dependendo da espécie podem apresentar superfície multilobulada. Nas espécies com vesícula urinária, esta localiza-se no terço caudal da cavidade celomática e ultrassonograficamente observa-se parede fina hiperecótica, com lúmen contendo material com ecogenicidade mista, sugestivo de urina líquida com uratos (KNOTEK; SIMPSON; MARTELLI, 2017; SCHMIDT; GIROLAMO; SELLERI, 2020).

Outros exames de imagem incluem a tomografia computadorizada (TC), a ressonância magnética (RM) e a endoscopia. Em TC são produzidas imagens seccionais em planos tridimensionais que após adquiridas permitem avaliação precisa de todo o sistema urinário sem as limitações de sobreposição (PEES, 2011). O exame de RM apesar de fornecer melhores imagens de tecidos moles, é um procedimento mais demorado e assim como a TC requer que o animal seja anestesiado, sendo ainda fator limitante o tamanho de alguns animais e a presença do microchip de identificação (FAZIO, 2021; PEES, 2011).

A endoscopia permite a visualização direta de alguns órgãos de forma minimamente invasiva, possibilitando ainda a coleta de amostras teciduais, retirada de corpos estranhos e cirurgias guiadas. O nome do procedimento com a utilização do endoscópio é classificado de acordo com a região estudada, e em répteis através da cloacoscopia é possível a avaliação da abertura uretral e bexiga e por meio da celioscopia a avaliação dos rins (DIVERS, 2019).

4.1 TESTUDINES

No exame radiográfico dos Testudines, a visualização de órgãos do sistema urinário é facilitada quando há acometimentos, como gota ou nefromegalia, que torna os rins visíveis, como duas estruturas ovóides craniais as fossas pré-femorais (Figura 6), devido ao aumento na sua radiopacidade (SCHMIDT; GIROLAMO; SELLERI, 2020).

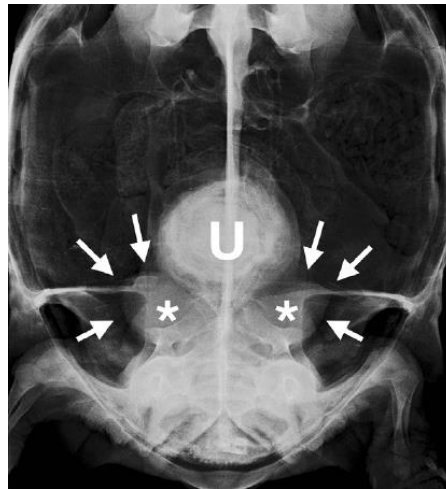


Figura 6 – Imagem radiográfica em projeção dorsoventral de *Geochelone sulcata* (tartaruga-de-esporas-africana), evidenciando aumento de radiopacidade (asteriscos) e silhueta renal (setas), sugestivos de nefromegalia. Observa-se ainda urólito (U) em vesícula urinária.
Fonte: Schmidt; Girolamo e Selleri (2020).

A vesícula urinária nesses animais é extremamente expansiva em volume, bilobada e homogênea com o celoma, tornando difícil diferenciá-la em radiografias simples. Contudo algumas alterações radiográficas podem ser evidenciadas, como repleção excessiva, urolitíase ou ovos ectópicos. Os urólitos são mais visíveis devido ao tamanho, densidade e deposição de conteúdo mineral (SCHMIDT; GIROLAMO; SELLERI, 2020). O exame com administração de contraste, iodado não iônico intravenoso, permite melhor avaliação dos rins, ureteres e identificação de outras condições patológicas, como cálculos pequenos não radiopacos, ruptura, hérnia, deslocamentos e massas neoplásicas (HOLMES; DIVERS, 2019a).

Para realização de imagens durante o exame ultrassonográfico de quelônios, a vesícula urinária e os rins podem ser avaliados através do espaço entre a carapaça, o plastrão e as fossas pré-femorais (Figura 7), essas janelas acústicas são utilizadas para permitir que o som se propague pelos tecidos e retornem ao transdutor (PEES, 2011).



Figura 7 – Posicionamento de transdutor ultrassonográfico micro convexo em espaço pré-femoral esquerdo (janela acústica) de *Sternotherus odoratus* (tartaruga almiscarada comum).
Fonte: Pees (2011).

Na avaliação por TC, os rins aparecem homogêneos e sem distinção de córtex, medula e pelve renal (Figura 8) (KNOTEK; SIMPSON; MARTELLI, 2017; SCHMIDT; GIROLAMO; SELLERI, 2020).

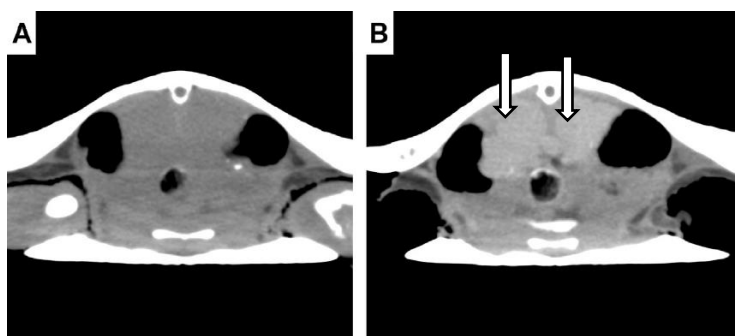


Figura 8 – Corte transversal de TC de área pélvica de *Trachemys scripta elegans* (tartaruga-de-orelha-vermelha) antes (A) e depois (B) da administração de contraste (iohexol 440 mg/kg). Observe a melhor delimitação do parênquima renal (setas) em B.

Fonte: Adaptado de Schmidt, Girolamo e Selleri (2020).

4.2 SQUAMATA

Os rins das serpentes localizam-se dorsalmente ao intestino, no terço caudal da cavidade celomática, e quando normais não são evidenciados radiograficamente, entretanto, quando ocorrem alterações no formato, tamanho e textura são visualizados com facilidade. Dentre as afecções que podem ocasionar nefromegalia em serpentes, estão: infecção, gota e neoplasia. Devido ao aumento renal constipação por compressão extramural de segmento intestinal pode se tornar uma complicação, nesses casos estudos com contraste podem demonstrar envolvimento renal e a localização da região comprimida (Figura 9) (BANZATO *et al.*, 2013; COMOLLI; DIVERS, 2019; KNOTEK; SIMPSON; MARTELLI, 2017).

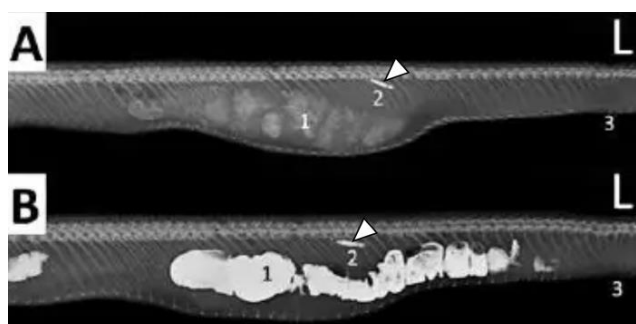


Figura 9 - Radiografias de *Lampropeltis getula californiae* (serpente real da Califórnia), pré (A) e pós (B) administração de contraste de bário em trato gastrointestinal, demonstrando constipação (1), cranial a um deslocamento ventral de conteúdo intestinal, com efeito de massa (2), foi ainda identificada a cloaca (3) e o microchip (ponta de seta). O animal foi encaminhado para cirurgia exploratória, e confirmou-se a presença de massa renal.

Fonte: Comolli e Divers (2019).

Ultrassonografia de serpentes é desafio pelo movimento desses animais, mas ao mesmo tempo simples pelo fácil acesso a qualquer região do corpo. Os rins cilíndricos, mostram textura homogênea e são facilmente visualizados, no terço caudal da cavidade celomática, lateral ao intestino e caudal as gônadas, com o transdutor na região dorsal ou ventral (Figura 10) (KNOTEK; SIMPSON; MARTELLI, 2017; SCHMIDT; GIROLAMO; SELLERI, 2020).

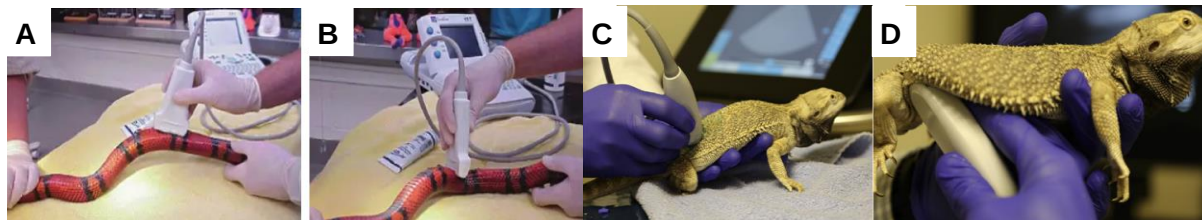


Figura 10 – Posicionamento de transdutor ultrassonográfico em *Lampropeltis triangulum hondurensis* (cobra leiteira hondurenha) para aquisição de imagem em corte longitudinal (A) e transversal (B). Posicionamento dorsal (C) e ventral (D) do transdutor ultrassonográfico em *Pogona vitticeps* (dragão barbudo) para avaliação ultrassonográfica dos rins intrapélvicos. Fonte: A e B, Adaptado de Stetter (2006); C e D, Adaptado de Schmidt, Girolamo e Selleri (2020).

No exame ultrassonográfico o posicionamento do transdutor na região dorsal caudal (Figura 10C) e ventral caudal (Figura 10D), é utilizado para visualizar estruturas do sistema urinário, e em alguns lagartos, os rins são bem avaliados a partir do dorso do animal ao nível da pelve. Em imagens tomográficas com janela de tecido mole, os rins são vistos dentro do canal pélvico e com aparência heterogênea em algumas espécies (BANZATO *et al.*, 2013; SCHMIDT; GIROLAMO; SELLERI, 2020). Lagartos possuem rins inclusos total ou parcialmente no canal pélvico (Figura 11A) lateralmente à coluna lombar (Figura 11B) e geralmente localizados na região dorsocaudal (Figura 11C) da cavidade celomática (Figura 4D), o que torna a avaliação renal difícil nesses animais, exceto em casos de nefromegalia (BANZATO *et al.*, 2013; KNOTEK; SIMPSON; MARTELLI, 2017; SCHMIDT; GIROLAMO; SELLERI, 2020).

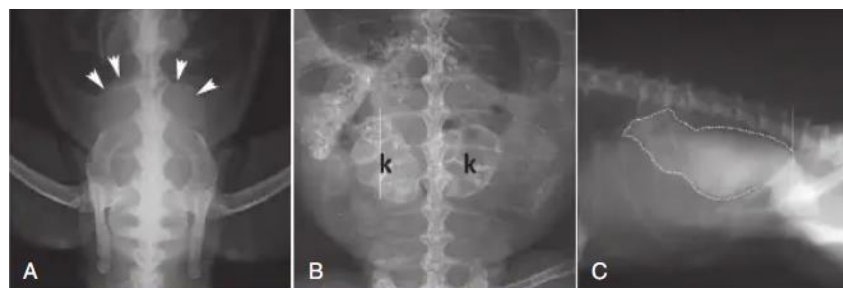


Figura 11 – (A) Radiografia em projeção dorsoventral, da porção caudal da cavidade celomática de *Iguana iguana* (iguana verde), sugerindo aumento renal por deslocamento das silhuetas renais craniais à pelve (setas). (B) Projeção dorsoventral da região caudal do celoma de *Uromastix aegyptius* (lagarto de cauda espinhosa) evidenciando posicionamento bilateral dos rins (k). (C) Radiografia com contraste positivo (urografia excretora), em projeção lateral de *Iguana iguana*.

Physignathus cocincinus (dragão chinês de água) evidenciando irregularidade da silhueta renal cranial (linha pontilhada).

Fonte: Adaptado de Holmes e Divers (2019b).

A vesícula urinária, assim como os rins, deve apresentar radiopacidade de tecidos moles, e quando presente pode ser de difícil identificação pela baixa qualidade de detalhes (HOLMES; DIVERS, 2019b). Exames com utilização de contraste, como a urografia excretora renal, auxiliam na avaliação e ainda trazem informação quanto ao funcionamento e tamanho dos rins, pois quando aumentados podem levar a compressão extramural do cólon, visto que também possui segmento pélvico (BANZATO *et al.*, 2013; HOLMES; DIVERS, 2019b). Cálculos urinários não são incomuns nesses animais, e muitas vezes estão associados a distúrbios dietéticos, por excesso proteico ou desidratação. Outras causas incluem retenção urinária ou infecção bacteriana (HOLMES; DIVERS, 2019b).

4.3 CROCODYLIA

Em crocodilianos, a viabilidade do estudo radiográfico do sistema urinário vai depender do tamanho do animal e da potência do equipamento disponível, com isso, a contenção adequada é sempre necessária para proteger o pessoal envolvido e o próprio animal durante o procedimento, sendo na maioria das vezes necessária sedação ou anestesia. Em animais menores, pode ser mais fácil a visualização de órgãos do sistema urinário principalmente em alterações como urolitíase (Figura 12) (RADEMACHER; NEVAREZ, 2019).



Figura 12 – Radiografia em projeção lateral da cavidade celomática caudal de *Alligator mississippiensis*, evidenciando estrutura radiopaca como possível urólito (setas brancas) e osso púbico alongado (setas pretas).

Fonte: Rademacher e Nevarez (2019).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os répteis não-avianos são unidos exclusivamente por características fenotípicas e, portanto, não podem ser considerados um grupo evolutivo natural, sem que sejam incluídas as aves. Agrupar animais com base na semelhança externa que eles exibem, formas corporais superficiais e estruturas que a cobrem, pode mascarar diferenças profundas de anatomia e fisiologia, adquiridas independentemente ao longo da história evolutiva dessas espécies. Exames de diagnóstico por imagem, permitem o estudo da anatomofisiologia, assim como diagnosticar, de forma não invasiva, patologias que acometem esses animais.

6 AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo – FAPES e CAPES, termo de outorga 137/2021 por meio do edital PDPG (Programa de Desenvolvimento da Pós-Graduação – PDPG), através do projeto “*Consolidação dos Programas de Pós-Graduação – parcerias estratégicas no estado na área de Ciências Agrárias do Estado do Espírito Santo – Medicina Veterinária*” e Edital FAPES nº 03/2021 – UNIVERSAL #437/2021.

7 REFERÊNCIAS

- BANZATO, T. *et al.* A review of diagnostic imaging of snakes and lizards. **The Veterinary Record**, v. 173, p. 43-9, 2013.
- BENTON, M. J. **Vertebrate palaeontology**. 4. ed. Nova Iorque: Wiley-Blackwell, 2014. 480p.
- BEVER, G. S. *et al.* Evolutionary origin of the turtle skull. **Nature**, v. 525, p. 239-242, 2015.
- CARROLL, R. L. The earliest reptiles. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 45, p. 61-83, 1964.
- CARROLL, R. L. **Vertebrate paleontology and evolution**. 1. ed. Nova Iorque: W. H. Freeman and Company, 1988. 711p.
- COMOLLI, J. R.; DIVERS, S. J. Radiography – snakes. *In*: DIVERS, S. J.; STAHL, S. J. **Mader’s reptile and amphibian medicine and surgery**. 3. ed. Missouri: Elsevier, 2019. p. 503-513.

DIVERS, S. J. Diagnostic endoscopy. *In*: DIVERS, S. J.; STAHL, S. J. **Mader's reptile and amphibian medicine and surgery**. 3. ed. Missouri: Elsevier, 2019. p. 604-614.

FARIA, T. N. **Topografia e morfologia do sistema urinário de jabuti “*Geochelone carbonaria*” (Spix, 1924)**. 2003. 86f. Tese (Doutorado em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres) – Programa de Pós-Graduação em Ciências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

FAZIO, C. Diagnostic imaging. *In*. GRAHAM, J. E.; DOSS, G. A.; BEAUFRÈRE, H. **Exotica animal emergency and critical care medicine**. 1. ed. Hoboken: Wiley, 2021. p. 783-799.

FOX, H. The urinogenital system of reptiles. *In*: GANS, C.; PARSONS, T. S. **Biology of the Reptilia: morphology**. v. 6. Londres e Nova Iorque: Academic Press Inc, 1977. p. 1-156.

GIRLING, J. S.; RAITI, P. **BSAVA manual of reptiles**. 3. ed. Inglaterra: British Small Animal Veterinary Association, 2019. 522p.

HICKMAN, C. P. *et al.* **Princípios integrados de zoologia**. 16. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 2016. 1405p.

HOCHLEITHNER, C.; SHARMA, A. Ultrasonography. *In*: DIVERS, S. J.; STAHL, S. J. **Mader's reptile and amphibian medicine and surgery**. 3. ed. Missouri: Elsevier, 2019. p. 543-559.

HOLMES, S. P.; DIVERS, S. J. Radiography – chelonians. *In*: DIVERS, S. J.; STAHL, S. J. **Mader's reptile and amphibian medicine and surgery**. 3. ed. Missouri: Elsevier, 2019a. p. 514-527.

HOLMES, S. P.; DIVERS, S. J. Radiography – lizards. *In*: DIVERS, S. J.; STAHL, S. J. **Mader's reptile and amphibian medicine and surgery**. 3. ed. Missouri: Elsevier, 2019b. p. 491-502.

HUCHZERMEYER, F. W. Crocodiles and alligators. *In*: HUCHZERMEYER, F. W. **Crocodiles: biology, husbandry and diseases**. 1. ed. London: CABI Publishing, 2003. p. 1-56.

JOHNSON, J. G. *et al.* Urinary system. *In*: MITCHELL, M. A.; TULLY, T. N. J. **Current therapy in exotic pet practice**. Missouri: Elsevier, 2015. p. 494-548.

KARDONG, K. V. **Vertebrados**. Anatomia comparada, função e evolução. 7. ed. Rio de Janeiro: Editora Roca, 2016. 1172p.

KNOTEK, Z.; SIMPSON, S.; MARTELLI, P. Diagnostic imaging. *In*: DONELEY, B. *et al.* **Reptile medicine and surgery in clinical practice**. 1. ed. Hoboken: Wiley, 2017. p. 145-158.

LIEM, K. F. *et al.* O sistema excretor e a osmorregulação. *In*: LIEM, K. F. *et al.* **Anatomia funcional dos vertebrados: uma perspectiva evolutiva**. 3. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2013. p. 633-655.

LOJSZCZYK-SZCZEPANIAK, A. *et al.* Causes of consultations and results of radiological and ultrasound methods in lizard diseases (2006-2014). **Medycyna Weterynaryjna**, v. 18, n. 1, p. 65-69, 2018.

PEES, M. Reptiles. *In*: KRAUTWALD-JUNGHANNS, M. E.; PEES, M.; REESE, S. **Diagnosing imaging of exotic pets**. 1. ed. Hannover: Schlütersche, 2011. p. 309-439.

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A vida dos vertebrados**. 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2008. 718p.

RADEMACHER, N.; NEVAREZ, J. G. Radiography – crocodilians. *In*: DIVERS, S. J.; STAHL, S. J. **Mader's reptile and amphibian medicine and surgery**. 3. ed. Missouri: Elsevier, 2019. p. 528-542.

REAVILL, D. R.; SCHMIDT, R. E. Urinary tract diseases of reptiles. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 19, n. 4, p. 280-289, 2010.

ROSA, M. A. **Aspectos anatômicos da cloaca de Testudines**. 2008. 32f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008.

SCHMIDT, L.; GIROLAMO, N.; SELLERI, P. Diagnostic imaging of the reptile urinary system. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 23, n. 1, p. 131-149, 2020.

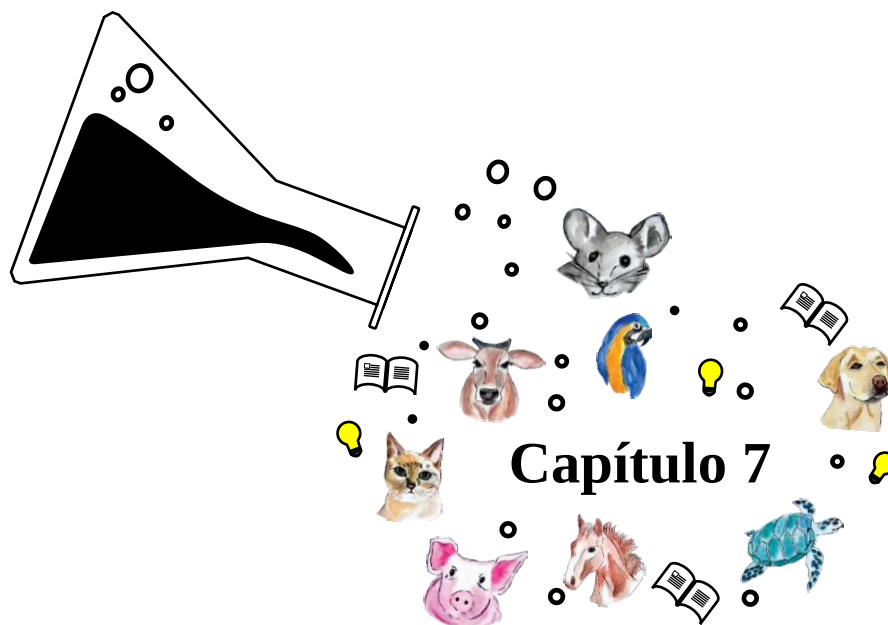
SHINE, R. Life-history evolution in reptiles. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, v. 36, p. 23-46, 2005.

SHINE, R. Reptiles. **Current Biology**, v. 23, n. 6, p. 227-231, 2013.

SILVA, L. H. R. da. **Anatomia descritiva e comparativa do sistema urinário de *Crotalus durissus* Linnaeus, 1758, *Bothrops neuwiedi* Wagler, 1824 e *B. moojeni* Hoge, 1965 (Ophidia, Viperidae)**. 2008. 62f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

STETTER, M. D. Ultrasonography. *In*: MADER, D. R. **Reptile medicine and surgery**. 2. ed. Missouri: Elsevier, 2006. p. 665-674.

WYNEKEN, J. **The anatomy of sea turtles**. 1. ed. Flórida: U.S. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum, 2001. 172p.



Produção de cordeiros saudáveis: manejo perinatal e neonatal em ovinos

Carlos Alberto Moreira Junior¹
Yasmini da Silva Schunk²
Marco Túlio Costa Almeida³
Rafael Otaviano do Rego⁴
Louisiane de Carvalho Nunes⁵

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: carlosamj_moreira@outlook.com

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: yasmini.schunk@edu.ufes.br

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: marco.t.almeida@ufes.br

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: rafael.rego@ufes.br

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: louisiane.nunes@ufes.br

1 INTRODUÇÃO

A franca expansão da população mundial com perspectiva de crescimento de 7,7 bilhões de pessoas para 8,5 bilhões em 2030, fomenta a constante e crescente demanda por alimentos, almejando a segurança alimentar mundial. Perante este cenário as exigências impostas aos sistemas de produção pecuários aumentam em rápida velocidade demandando maior eficiência, otimização e intensificação na produção de alimentos (OECD/FAO, 2021).

Diante do contexto da segurança alimentar, a ovinocultura assume papel importante desde os primórdios das civilizações, sendo os ovinos descritos como uma das primeiras espécies a serem domesticadas pelo homem para exploração de produtos e subprodutos destinados à alimentação e vestimentas. Devido à alta adaptabilidade dos animais às diversas condições ambientais, a ovinocultura encontra-se presente em todos os continentes, sendo explorada economicamente e, também, para a subsistência (VIANA, 2008).

No Brasil, o rebanho ovino está difundido por todas as unidades federativas totalizando cerca de 20,6 milhões de animais. Os maiores rebanhos encontram-se na região nordeste, sendo o estado da Bahia o detentor do maior rebanho brasileiro (IBGE, 2022). Frente às perspectivas de mercado e considerando a aptidão de produção pecuária brasileira, esta atividade apresenta grandes oportunidades econômicas para os pecuaristas do Brasil (OECD/FAO, 2021).

Contudo, um dos grandes entraves na atividade da ovinocultura e o fator que ainda limita a produção mundial de ovinos, são as mortes de cordeiros entre o período perinatal até a desmama, com porcentagens de mortalidades em torno de 15 a 20% (FLINN *et al.*, 2020). Consequentemente os prejuízos gerados às indústrias, decorrentes da perda na produção, são considerados milionários (LANE *et al.*, 2015). Segundo Riet-Correa e Méndez (2001), as mortes são atribuídas principalmente a ocorrência de abortos infecciosos, distocias, infecções neonatais, complexo inanição/hipotermia e predação.

Neste sentido, para que ocorra a diminuição dos prejuízos gerados pelas perdas de cordeiros é de fundamental importância que manejos sanitários, nutricionais e reprodutivos sejam estabelecidos na propriedade. Para isso, é essencial conhecer as principais enfermidades de ocorrência nessa categoria animal bem como o manejo preventivo nas fêmeas gestantes e suas crias (NOBREGA JR. *et al.*, 2005).

Frente às realidades expostas, tem-se como objetivo descrever os principais cuidados no período perinatal com as matrizes e no período neonatal com as crias, além de relatar as principais causas de morte dos animais, visando a produção de cordeiros saudáveis.

2 MANEJO REPRODUTIVO

As ovelhas são classificadas como poliéstricas estacionais de dias curtos ou contínuas, com a duração do ciclo estral em média de 17 dias e duração do cio próximo de 30 a 32 horas (SANDOVAL JR. *et al.*, 2015). Para a ocorrência dos eventos reprodutivos, fatores como o fotoperíodo, latitude, raça e disponibilidade alimentar são considerados fundamentais (FONSECA; SOUZA; BRUSCHI, 2007).

Os métodos de reprodução mais utilizados nas propriedades que desenvolvem a ovinocultura, são a monta natural e a inseminação artificial. A monta natural se subdivide em diferentes sistemas, sendo eles a monta natural livre, a monta natural controlada e, por fim, a monta natural direcionada (FONSECA; SOUZA, 2011). A inseminação artificial pode ser realizada por meio da observação de cio, utilizando-se rufiões marcadores ou pela realização de protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), na qual se induz a ovulação pela aplicação de medicamentos. Como técnicas de inseminação descritas, temos a vaginal, a cervical, a uterina, a transcervical e a por via laparoscópica, sendo a última a mais eficiente e recomendada. Em todas as técnicas descritas podem ser utilizadas doses de sêmen resfriadas, congeladas ou frescas (FONSECA; SOUZA, 2011; LOBATO *et al.*, 2013).

2.1 SELEÇÃO DE MATRIZES

Os cuidados para a obtenção de cordeiros de qualidade e saudáveis antecedem bastante o seu nascimento, tendo início na seleção dos animais que serão destinados à reprodução (MACHADO, 2007). Desta forma, a seleção das ovelhas que serão as futuras matrizes na propriedade deve considerar essencialmente: padrão racial, conformação e saúde do úbere, higidez, habilidade materna, persistência de lactação, desenvolvimento corporal satisfatório e boa fertilidade. Em associação, fatores negativos como defeitos de aprumos, bragnatismo e prognatismo, albinismo, tetas extranumerárias, vulvas infantis e conformação pélvica estreita, devem ser desclassificatórios (CÂMERA; SILVA; GUERRA, 2015; SANDOVAL JR. *et al.*, 2015).

O escore de condição corporal (ECC) é outro fator extremamente importante na triagem das fêmeas para a estação de monta, pois este está intimamente ligado à condição reprodutiva do animal. Em uma escala de 1 a 5, em que 1 indica o animal magro e 5 obeso, o ECC considerado ideal para se obter bons índices reprodutivos na estação de monta é de 2,75 a 3,25

(SANDOVAL JR. *et al.*, 2015). O ECC também deve ser avaliado durante a gestação, período em que, segundo Souza, Moraes e Jaume (2006) deve ser em torno de 3,0. Esta ferramenta avaliativa auxilia de maneira satisfatória na tomada de decisões quanto ao direcionamento das dietas, prevenindo manejos nutricionais inadequados que podem gerar impactos negativos como o aumento mortalidade em cordeiros e matrizes, nascimento de cordeiros leves e piores índices zootécnicos para os cordeiros (PILAN *et al.*, 2010).

2.2 ESTAÇÃO DE MONTA

Em um sistema de criação de ovinos um componente indispensável ao manejo reprodutivo é a estação de monta, a qual compreende no acasalamento estratégico dos animais em um determinado período do ano. Dentre seus benefícios temos a concentração dos nascimentos dos cordeiros, produção de lotes homogêneos, concentração de manejos sanitários e nutricionais e a produção de animais para o mercado na entressafra. (SANDOVAL JR. *et al.*, 2015).

Para o estabelecimento de uma estação de monta, que venha favorecer o sistema de criação, deve-se levar em consideração a estação reprodutiva dos animais, a disponibilidade de comida ao longo do ano, períodos mais favoráveis para a sobrevivência da cria e a manutenção das matrizes (FONSECA; SOUZA, 2011).

Conforme descrito por Sandoval Jr. *et al.* (2015), o tempo médio de permanência das fêmeas junto aos reprodutores podem variar de 42 a 61 dias em ovelhas, o que permite ocorrência de até quatroaios, o que pode proporcionar a chance de prenhez das fêmeas de até quatro vezes.

Práticas sanitárias como a vermifugação, vacinação e casqueamento, quando necessários, também são indicados antes do início da estação de monta, para que não reflita negativamente na fertilidade dos animais (FONSECA; SOUZA, 2011).

Ao finalizar um período de acasalamento é de fundamental importância a utilização de um método de diagnóstico de gestação que possibilite o diagnóstico precoce e que seja preciso e viável dentro do sistema de produção (ARASHIRO *et al.*, 2018).

Um método amplamente utilizado em condições de campo para diagnóstico de gestação em ovinos, caracterizado como não invasivo e seguro, é o exame ultrassonográfico, o qual pode ser realizada pelas vias transabdominal e transretal (PETRUJKIĆ *et al.*, 2016). Conforme citado por Santos *et al.* (2017), pelo exame ultrassonográfico pode-se obter o diagnóstico de gestação

confiável aos 20 dias de prenhez, pela observação do acúmulo de líquido uterino e presença do embrião, sendo a viabilidade fetal passível de ser observada entre os dias 20 e 30.

3 CUIDADOS COM A FÊMEA GESTANTE

Ao serem diagnosticadas como prenhas, as ovelhas devem receber cuidados especiais, pois, notadamente, o período gestacional representa ponto chave para a obtenção de cordeiros saudáveis. Sendo assim, é fundamental o direcionamento de manejos adequados à fêmea gestante. O período gestacional dura em média 150 dias, o qual pode ser subdividido em três momentos: início, meio e final de gestação. Esta divisão auxilia no direcionamento do manejo que deve ser destinado aos animais em cada período (HOOPER *et al.*, 2018).

A fase inicial da gestação, que compreende da concepção até confirmação de gestação, é considerada uma fase crítica onde podem ocorrer perdas e reabsorções embrionárias. Para se evitar prejuízos nesta fase deve-se evitar qualquer tipo de estresse, seja nutricional ou físico, e manejos excessivos. O período que compreende do 40º ao 105º dia de gestação é considerado o meio da gestação e é justamente nesse período que se recomenda realizar diagnóstico de gestação, ajustes nutricionais, divisão de lotes e se programar para o período de parição. Por fim, tem-se a fase final da gestação que começa a partir dos 105 dias de prenhez, se estendendo até a data do parto. Nesta fase observa-se grande crescimento do feto e alterações fisiológicas na fêmea gestante (HOOPER *et al.*, 2018; SANTANA; ESTEVES; CHAGAS, 2015).

As ovelhas gestantes apresentam diferentes necessidades nutricionais para cada período de gestação e é de suma importância o manejo alimentar atenda corretamente as exigências de cada etapa para proporcionar a manutenção da saúde das matrizes e o nascimento de cordeiros saudáveis (HOOPER *et al.*, 2018).

Rogério *et al.* (2016) descreveram que no período inicial da gestação as exigências nutricionais das ovelhas são menores e que uma dieta baseada em forrageiras de boa qualidade são o suficiente para atender as necessidades da categoria. Conforme a gestação vai avançando e os fetos desenvolvendo a exigência por mais nutrientes aumentam e, seguindo caminho contrário, a capacidade física ruminal para conter alimentos diminui. Devido esta condição, atenção nutricional maior deve ser direcionada às ovelhas em fase final da gestação no intuito de prevenir a ocorrência de doenças metabólicas como a toxemia da prenhez e hipocalcemia, e outros processos patológicos como distocias, nascimento de cordeiros com baixo peso corporal e produção ineficiente de colostro (SANTANA; ESTEVES; CHAGAS, 2015).

Além disto, ovinos de forma geral são bastante sensíveis às clostridioses, em especial à enterotoxemia, doença cujo agente etiológico é a bactéria denominada *Clostridium perfringens* tipo C. Em decorrência a essa alta susceptibilidade é indicado uma vacinação pré-parto nas gestantes, com a aplicação de duas doses, uma aos 45 dias antes da parição e outra com 15 dias antes do dia do parto. Esse manejo fornece ao colostro uma alta concentração de anticorpos contra as clostridioses, o que por sua vez é fundamental na proteção dos cordeiros na fase inicial da vida (COSTA *et al.*, 2012; SANTANA; ESTEVES; CHAGAS, 2015).

Segundo Amarante, Ragozo e Silva (2014), as verminoses também são responsáveis por causar impactos econômicos negativos à atividade, seja pelas mortes ou pela redução na produtividade dos animais. Dentre os parasitos gastrintestinais que ocorrem em ovinos destacam-se: *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp., *Strongyloides papillosus*, *Oesophagostomum* spp. e *Trichuris* spp.. No entanto, *Haemonchus contortus* é a espécie mais prevalente e gera impactos clínicos mais evidentes em países de clima tropical e subtropical.

De acordo com este mesmo autor, as verminoses também são responsáveis por causar impactos econômicos negativos à atividade, seja pelas mortes ou pela redução na produtividade dos animais. Neste contexto, as fêmeas ovinas no período periparto e animais jovens, são as categorias animais mais severamente acometidas dentro do rebanho. Em outro estudo realizado por Gugel *et al.* (2012) também foi verificado um aumento da carga parasitária em ovelhas entre o terço final da gestação e os primeiros dias de lactação. Frente a alta susceptibilidade das fêmeas gestantes às estas enfermidades, o manejo antiparasitário com a administração de drogas anti-helmínticas adequadas, direcionados por exames coproparasitológicos na fase final da gestação são indicados para que se otimize a produção e reduza a carga parasitária ambiental, reduzindo a infecção dos cordeiros na fase neonatal (FTHENAKIS *et al.*, 2012).

Ao se aproximar da data do parto, cuidados especiais devem ser adotados para proporcionar maior segurança e menor estresse a parturiente. É indicado que fêmeas em estágio final de gestação sejam alocadas em piquetes ou baias de parição que estrategicamente devem estar próximos as principais instalações da propriedade para facilitar o monitoramento e assessoramento aos animais no período de parição (SANDOVAL JR. *et al.*, 2015). Estas instalações devem estar dispostas de água, sombra e alimento de qualidade e também oferecer proteção contra ventos, chuvas, baixas temperaturas e predadores (COSTA *et al.*, 2012; HOOPER *et al.*, 2018; SANDOVAL JR. *et al.*, 2015; SANTANA; ESTEVES; CHAGAS, 2015).

Ao chegar no momento do parto, as pessoas envolvidas no manejo devem estar cientes que o processo é algo natural e, eventualmente, necessita de auxílio humano. O tempo de parto em ovelhas leva em torno de uma hora, podendo ser maior em fêmeas primíparas (TONIOLLO; VICENTE, 2003). Alguns pontos importantes como se o recém-nascido está com as vias respiratórias livres, se conseguem ficar em estação, se a mãe demonstra habilidade materna, e se este consegue mamar o colostro, devem ser observados logo após o nascimento. Caso haja falha em algum desses pontos, haverá a necessidade de intervenção externa (RIET-CORREA; SIMÕES; AZEVEDO, 2011).

4 CUIDADOS COM OS NEONATOS

Segundo Riet-Correa e Méndez (2001), os primeiros 28 dias de vida dos cordeiros são considerados críticos do ponto de vista sanitário e compreende o estágio da vida desses animais com maiores taxas de mortalidade, que pode chegar a 40%. Visto isso, os cuidados neonatais são indispensáveis para obtenção de cordeiros saudáveis e produtivos o que consequentemente trará melhores resultados à ovinocultura (RORATTO *et al.*, 2013).

4.1 IDENTIFICAÇÃO E REGISTRO DE PESO DO CORDEIRO

A identificação dos cordeiros por meio de brincos, colares numerados ou tatuagens, é de suma importância, pois permite o acompanhamento zootécnico dos mesmos. Também é essencial a avaliação do peso ao nascimento, uma vez que animais com baixo peso (menos de 3kg) são mais suscetíveis a doenças, precisam de maior atenção e cuidado e, consequentemente, reflete negativamente na sua vida produtiva. Ademais, a comparação do peso ao nascimento com o peso após a primeira mamada, é um dos indicadores se o cordeiro ingeriu ou não o colostro (PERUZZI *et al.*, 2015).

Acompanhar o ganho de peso diário também auxilia no diagnóstico precoce de doenças, de modo que registros de perda de peso por três dias consecutivos é preocupante e precisa de avaliação clínica completa e minuciosa do animal, a fim de investigar possíveis causas e iniciar a intervenção terapêutica precocemente (SILVA *et al.*, 2019). Estudo feito por Peruzzi *et al.* (2015) mostra que o ganho de peso médio diário pode variar de 120 g/dia a 190 g/dia do nascimento até o desmame (desmame aos 45 dias de idade), sendo este um importante indicativo para o acompanhando do desempenho dos animais.

4.2 CURA DO UMBIGO

Após o nascimento, o umbigo se torna uma região vulnerável e passa a ser uma porta de entrada fácil para microrganismos patogênicos. Neste sentido, a cura adequada do umbigo é importante, à fim de evitar a entrada destes agentes. Um dos cuidados pode ser feito com a utilização de solução de iodo à 10%, de forma que todo o cordão umbilical fique imerso na solução por pelo menos um minuto, o que permite secagem adequada. Esse procedimento deve ser feito uma vez ao dia, de três a cinco dias após o nascimento (SANTANA; ESTEVES; CHAGAS, 2015).

Quando a cura não ocorre de forma adequada, microrganismos presentes no meio externo conseguem invadir e provocar infecção local e desencadear processos patológicos que serão salientados posteriormente. Além disso, esses patógenos podem ascender por via hematogênica para o organismo e causar infecções em outros locais, como as articulações, provocando artrite e até mesmo quadros de sepse, podendo levar o animal à morte (NUNES *et al.*, 2021).

4.3 AMBIÊNCIA E ACLIMATAÇÃO DO CORDEIRO

Outro ponto essencial para garantir a vitalidade dos cordeiros é o estabelecimento de conforto térmico, isso porque o mecanismo hipotalâmico de regulação da temperatura desses animais ainda não está formado em sua totalidade assim que nascem, tornando-os susceptíveis à redução de temperatura. Quando o cordeiro sente frio utiliza suas reservas de energia a fim de aumentar o metabolismo e manter a temperatura corporal. Contudo, quando essas reservas não são suficientes o animal entra em quadro de hipotermia, que pode evoluir para a morte (SANTANA; ESTEVES; CHAGAS, 2015).

Portanto, o fornecimento de fonte de calor para gerar aquecimento é crucial para garantir o conforto térmico dos cordeiros. Uma maneira eficiente é a iluminação artificial por meio de campânula. Para evitar o superaquecimento dos animais é preciso que a campânula esteja em uma altura ideal (1,7 metros do chão) para gerar conforto térmico (SANTOS *et al.*, 2012).

Outro ponto importante a ser feito no ambiente dos animais é a higiene das instalações. Esta medida visa evitar propagação de doenças relacionadas principalmente com o trato gastrointestinal, como por exemplo, verminoses. O uso de piso ripado para evitar o acúmulo de fezes é recomendado, além da troca da cama sempre que apresentar muitas áreas de umidade e

fezes (SANTANA; ESTEVES; CHAGAS, 2015).

4.4 INGESTÃO DO COLOSTRO E AVALIAÇÃO DA TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA (TIP)

O colostro é o composto rico em imunoglobulinas que precede a produção do leite pela glândula mamária, geralmente é eliminado nos primeiros três dias após o parto. Fornece energia e nutrição aos cordeiros e é fundamental para transferir passivamente proteção imunológica (ULIAN *et al.*, 2014). Os cordeiros nascem com baixas concentrações de imunoglobulinas, principalmente as γ -globulinas, e por isso são considerados hipogamaglobulinêmicos antes de ingerirem o colostro. Isto porque a placenta dos pequenos ruminantes é do tipo sindesmocorial e impede a passagem de imunoglobulinas de grande peso molecular da mãe para o feto (SOUZA *et al.*, 2014).

Neste sentido, é essencial que a ingestão do colostro ocorra logo após o nascimento, principalmente nas primeiras seis horas, uma vez que as primeiras células do intestino possuem alta capacidade de absorção de proteínas de alto peso molecular, como é o caso das γ -globulinas. Após a passagem da ingesta pelo intestino, ocorre desenvolvimento de nova camada de células intestinais que são impermeáveis à passagem de grandes moléculas, essa nova camada celular completa sua formação em até 24 horas após o nascimento, momento o qual a absorção de imunoglobulinas se torna mínima ou nula (ULIAN *et al.*, 2014).

A não ingestão do colostro ou a ingestão inadequada ocasiona falha na transferência de imunidade passiva (FTIP) total e parcial, respectivamente, desencadeando a formação de cordeiros imunossuprimidos e mais susceptíveis a doenças. A avaliação da transferência de imunidade passiva é, portanto, uma prática necessária para reduzir a mortalidade de cordeiros. Pode ser feita por meio de análises laboratoriais (SOUZA *et al.*, 2014) e à campo em avaliação clínica inicial (ULIAN *et al.*, 2014).

À campo a avaliação pode ser efetuada utilizando refratômetro convencional para dosar as proteínas totais séricas do cordeiro, depositando no aparelho uma gota de soro obtida após retração completa do coágulo de sangue, colhido à vácuo em tubo sem anticoagulante. O valor obtido é interpretado de modo que, quando menor ou igual a 5g/dL são considerados indicativos de FTIP total, valores acima de 5g/dL até 6g/dL são considerados FTIP parcial e valores acima de 6g /dL indicam boa transferência de imunidade passiva (TURQUINO *et al.*, 2011; ULIAN *et al.*, 2014).

A qualidade do colostro também é passível de ser realizada à campo, utilizando refratômetro com escala de Brix. A refratometria de grau Brix tem uma relação positiva com a concentração de imunoglobulinas (IgG), de modo que quando o ponto de corte é acima de 21,5% em pequenos ruminantes, indica um colostro de boa qualidade (BURANAKARL *et al.*, 2021).

Dentre os métodos laboratoriais, destacam-se as dosagens séricas de proteínas totais (PT) e suas frações (albumina e globulinas) e a mensuração de Gama glutamiltransferase (GGT). A albumina e PT obtidas por meio de método colorimétrico em aparelho bioquímico semiautomatizado ou automatizado, utilizando kits comerciais, enquanto o valor de globulinas é alcançado por meio de cálculo (ULIAN *et al.*, 2014). A GGT é uma enzima presente em abundância na glândula mamária e conseqüentemente eliminada no colostro (MONTEIRO *et al.*, 2018). Em estudo feito por Souza *et al.* (2014), foi observado aumento de aproximadamente 16 vezes mais dessa enzima em cordeiros após ingestão de colostro o que demonstra sua importância como indicador da TIP, diferentemente de animais adultos em que pode indicar lesão em canalículos hepáticos. Valores de GGT acima de 300 UI/L indicam uma boa TIP (MONTEIRO *et al.*, 2018).

4.5 USO DE *CREEP-FEEDING* NA ALIMENTAÇÃO DE CORDEIROS

O *creep-feeding*, ou cocho privativo, é uma estratégia nutricional que tem o intuito de melhorar os índices zootécnicos dos cordeiros e conseqüentemente das matrizes (Figura 1), podendo ser utilizado durante a fase de aleitamento. Nesse sistema é fornecido ração formulada própria para cordeiros, no qual apenas eles conseguem ter acesso a essa ração, mesmo que as matrizes estejam junto com os seus filhotes, elas não conseguem ter acesso ao *creep-feeding* (LIMA *et al.*, 2017).

Dentre as vantagens do *creep-feeding* têm-se cordeiros mais pesados à desmama e abate, melhor acabamento de carcaça, tempo de descanso para matriz e aumento do ganho de peso diário do cordeiro. Dentre as desvantagens pode-se citar o custo com a alimentação e a mão-de-obra (MENEZES; FERNANDES; SILVA, 2021).



Figura 1 – Cordeiros em confinamento utilizando o *creep-feeding*.
Local: Aprisco da Área Experimental de Rive, Alegre-ES, UFES.
Fonte: Os autores.

5 PRINCIPAIS CAUSAS DE MORTES EM CORDEIROS

5.1 COMPLEXO INANIÇÃO/HIPOTERMIA

O complexo inanição/hipotermia é uma síndrome que ocorre quando as reservas energéticas do cordeiro são baixas e as condições climáticas são desfavoráveis, fazendo com que o animal seja exposto a baixas temperaturas (NASCIMENTO, 2009). Representa a principal causa de mortes em cordeiros, com mortalidade variando de 40 a 78% (RIET-CORREA; MÉNDEZ, 2001).

Na síndrome em questão, os animais consomem suas reservas energéticas na tentativa de aumentar sua taxa metabólica basal, para assim produzir calor e aumentar a temperatura corporal. No entanto, animais com baixo peso ao nascimento possuem pouca reserva energética, e entram em quadro hipotermia. O quadro é agravado quando o animal para de se alimentar e não ingere o colostro materno, o que favorece o surgimento de doenças infecciosas, como é o caso das pneumonias (SANTANA; ESTEVES; CHAGAS, 2015).

Cordeiros encontrados em quadro de hipotermia/inanição apresentam temperatura retal igual ou inferior a 37°C, hipoglicemia, extremidades corporais frias a palpação, tremores musculares e desidratação. O neonato observado nessa situação precisa ser aquecido de forma rápida, utilizando bolsas térmicas com água morna e envolvidos em panos secos e limpos. É importante que seja fornecido colostro via sonda estomacal como fonte de energia para o

animal, é recomendado 50 mL de colostro por quilo de peso vivo. Os animais no qual a glicemia não conseguir ser controlada com o fornecimento de colostro, precisam de energia extra por meio de solução de glicose 20%, injetada por via intraperitoneal, 10 mL a cada quilo (SOUZA; MORAES; BENAVIDES, 2007).

Um ponto importante para evitar a ocorrência da síndrome no rebanho é garantir uma nutrição adequada da matriz do terço final da gestação, tal fato permite a geração de cordeiros mais pesados e consequentemente com reserva energética mais abundante (NASCIMENTO, 2009). Outro ponto é garantir uma aclimação adequada aos animais recém-nascidos, visto que a primeira semana de vida é o período de maior sensibilidade ao frio (SANTANA; ESTEVES; CHAGAS, 2015).

5.2 ONFALOPATIAS

As onfalopatias são um grupo de afecções que acometem o cordão umbilical, dentre elas pode-se citar hérnias umbilicais, onfalite, onfaloflebite e onfaloarterite. A onfalite é o processo inflamatório, geralmente de origem infecciosa, que atinge a parte externa e regiões circundantes do umbigo. Geralmente o problema se inicia com a onfalite, onde é possível observar aumento de volume do umbigo e sensibilidade à palpação. A partir deste foco, o processo infeccioso consegue atingir estruturas mais internas, provocando onfaloflebite, quando atinge a veia umbilical e onfaloarterite, quando atinge as artérias (HINTZ; BERTAGNON; LAPCZAK, 2019).

Alguns quadros podem evoluir com a disseminação da infecção por via hematogênica, podendo acometer articulações, levando a artrites e até mesmo em casos mais graves, pode ocorrer sepse ou até mesmo a morte do animal. Nesses quadros sistêmicos o animal geralmente apresenta febre, dificuldade de locomoção quando atinge articulações, perda do apetite e desidratação (NUNES *et al.*, 2021).

Desta forma, a melhor maneira de prevenir as onfalopatias é pela cura do umbigo, que deve ser iniciada logo após o nascimento, conforme descrito anteriormente.

5.3 ENTERITES NEONATAIS

As enterites neonatais assumem posições de destaque dentre as causas de mortes de cordeiros. Neste contexto, microrganismos como bactérias e coccídeos são frequentemente

relatados como causas de diarreias em cordeiros neonatos e responsabilizados por causarem sérios prejuízos ao sistema de produção (DINIZ *et al.*, 2017; MARTINS *et al.*, 2020; NOBREGA JR. *et al.*, 2005; SILVA; PIRES; QUINTAS, 2012).

5.3.1 Colibacilose

A colibacilose é uma doença relatada em cordeiros desencadeada por estirpes patogênicas da bactéria *Escherichia coli*, a qual pode desencadear quadros entéricos e septicêmicos nos animais. A manifestação entérica da enfermidade é desencadeada por *E. coli* enterogênica, que resulta em quadros clínicos de diarreias. Neste contexto, os animais com dois a três dias de vida são relatados como os mais afetados pelo quadro entérico, apresentando sinais clínicos de debilidade, diarreia com fezes amareladas, febre, desidratação e acidose metabólica, apresentando taxas de mortalidade de até 75%. A principal forma de disseminação da colibacilose é pelas fezes de animais clinicamente acometidos. Além disso, condições ambientais desfavoráveis como má higiene de instalações, altas densidades populacionais, frio e vento são considerados fatores predisponentes ao desenvolvimento da doença (SILVA; PIRES; QUINTAS, 2012).

O diagnóstico da colibacilose baseia-se nos achados clínico-epidemiológicos, achados de necropsia e laboratoriais. O tratamento é fundamentado na reposição hidroeletrólítica associada a terapia com anti-inflamatórios e antibióticos. Como medidas de prevenção e controle é indicada eficiente colostragem ao neonato, cura de umbigo correto e condições higiênicas ambientais satisfatórias (RIET-CORREA; SIMÕES, AZEVEDO, 2011).

5.3.2 Coccidiose

Outra importante doença entérica que pode desencadear diarreia em cordeiros é a coccidiose. Esta é desencadeada por protozoários da subclasse Coccidea, como exemplos os gêneros *Eimeria* e *Cryptosporidium*. Entretanto, como mencionado por Paredes (2010), o termo coccidiose é utilizado com muita frequência para se referir à infestação por parasitos do gênero *Eimeria*.

Os protozoários do gênero *Eimeria* causam a doença conhecida por eimeriose, na qual a espécie mais patogênica aos ovinos é *E. ovinoitalis*. A doença se manifesta nos animais infectados de duas formas: clínica e subclínica. Na manifestação clínica observam-se diarreia

aquosa com estrias de sangue ou muco, desconforto abdominal, desidratação, anorexia e apatia, que, quando não tratados podem levar o animal a óbito. Enquanto, na forma subclínica, observam-se impactos negativos nos índices zootécnicos como a diminuição do ganho de peso, crescimento corporal insatisfatório e predisposição a outras enfermidades (CHARTIER; PARAUD, 2012).

A principal via de infecção é a via oro-fecal pela ingestão dos oocistos eliminados nas fezes. Epidemiologicamente, animais acima de um ano desenvolvem a doença subclínica, porém seguem eliminando oocistos no ambiente o que representa uma importante fonte de contaminação para os animais jovens que são mais susceptíveis à enfermidade (MARTINS *et al.*, 2020).

O diagnóstico das coccidioses, é baseado no levantamento do histórico e achados clínicos, achados anatomopatológicos macroscópicos e microscópicos e exames coproparasitológicos. Como medidas de controle e prevenção a manutenção de condições higiênico sanitárias de instalação, diminuição de fatores estressantes aos animais, nutrição adequada e o uso de drogas anticoccidianas e o uso de antibióticos ionóforos nas dietas. (CHARTIER; PARAUD, 2012; KEETON; NAVARRE, 2018; MARTINS *et al.*, 202;).

5.4 INFECÇÕES RESPIRATÓRIAS

As infecções respiratórias são responsáveis por altas morbidades e mortalidades em cordeiros, acarretando elevados prejuízos à atividade (RIET-CORREA; SIMÕES, AZEVEDO, 2011). No Semi-árido paraibano em um levantamento realizado entre o ano de 2002 a 2004, a broncopneumonia, foi responsável por 37,9% das mortes neonatais de cordeiros dentre as principais infecções que acometeram os animais nesse período (NOBREGA JR *et al.*, 2005).

Diversos fatores ambientais e também diferentes agentes etiológicos estão envolvidos no desenvolvimento de doenças respiratórias na espécie ovina. Dentre os fatores ambientais tem-se superlotação, condições inadequadas de ventilação, má higienização das instalações, elevada umidade e ausência de dispositivos que permitam reduzir o impacto gerado por variações bruscas nas temperaturas como condições predisponentes. Como agentes etiológicos, bactérias, vírus e parasitos, são responsáveis por desencadear problemas respiratórios nos ovinos (QUINTAS, 2012).

De acordo com Riet-Correa, Simões e Azevedo (2011), animais acometidos por infeções respiratórias podem apresentar sinais clínicos como secreção ocular, secreções nasais serosas a

mucopurulenta, febre, anorexia, depressão, relutância em movimentar-se, tosse e na auscultação pulmonar taquipneia, dispneia, sibilos, crepitação grossa e gemidos expiratórios.

Os diagnósticos das doenças respiratórias baseiam-se no levantamento do histórico clínico dos animais, exames necroscópicos, sorológicos e isolamento e identificação do agente causador. Com relação ao tratamento, recomenda-se quando se tratar de infecção bacteriana a utilização de antibióticos e anti-inflamatórios. Em infecções virais, por não haver tratamento efetivo, o descarte estratégico. Nas infecções por parasitos, a adoção de vermifugações estratégicas (FARIAS *et al.*, 2013).

A prevenção pela correção de fatores estressantes aos animais que os predispõe às infecções respiratórias, se mostra uma excelente saída para a redução dos prejuízos causados por essas doenças dentro de um sistema de criação (QUINTAS, 2012).

5.5 ATAQUE POR PREDADORES

O ataque por predadores à cordeiros é considerado na ovinocultura outra importante causa de morte nessa categoria, levando a sérios prejuízos econômicos ao produtor (SORDI, 2019). Animais vítimas de predação à necropsia podem apresentar lesões como hemorragias e traumatismos em pele, tecido subcutâneo, músculos e ossos.

Uma medida para se reduzir os prejuízos causado pela predação dos animais é a construção de currais ou piquetes de parição em locais de fácil monitoramento (SANDOVAL JR. *et al.*, 2015). Segundo Silveira (2014), a criação de cães junto ao rebanho, pode ser uma medida de proteção alternativa viável.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto, nota-se que para a produção de cordeiros saudáveis, a adoção de boas práticas do manejo reprodutivo, perinatal, neonatal, sanitário e nutricional é essencial. Além disto, permite a redução das altas taxas mortalidade de cordeiros, que atualmente, é um dos maiores entraves na ovinocultura.

7 REFERÊNCIAS

AMARANTE, A. F. T.; RAGOZO, A. M. A.; SILVA, B. F. **Os parasitas de ovinos**. São Paulo: Editora UNESP, 2014, 263p.

ARASHIRO, E. K. N. *et al.* Early pregnancy diagnosis in ewes by subjective assessment of luteal vascularisation using colour Doppler ultrasonography. **Theriogenology and International Journal of Animal Reproduction**, v. 106, p. 247-252, 2018.

BURANAKARL, C. *et al.* Validation of Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in goat colostrum. **Veterinary World**, v. 14, n. 12, p. 3194-3199, 2021.

CÂMERA, D. R.; SILVA, S. V.; GUERRA, M. M. P. Seleção de reprodutores e matrizes como estratégia para melhoria do desempenho produtivo da caprino – ovinocultura. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 18, n. 2, p. 28-33, 2015.

CHARTIER, C.; PARAUD, C. Coccidiosis due to *Eimeria* in sheep and goats, a review. **Small Ruminant Research**, v. 103, p. 84 – 92, 2012.

COSTA, H. F. *et al.* Cinética dos anticorpos de origem colostrar contra a toxina épsilon de *Clostridium perfringens* tipo D em cordeiros. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 17-21, 2012.

DINIZ, D. D. M. *et al.* Colibacilose septicêmica superaguda em cordeiro – relato de caso. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 15, n. 2, p. 229-230, 2017.

FARIAS, L. D. *et al.* Surto de manhemiose pneumônica no sul do Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, n. 2, p. 255-259, 2013.

FLINN, T. *et al.* Neonatal lamb mortality: major risk factor and the potential ameliorative role of melatonina. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 11, n. 107, p.1-11, 2020.

FONSECA, J. F.; SOUZA, J. M. G. Manejo reprodutivo de caprinos e ovinos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE. 5., FEIRA NACIONAL DO AGRONEGÓCIO DA CAPRINO-OVINOCULTURA DE CORTE. 3, 2011, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: EMEPA-PB, 2011. 1 CD-ROM, SINCORTE.

FONSECA, J. F.; SOUZA, J. M. G.; BRUSCHI, J. H. Sincronização de estro e superovulação em caprinos e ovinos. In: SIMPÓSIO DE CAPRINOS E OVINOS DA EV-UFMG. 2, 2007, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: UFMG, 2007. p. 167-195.

FTHENAKIS, G. C. *et al.* Health management of ewes during pregnancy. **Animal Reproduction Science**, v. 130, p. 198-212, 2012.

GUGEL, M. *et al.* Influência do parto na contagem de ovos de parasitas gastrointestinais em ovelhas: resultados preliminares. **Synergismus Scientifica UTFPR**, v. 07, n. 01, p. 1-3, 2012.

HINTZ, L. P.; BERTAGNON, H. G.; LAPCZAK, J. C. O. Avaliação de diferentes protocolos

preventivos para onfalopatias em bovinos de corte recém-nascidos. **PUBVET**, v. 13, n. 5, p. 1-7, 2019.

HOOVER, H. B. *et al.* Bem-estar durante o período gestacional de ovelhas: uma breve revisão. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 16, n. 1, p. 01-10, 2018.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). Pesquisa da pecuária municipal - 2020. **Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA**. Disponível em: <Pesquisa da Pecuária Municipal | IBGE >. Acesso em: 29 mai 2022.

KEETON, S. T. N.; NAVARRE, C. B. Coccidiosis in large and small ruminants. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**, v. 34, n. 1, p. 201-208, 2017.

LANE, J. *et al.* **Priority list of endemic diseases for the red meat industries**. Sydney: Meat & Livestock Australia Limited, 2015. 282 p.

LIMA, L. D. *et al.* **Efeito do creep feeding sobre as características qualitativas da carne de cordeiros Morada Nova**, comunicado técnico 168, EMBRAPA, Ceará, 2017.

LOBATO, E. P. *et al.* Manejo reprodutivo de ovinos. **PUBVET**, v. 7, n. 15, art.1572, 2013.

MACHADO, R. Manejo Reprodutivo. In: CHAGAS, A. C. S. *et al.* **Ovinocultura: controle da verminose, mineralização, reprodução e cruzamentos de ovinos na Embrapa Pecuária Sudeste**. 1. ed. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2007, p. 28-38.

MARTINS, N. S. *et al.* Eimeriose em bovinos e ovinos: uma inimiga invisível. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 19421 – 19434, 2020.

MENEZES, L. M.; FERNANDES, M. V. B.; SILVA, I. M. Eficiência do creep feeding sobre o desempenho de ovelhas Ideal e cordeiros Merino Australiano x Ideal. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e34110212663-e34110212663, 2021.

MONTEIRO, A. R. *et al.* Avaliação da transferência de imunidade passiva e de constituintes séricos de cordeiros Santa Inês nascidos de partos simples e gêmeos no semiárido paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 2, p. 294-299, 2018.

NASCIMENTO, T. V. C. Principais causas da mortalidade de cabritos e cordeiros neonatos. **PUBVET**, v. 3, n. 5, p. 1-8, 2009.

NOBREGA JR., J. E. da. *et al.* Mortalidade perinatal em cordeiros no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 171-178, 2005.

NUNES, L. O. Q. *et al.* Onfalopatias em bezerros neonatos: revisão de literatura. **Interação**, v. 21, n. 1, p. 615-627, 2021.

OECD/FAO (THE ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT/ FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION). **OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030**. Paris, 2021. 337p.

PAREDES, P. I. G. **Coccidiose em pequenos ruminantes**. 2010, 106 f. Dissertação

(Mestrado em Medicina Veterinária) – Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de medicina veterinária, Lisboa, 2010.

PERUZZI, A. Z. *et al.* Desmame precoce em cordeiros da raça Santa Inês. **Revista Agrarian**, v. 8, n. 27, p. 81-89, 2015.

PETRUJKIĆ, B. T. *et al.* Transabdominal and transrectal ultrasonography of fetuses in Württemberg ewes: Correlation with gestational age. **Animal Science Journal**, v. 87, n. 2, p. 197-201, 2016.

PILAN, G. J. G. *et al.* Revisão de literatura influência da nutrição da ovelha na mortalidade perinatal de cordeiros. In: SIMPÓSIO DE CIÊNCIAS DA UNESP, 6., ENCONTRO DE ZOOTECNIA. 7, 2011, Dracena/SP. **Anais...** Dracena: UNESP, 2010.

QUINTAS, H. Doenças pulmonares em pequenos ruminantes. In: MENDONÇA, A. **Guia sanitário para criadores de pequenos ruminantes**. Bragança: Escola tipográfica- Bragança, 2012. p. 85-93.

RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. C. Mortalidade perinatal em ovinos. In: RIET-CORREA, F. *et al.* **Doenças de ruminantes e equinos**. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. p. 417-425.

RIET-CORREA, F.; SIMÕES, S. V. D.; AZEVEDO, E. D. Principais enfermidades de caprinos e ovinos no Semiárido Brasileiro. In: **Anais Congresso Latinoamericano de Buiatria**, 2011, Paysandú, Uruguai. 2011. p. 307-324.

ROGÉRIO, M. C. P. *et al.* Manejo alimentar de caprinos e ovinos nos trópicos. **Veterinária e Zootecnia**, v. 23, n. 3, p. 326-346, 2016.

RORATTO, I. *et al.* Neonatologia em pequenos ruminantes: revisão de literatura. **Nucleus Animalium**, v. 5, n. 1, p. 27-35, 2013.

SANDOVAL JR., P. *et al.* **Manual de criação de caprinos e ovinos**. Brasília: Codevasf, 2015. 141 p.

SANTANA, R. C. M.; ESTEVES, S. N.; CHAGAS, A. C. S. **Cuidados com os cordeiros**, circular técnico 73, EMBRAPA, São Carlos, 2015.

SANTOS, R. P. *et al.* Avaliação bioclimatológica em ovinos. **PUBVET**, v. 6, n. 20, p. 1-22, 2012.

SANTOS, V. J. C. *et al.* Ultrassonografia gestacional em ovelhas – revisão de literatura. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 40, n. 2, p. 634 – 638, 2017.

SILVA, C. B. *et al.* Primeira mamada sobre o ganho de peso dos cordeiros durante as primeiras horas de vida. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 2, n. 5, p. 1729-1735, 2019.

SILVA, F.; PIRES, I.; QUINTAS, H. Colibacilose. In: MENDONÇA, A. **Guia sanitário para criadores de pequenos ruminantes**. Bragança: Escola tipográfica- Bragança, 2012. p.

59-63.

SILVEIRA, R. F. **Acompanhamento das atividades de um sistema intensivo de produção de cordeiros na região sudeste do Brasil**. 2014. 40 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em zootecnia). Universidade Federal do Ceará, Centro de ciências agrárias, Fortaleza, 2014.

SORDI, C. Fronteiras borradas: suínos ferais, biossegurança e produção animal na divisa Brasileiro – Uruguaia: Apontamentos etnográficos. **Revista Desigualdades e Diversidade**, n.17, p. 46-60, 2019.

SOUZA, C. J. H.; MORAES, J. C. F.; BENAVIDES, M.V. **Cuidados com cordeiros hipotérmicos**, circular técnica 33, EMBRAPA, Rio Grande do Sul, 2007.

SOUZA, C. J. H; MORAIS, J. C. F; JAUME, C. M. **Cuidados com as ovelhas durante a parição e com os cordeiros recém-nascidos**, comunicado técnico 59, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2006.

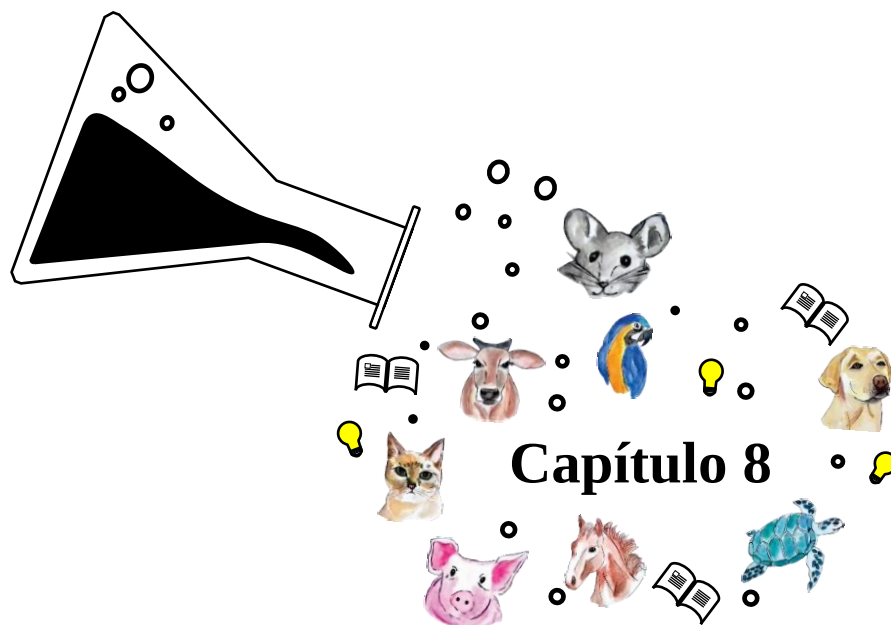
SOUZA, D. F. *et al.* Dinâmica pré e pós-colostral de parâmetros bioquímicos em cordeiros. **Ciência Animal Brasileira**, v. 15, n. 3, p. 313-321, 2014.

TONIOLLO, G. H.; VICENTE, W. R. R. **Manual de obstetrícia veterinária**. 1. ed. São Paulo: Varela, 2003. 124 p.

TURQUINO, C. F.; FLAIBAN, K. M. C.; LISBÔA, J. A. N. Transferência de imunidade passiva em cordeiros de manejos extensivamente em clima tropical. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 3, p. 199-205, 2011.

ULIAN, C. M. V. *et al.* Avaliação da absorção colostral em neonatos ovinos da raça Bergamácia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 3, p. 705-712, 2014.

VIANA, J. G. A. Panorama geral da ovinocultura no Brasil e no mundo. **Revista Ovinos**, v. 4, n. 12, p. 1-9, 2008.



Uso de probióticos em leitões: sucessão do microbioma intestinal, fisiologia e sistema imune

Mayara Correa Dias de Souza Bernabe ¹
Ellen Abreu Fonte Boa ²
Lucas Henrique Cortat ³
Jessica da Paschoa Penzuti Scardini ⁴
Raphael Pires Bolzan ⁵
Saulo Abreu Almeida da Silva ⁶
Pedro Pierro Mendonça ⁷
José Geraldo de Vargas Júnior ⁸

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

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

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

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: jessica.scardini@edu.ufes.br

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

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: sauloabreu1995@gmail.com

⁷ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: ppmendonca@ifes.edu.br

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

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO, 2019), a população mundial crescerá de cerca de 6 bilhões de pessoas na atualidade para 9,8 bilhões de pessoas em 2050, criando demanda por alimentos cada vez maior. No entanto, a sociedade moderna exige, de forma cada vez mais intensa, que os alimentos apresentem qualidade, custo acessível e, acima de tudo, que sejam seguros. Além disso, há ainda grande preocupação de que esses alimentos não sejam produzidos às custas do uso exacerbado ou do esgotamento dos recursos naturais.

O Brasil é o quarto maior produtor mundial de carne suína, ficando atrás da China, União Europeia e Estados Unidos, e vem apresentando crescimento exponencial ao longo do tempo. Essa afirmativa é observada, principalmente, nos últimos dez anos, nos quais a produção mundial de carne suína cresceu em média 1,2% a.a., valor percentual maior do que o comparado à produção de carne bovina, que obteve crescimento de 0,4 % por ano (ABPA, 2019).

A intensificação da produção de carne suína tem ocorrido graças a avanços significativos, principalmente nas áreas de genética, nutrição, sanidade, ambiência e reprodução. Porém, essa intensificação gerou condições de estresse de diferentes magnitudes, devido a fatores como a troca repentina da dieta, a formação de novos grupos sociais e às mudanças ambientais, impactando negativamente a produção animal (GRESSE *et al.*, 2017). Devido a situações como esta, o uso de antibióticos como melhoradores de desempenho têm sido utilizado a mais de 50 anos (TORRES; DREHER; SIMIONI, 2015) na tentativa de sanar os efeitos dos diferentes estressores sobre o animal, uma vez que o estresse afeta o sistema imune.

Apesar da melhora nos índices zootécnicos, a ONU - Organização das Nações Unidas (ONU, 2020) trata como desafio o desenvolvimento de resistência antimicrobiana a cerca de transferência de genes de resistência a antibióticos de microrganismo presente nos animais para a microbiota humana. Com a iminente possibilidade de risco à saúde humana há uma busca constante por substitutos ao uso de antibióticos como melhoradores de desempenho. Neste contexto os probióticos podem ser uma possível solução (TORRES; DREHER; SIMIONI, 2015). Os principais efeitos desses aditivos para a alimentação animal são a melhor resistência a colonização de bactérias patogênicas e aumento da imunidade da mucosa do hospedeiro, buscando assim, a redução da carga de agentes patogênicos e a melhoria do estado de saúde (GAGGIA; MATTARELLI; BIAVATI, 2010).

O objetivo deste capítulo é fazer uma revisão teórica e científica, a fim de sintetizar o conhecimento sobre a microbiota intestinal de suínos, efeitos e mecanismos de ação dos probióticos em relação à saúde intestinal, com ênfase especial no equilíbrio entre microbiologia intestinal, fisiologia e imunologia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 SUCESSÃO DO MICROBIOMA INTESTINAL

Segundo Gaggia, Mattarelli e Biavatti (2010), a microbiota do trato gastrointestinal de mamíferos pode ser considerado órgão metabolicamente ativo com a sua vasta biodiversidade em termos de espécies e o elevado número de células que podem chegar a 10^{14} /g do conteúdo intestinal, sendo habitado também por protozoários ciliados e flagelados, fungos e bacteriófagos. Apesar de se tratar de uma matriz majoritariamente constituída por bactérias, outros microrganismos presentes como leveduras, parasitas, helmintos, vírus e protozoários mantêm conjuntamente o equilíbrio dinâmico, ecológico e metabólico deste ecossistema (SILVA, 2019).

Frese *et al.* (2015) relatam que a comunidade microbiana do intestino ilustra como populações de constituintes são moldados pela exposição ambiental a micróbios, dieta, pressões imunológicas, a genética do hospedeiro, e as forças ecológicas dentro do próprio ecossistema. A importância desta comunidade para a saúde do hospedeiro e resistência à doença levou à evolução dos mecanismos para facilitar a aquisição desta comunidade através das gerações (YANG *et al.*, 2018). O microbioma intestinal exerce ação vital não somente no funcionamento do trato gastrointestinal, mas também, na modulação do sistema imunológico, na sinalização intercelular neuroendócrina e na comunicação entre o sistema nervoso entérico e o sistema nervoso central, formando o eixo cérebro-intestino (CHRISTOFOLETTI *et al.*, 2022).

A composição da flora intestinal pode ser atribuída a genética do hospedeiro uma vez que se todos os suínos fossem alimentados com dietas semelhantes e criados sob o mesmo ambiente controlado, podem apresentar predisposição genética para a infecção do intestino, como por exemplo, o gene de receptor de *Escherichia coli* enterotoxigênica F4 e mucina 4. Estes têm sido considerados como umas das principais causas de diarreia nos leitões recém-nascidos e desmamados. Além disso, têm sido reconhecidos genes como o alfa-(1,2) fucosiltransferase (FUT1) pelas suas propriedades no controle de expressão de receptores intestinais a *Escherichia coli* enterotoxigênica F18. Assim, a genética do hospedeiro

desempenha um papel na susceptibilidade ou resistência dos animais para infecções microbianas pós-desmame (TARAS; VAHJEN; SIMON, 2007).

Em estudo Cortes *et al.* (2018) demonstram que a composição da microbiota intestinal se forma por uma série de sucessão microbiana durante a vida do leitão, sendo que após o nascimento é desprovido de micróbios e momentos depois é possível identificar essas famílias de bactérias por período de dias. Durante a maternidade houve maior estabilidade a nível de família das populações de Bacteroidaceae, Clostridiaceae, Lachnospiraceae, Lactobacillaceae e Enterobacteriaceae (Figura 1).

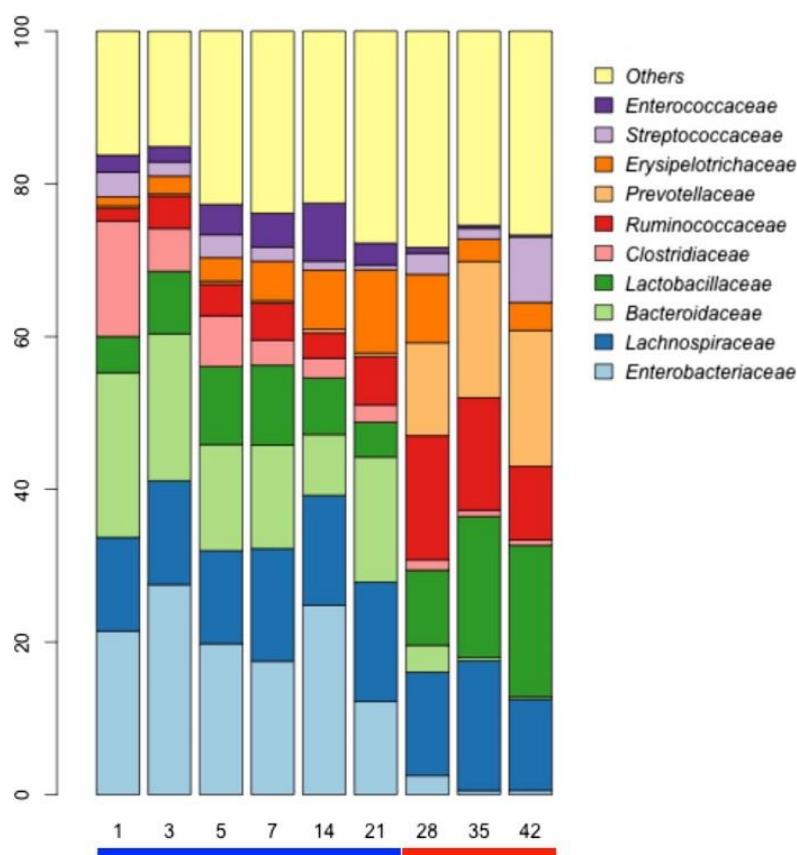


Figura 1 - Parcelas de barras empilhadas mostrando percentagem média de populações bacterianas em fezes de leitões ao longo do tempo, da esquerda para a direita, nos dias 1, 3, 5, 7, 14, 21, 28, 35 e 42. Barras coloridas abaixo indicam a dieta (azul: maternidade e vermelho: desmamados).

Fonte: Adaptado de Frese *et al.* (2015).

Petri, Hill e Vankessel (2010) observaram que Clostridiaceae foram encontrados em maior número em 0,25 dias pós-nascimento do leitão, seguido por Enterobacteriaceae. Em 0,5 dias Clostridiaceae ainda é o de maior número (50%), com população significativa de Streptococcaceae.

Nos primeiros grupos de agentes colonizadores do intestino dos leitões são formados em sua maioria por Clostridiaceae, principalmente pelo *Clostridium perfringens* e por enterobactérias. A segunda colonização ocorre ao terceiro dia de vida, por microrganismos da família dos Lactobacillaceae até os 20 dias de vida. A mudança dos agentes se deve a ingestão de colostro e do leite materno, os quais desempenham função primordial para modular o microbioma utilizando os glicanos presente no leite (ARBOLEYA *et al.*, 2015).

Frese *et al.* (2015) explica que após o desmame (dia 28 em diante), as populações de Bacteroides e Enterobacteriaceae diminuem e populações de Lactobacillaceae, Ruminococcaceae, Veillonellaceae e Prevotellaceae mostram-se aumentados. Quando compara a microbiota dos leitões de maternidade dos leitões desmamados, diferenças significativas eram aparentes. Primeiro, Prevotellaceae aumenta cerca de 50 vezes a partir de uma média de 0,3% em animais de maternidade para 14,8% nos animais desmamados, cuja aparente vantagem comparativa para estes substratos associados a mudanças na composição de dieta, rica em polissacarídeos. Isso coincidiu com a diminuição na população de Bacteroidaceae de 15,4% em animais de maternidade a 1,4% em leitões desmamados. Na verdade, estas Prevotellaceae parecem suplantam a população de Bacteroides em porcos de maternidade, cuja capacidade de utilizar glicanos do leite está bem caracterizada.

Há também aumento no Ruminococcaceae 1,7 - 9,6% após o desmame. Em contraste, Lactobacillaceae não muda drasticamente ao longo do estudo, variando de 4,6 a 9,1% da abundância total. A diversidade da comunidade aumenta com o tempo, mas a variabilidade diminui com a troca da dieta. Especificamente, nas abundâncias *Lactobacillus*, um taxon que consome planta derivado de mono- e dissacarídeos e os açúcares do leite tais como lactose (FRESE *et al.*, 2015; GUEVARRA *et al.*, 2019).

2.2 FISIOLOGIA INTESTINAL

Fatores fisiológicos e ambientais têm importante papel na estabilização da microbiota intestinal e no estabelecimento de uma população nativa. O pH relativamente alto no estômago de leitões logo após o nascimento deve-se à insuficiente secreção de ácido clorídrico, o que permite que bactérias aeróbias ou anaeróbias facultativas tolerantes ao pH alto colonizem diferentes seções do trato intestinal, como *Clostridium*, *E. coli*, *Streptococcus*. Em leitões lactantes, o pH decresce devido à produção de ácido láctico e somente bactérias anaeróbicas resistentes ao ambiente ácido persistem, como *Lactobacillus* (GARBOSSA *et al.*, 2019).

Parte da seleção da microbiota do intestino é química, devido a agentes inibitórios como ácidos graxos voláteis, ácido sulfídrico, bile, lisozimas, lisolectinas e imunoglobulinas. Quando as bactérias sobrepõem estas barreiras, devem ainda combater o fluxo constante resultante dos movimentos peristálticos (CAMPOS, 2016). As bactérias que permanecem no intestino podem estar no muco, estas são a maior parte dos agentes ativos, sendo o muco o seu ambiente nutritivo. Há também, algumas que aderem a células epiteliais que revestem o intestino, representando alguns grupos patogênicos. Entretanto as espécies de *Lactobacillus* também possuem o comportamento de se ligar à superfície do epitélio (SANTOS, 2002).

A mucosa separa o meio interno do ambiente luminal, a camada de muco é formada pela interação de várias secreções mucosas, incluindo as glicoproteínas da mucina, péptidos trifólios, fosfolipídios e surfactantes. As células epiteliais são unidas entre si por junções celulares, tais como junções apertadas, desempenhando um papel importante na prevenção da entrada de moléculas no epitélio por entre as células (YANG *et al.*, 2018). O epitélio intestinal, em conjunto com o muco, fornece aos hospedeiros uma linha de defesa sensorial, primeiro mediando a amostragem ativa de bactérias residentes, agentes patogênicos e outros antígenos. Há três principais tipos de células envolvidas sendo elas: enterócitos de superfície, as células M intestinais e as células dendríticas (GAGGIA; MATTARELLI; BIAVATI, 2010).

No desmame ocorre a queda imediata e transitória no consumo de ração as quais contribui para o mecanismo de inflamação de desequilíbrio da microbiota resultando em uma resposta do hospedeiro na produção de espécies reativas de oxigênio, como o óxido nítrico (NO), que é rapidamente convertido em nitrato (NO^3) quando liberado no lúmen intestinal. O ambiente rico em nitrato é favorável para o crescimento de Enterobacteriaceae que codifica para os genes da nitrato redutase (GUEVARRA *et al.*, 2019).

Após o desmame ocorre alterações na morfologia da mucosa intestinal, caracterizada pela redução de aproximadamente 75% na altura das vilosidades em todos os segmentos do intestino delgado. Isso reduz a produção das peptidases e aumenta a profundidade das criptas, acarretando perdas na atividade de algumas enzimas (isomaltase, sacarase e lactase) da borda em escova dos enterócitos. A capacidade de acidificar o conteúdo estomacal, somente será estabelecida após os dois meses e meio de vida dos leitões (RAMOS, 2020).

O estômago apresenta pH 2,0 a 3,5, entretanto, no desmame, o leitão tem dificuldade para manter um pH estomacal baixo, comprometendo assim a produção de pepsina. Visto que a acidez estomacal tem a função de estabelecer uma barreira para proteger o intestino delgado contra a entrada de microrganismos patogênicos (SANTOS, 2020). A expressão das proteínas

occludina, claudina-1 e ZO-1 das junções estreitas diminui durante o desmame e, como resultado, a integridade da barreira é prejudicada. Isso facilita a penetração de patógenos e permite a entrada de bacteriotoxinas no organismo (WANG *et al.*, 2018).

A partir do momento em que o leitão retoma a ingestão do alimento, ocorre estímulo das funções digestivas, resultando em desenvolvimento do sistema enzimático e estímulo à proliferação celular, até alcançar a maturidade do sistema gastrointestinal (BUDIÑO, 2007).

2.3 SISTEMA IMUNE

A microbiota intestinal é um componente das mucosas que serve como estímulo primário para o desenvolvimento do sistema imune inato e adquirido (DEPLANCKE, GASKINS, 2001). O sistema imune inato é a primeira linha de defesa do hospedeiro contra patógenos e é mediado por fagócitos, incluindo macrófagos e células dendríticas. A imunidade adquirida está envolvida na eliminação de patógenos na fase tardia da infecção, bem como na geração de memória imunológica (MASS, 2019).

A mucosa do trato gastrointestinal é diariamente exposta a uma quantidade imensa de antígenos, provenientes dos alimentos ingeridos, bactérias, vírus, entre outros. Em circunstâncias fisiológicas, o epitélio, permite que somente uma pequena quantidade de antígenos atravessem a mucosa, para que possam interagir com o sistema imune da mucosa, assim é fundamental uma colonização precoce para maturação do sistema imunológico do hospedeiro (ZHENG; LIWINSKI; ELINAV, 2020).

A imunidade intestinal se relaciona ao GALT (tecido linfóide associado ao intestino), e esse se refere aos grupos de células linfóides disponíveis no trato digestivo acrescidos de células macrófagicas e células apresentadoras de antígenos. O GALT começa a ser distribuído a partir da fase embrionária e seu papel é eliminar agentes patogênicos. As bactérias intestinais na superfície da mucosa pode criar sinais chamados padrões moleculares associados-microbianos (mAmps) que estimulam os receptores de reconhecimento padrões, como os receptores do tipo *Toll* (TLR), expressas sobre a superfície das células epiteliais, desencadeando uma cascata de mecanismos de defesa imunológica, incluindo a produção de peptídeos antimicrobianos, citocinas pró e anti-inflamatórias, ou disparadores para a apoptose (SOUZA *et al.*, 2010).

Os enterócitos M, que interagem com molécula estranhas, ou identificam alteração do meio intestinal, repassam essas informações aos macrófagos do sistema GALT residentes na sub-mucosa intestinal que por sua vez, por meio do óxido nítrico destroem moléculas não “self”

e/ou elaboram outros mediadores, como IFN γ e a IL1, que estimulam linfócitos do tipo CD4 que acionam células B locais a produzirem anticorpos, e aumentam o fluxo de leucócitos e de outras células macrofágicas, sendo tudo devidamente regulado (MARCATTO, 2019).

É importante lembrar que a dimensão e funcionalidade do GALT, após o nascimento, se relaciona à presença do microbioma. Sem microbioma, o GALT é bastante reduzido, desta forma há um equilíbrio entre o mesmo e as bactérias alojadas no tubo digestivo. Outro aspecto é que os próprios enterócitos atuam como células sentinelas imunes, reconhecendo moléculas sinalizadoras patogênicas e secretando interleucinas e fatores de crescimento, como por exemplo, IL-17A, IL-33, IL-23 e fator de crescimento transformador- β , que mantém ativo o GALT, por esse motivo, a integridade do enterócito é fundamental (MASS, 2019).

2.4 ANTIBIÓTICOS

A definição de antibiótico vem do grego anti: contra e bio: vida foi criada para definir substâncias químicas produzidas por microrganismos que têm a capacidade de inibir o crescimento ou destruir agentes causadores de doenças (CAMPOS, 2016). Esses produtos antibióticos, são melhoradores de desempenho tradicionais na suinocultura. Sendo que grande número de substâncias tiveram sua eficácia comprovada em melhorar a produtividade dos animais ao longo das últimas cinco décadas e seu uso como aditivos de rações é difundido. A melhoria no desempenho dos animais é atribuída à ação desses produtos sobre os microrganismos da microbiota intestinal (LIU *et al.*, 2017).

Alguns dos mecanismos possíveis propostos pelos quais os antibióticos melhoram o crescimento incluem a inibição de infecções bacterianas patogênicas subclínicas; redução dos produtos do metabolismo microbiano que podem afetar negativamente o crescimento do suíno; inibição do crescimento microbiano, aumentando assim os nutrientes disponíveis para o animal; e um aumento na absorção e utilização de nutrientes através da parede intestinal (MAZUTTI, 2017).

Dutra (2017) fez a mensuração relativa da porcentagem do uso de antimicrobiano em relação ao tempo de vida dos animais destinados ao abate, no qual eles tiveram contato com algum antimicrobiano, seja administrado de forma injetável ou oral, através da ração ou água de bebida. Em média, os animais tiveram contato com algum antimicrobiano durante 66,3% de sua vida, variando de 2,9% até 90,4% nos diferentes rebanhos nos estados de maiores representatividades.

Porém, o uso de antimicrobianos nas dietas animais vem sendo questionado em vários países desde a década de 90 (SILVA *et al.*, 2018). A razão desta discussão está relacionada com a possibilidade deles serem tóxicos e/ou cancerígenos, comprometendo a saúde humana, quando seus resíduos estiverem presentes em produtos alimentícios de origem animal, causando também problemas de resistência bacteriana aos antibióticos. Por este motivo, torna-se crescente a restrição ou proibição de uso dos antibióticos como promotores de crescimento nas rações animais em vários países do mundo (BUDIÑO, 2007).

A alta redução no uso de antibióticos mostrou ser eficaz na limitação da prevalência de genes de resistência a antibióticos na microbiota intestinal de porcos europeus em comparação com porcos chineses (MAZUTTI, 2017; XIAO *et al.*, 2016).

As bactérias tornam-se resistentes a antibióticos quando uma mutação afeta a (GRESSE *et al.*, 2017):

- Produção de enzimas que podem inativar a molécula do antibiótico;
- Via de reconhecimento entre antibióticos e células bacterianas;
- Os mecanismos de entrada e de transporte da molécula de antibiótico através das células.

Quando as estirpes resistentes são extraídas do seu hospedeiro, elas são difundidas para o meio ambiente, e aumenta a disseminação de genes de resistência entre as populações bacterianas (GRESSE *et al.*, 2017).

O fato de muitas destas enzimas serem codificadas por genes transportados pelo plasmídeo é de particular interesse, pois muitos são transferidos de bactérias não patogênicas para espécies patogênicas presentes no mesmo ambiente e por animais saudáveis que irão entrar na cadeia alimentar (BARTON, 2014).

2.5 PROBIÓTICOS

A palavra “probiótico”, de origem: do latim pro: “a favor” e do grego bios: “vida” foi usada pela primeira vez em 1954 para descrever substâncias necessárias para uma vida saudável. Dentre uma série de definições, a mais usada e aceita é a definida pela FAO (2019) - Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura e da Organização Mundial da Saúde (OMS) define probióticos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro.

A maioria das espécies atribuídas a propriedade probióticos pertencente aos gêneros *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. e *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Saccharomyces* spp. Além disso, o gênero *Lactobacillus* possui excepcional diversidade

filogenética e fisiológica. O gênero abrange 24 grupos taxonômicos, cada um deles representa uma diversidade tipicamente. Os membros dos grupos *L. reuteri*, *L. delbrueckii* and, *L. salivarius* são dominantes. Os gêneros de probióticos demonstraram seu potencial para inibir ou melhorar o resultado dessas infecções em modelos animais (ZHAO *et al.*, 2019). Essas cepas são comumente encontradas no trato gastrointestinal de animais e, portanto, geralmente considerado seguro.

Segundo Binns (2014), probióticos possuem um mecanismos de ação mediados pelo impacto dos microrganismos sobre o hospedeiro, sendo com base em dois modos de ação principais, ou uma combinação de ações:

- Impacto dos microrganismos ou seus respectivos metabólitos/enzimas no trato gastrointestinal e microbiota do hospedeiro;
- Interação com as células e o sistema imunológico do hospedeiro.

Os mecanismos propostos para explicar os efeitos benéficos dos probióticos são basicamente os mesmos utilizados para a microbiota normal no exercício de suas funções. Em leitões saudáveis, comunidade bacteriana comensais no trato gastrointestinal coloniza a mucosa intestinal e forma uma camada de bactérias cobrindo a superfície da mucosa (RAMOS, 2020; YANG *et al.*, 2018). A competição por nutrientes ou por sítios de adesão, a produção de substâncias inibidoras (ácido láctico, bacteriocinas) e a inibição da produção ou ação de toxinas são os mecanismos utilizados pelos probióticos para proteger o hospedeiro dos microrganismos patogênicos (ŚLIŻEWSKA; CHLEBICZ-WÓJCIK.; NOWAK, 2020). Certos *Lactobacillus* produzem bactericidas e ácidos orgânicos para inibir o crescimento de outras bactérias, como por exemplo *Campylobacter jejuni* e *Samonella* spp. (YANG *et al.*, 2018).

Alterações na função da barreira epitelial podem desempenhar um significado papel na regulação das doenças gastrointestinais (SHIN *et al.*, 2019). Os Rotavírus infectam principalmente as vilosidades do intestino delgado, causando morte celular apical e necrose das vilosidades (ISHIZUKA *et al.*, 2016). Os probióticos têm sido relacionados à menor duração e gravidade da diarreia por rotavírus, à prevenção de infecções e à menor incidência de reinfecções (GONZALEZ-OCHOA *et al.*, 2017).

Mishra *et al.* (2016) obtiveram resultados que indicaram que a alimentação de leitões desmamados com alimentos fermentados com *Saccharomyces cerevisiae* ou *Lactobacillus acidophilus* como probiótico a 10% da dieta basal, melhorou a morfologia intestinal através da modulação da resposta imune intestinal nos porcos. O título de anticorpo foi significativamente maior representando melhoria na resposta imune humoral e celular dos porcos.

Shin *et al.* (2019), revelam em fotomicrografias das camadas epiteliais do intestino delgado, ceco e cólon aumento na altura da vilosidade e profundidade da cripta intestinais de leitões desmamados e tratados com probiótico *L. plantarum* ($1,2 \times 10^9$ UFC/animal) durante 4 semanas. A IgG sérica foi aumentada com consistência ao longo do tempo. Também aumentou a diversidade e riqueza microbiana, no qual a população de *Bacteroidetes* diminuiu e *Firmicutes* aumentaram no grupo de probióticos em comparação com o grupo de controle.

Xin *et al.* (2020), mostraram que os probióticos *Lactobacillus johnsonii* e *Bacillus subtilis*, exerceram efeitos significativamente positivos na diarreia, nas atividades de SOD e GSH-PX e no nível de MDA. Essas alterações podem estar relacionadas a melhorias na imunidade, como os níveis aprimorados dos subconjuntos fecais de IgA e célula T no sangue periférico e isso pode propiciar auxílio no equilíbrio da microbiota no intestino delgado. Ao avaliar o *Bacillus subtilis*, Afonso *et al.* (2013) encontraram que a inclusão na dieta torna-se alternativa viável do ponto de vista dos indicadores econômicos avaliados.

Abhisingha, Dumnil e Pitaksutheepong (2018) mostraram em estudos que o probióticos *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus johnsonii* e *Lactobacillus salivarius* possuem atividade inibitória do crescimento de *Salmonella* spp. e de coliformes fecais. A contagem revelou que o número de *Salmonella enteritidis* em todas as amostras de cultura estavam abaixo do limite de detecção (< 10 UFC/ml) após 24 h de co-cultura. Resultados semelhantes ao encontrado por Dlamini *et al.* (2017) ao utilizarem *Lactobacillus* (*L. reuteri*, *L. salivarius*) e *Streptococcus salivarius*.

Ahmed *et al.* (2014), observou em estudos que a aplicação de tratamentos com probióticos (*Lactobacillus* spp. e *Bacillus* spp.) em leitões de 28 dias de idade resultou em número reduzido de derramamento fecal de *Salmonella typhimurium* e *E. coli*, bem como o aumento *Lactobacillus* spp. e *Bacillus* spp. em comparação ao grupo controle. Sendo que os animais que ingeriram *Bacillus* spp. tiveram elevado nível sérico de IgG.

Wang *et al.* (2018) quantificaram após o tratamento as citocinas pró-inflamatórias e notaram que a incubação apenas com *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) aumentou significativamente os transcritos de IL-6, IL-8 e TNF α . O tratamento apenas com o probiótico *L. plantarum* não teve efeito significativo na expressão de citocinas. No entanto, o pré-tratamento com *L. plantarum* antes do desafio do ETEC reduziu a expressão de citocinas nas células epiteliais intestinais suínas para níveis inferiores aos observados após o tratamento com ETEC sozinho. Mostrando que *L. plantarum* reduziu a regulação positiva induzida por ETEC de citocinas pró-inflamatórias.

Trevişi *et al.* (2011) observaram em estudos que *Lactobacillus rhamnosus* não impediu a total adesão do ETEC ou a redução da resistência transepitelial em leitões desmamados, mas conseguiu reduzir a transmigração de neutrófilos e o aumento da expressão de citocinas inflamatórias induzidas pelo ETEC. Resultado semelhante ao que Scharek *et al.* (2005) encontraram, porém usando o probiótico contendo *Enterococcus faecium*.

Barba-Vidal *et al.* (2017) em estudos usaram *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* em leitões desmamados, desafiou os animais com *Samonella typhimurium* ou ETEC K88, onde foi capaz de reduzir as cargas de patógenos, principalmente a carga de *Salmonella* no conteúdo fecal e o número de animais com alto número de coliformes aderidos à mucosa ileal. No entanto, não foi capaz de impedir completamente a colonização de patógenos.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A dieta molda a microbiota e se comunica com o sistema imune, essa representação do sistema imunológico funciona para fornecer proteção contra patógenos verdadeiros e contra organismos onipresentes com apenas efeitos sobre a saúde entérica.

Existe diversidade de probióticos com características distintas, fazendo necessários mais estudos para selecionar as estirpes de acordo com os benefícios e não como se fossem benefícios para tudo, onde a distinção de probióticos destinados a manter a saúde e probióticos para tratar doença se torna necessário para o sucesso.

4 REFERÊNCIAS

ABHISINGHA, M.; DUMNIL, J.; PITAKSUTHEEPONG, C. selection of potential probiotic *Lactobacillus* with inhibitory activity against *Salmonella* and fecal coliform bacteria.

Probiotics Antimicrob Proteins, v. 10, n. 2, p. 218–227, 2018.

AFONSO, E. R. T. *et al.* Associação de probióticos adicionados à dieta de leitões no aleitamento e na creche: índices zootécnicos e economicidade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 14, n. 1, p. 161-176, 2013.

AHMED, S. T. H. *et al.* Evaluation of *Lactobacillus* and *Bacillus* based probiotics as alternatives to antibiotics in enteric microbial challenged weaned piglets. **African Journal of Microbiology Research**, v. 8, n. 1, p. 96-104, 2014.

ARBOLEYA, S. *et al.* Intestinal microbiota development in preterm neonates and effect of perinatal antibiotics. **The Journal of Pediatrics**, v. 166, n. 3, p. 538-544, 2015.

ABPA (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL). **Relatório anual: 2019**. São Paulo, 2019. 167 p.

BARBA-VIDAL, E. *et al.* Evaluation of the probiotic strain *Bifidobacterium longum* subsp. infantis CECT 7210 capacities to improve health status and fight digestive pathogens in a piglet model. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1-14, 2017.

BARTON, M. D. Impact of antibiotic use in the swine industry. **Current Opinion in Microbiology**, v 19, p. 9-15, 2014.

BINNS, N. **Probióticos, prebióticos e a microbiota intestinal**. São Paulo: ILSI BRASIL Internacional Life Sciences Institute do Brasil, 2014. 42p.

BUDIÑO, F. E. L. **Probióticos e prebióticos na alimentação de leitões**. 2007. Disponível em : <<http://www.iz.sp.gov.br/pdfs/1196428137.pdf>>. Acesso em: 26 nov. 2019.

CAMPOS, G. A. **Influência do uso profilático de antimicrobiano sobre o desempenho e a frequência de diarreia em leitões recém-nascidos**. 2016. 67 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

CHRISTOFOLETTI, G. S. F. *et al.* Intestinal microbioma and interconnection with neurotransmitters associated with anxiety and depression. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 5, n. 1, p. 3382-3408, 2022.

CORTES, L. C. P. *et al.* Development of the tonsillar microbiome in pigs from newborn through weaning. **BMC Microbiol**, v. 18, n. 35, p. 1-13, 2018.

DEPLANCKE, B.; GASKINS, H. R. Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 6, p. 1131S–1141S, 2001.

DLAMINI, Z. C. *et al.* Effects of probiotics on growth performance, blood parameters, and antibody stimulation in piglets. **South African Journal of Animal Science**, v. 47, n. 6, p. 765-776, 2017.

DUTRA, M. C. **Uso de antimicrobianos em suinocultura no Brasil: análise crítica e impacto sobre marcadores epidemiológicos de resistência**. 2017. 92 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION). **Representante da FAO Brasil apresenta cenário da demanda por alimentos**. 2019. Disponível em: <<http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/en/c/901168/>>. Acesso em: 28 de dezembro de 2019.

FRESE, S. A. *et al.* Diet shapes the gut microbiome of pigs during nursing and weaning. **Microbiome**, v. 3, n. 1, p. 1-10, 2015.

GAGGIA, F.; MATTARELLI, P.; BIAVATI, B. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. **International Journal of Food Microbiological**, v. 141, p. 15-28, 2010.

GARBOSSA, C. A. P. *et al.* Efeitos da microbiota sobre funções intestinais, pancreáticas e imunológicas em leitões. *In: Reunião anual do CBNA - Congresso sobre nutrição e Bem-Estar Animal*, 32, 2019, Campinas, SP, **Anais ...**Campinas, 2019.

GONZALEZ-OCHOA, G. *et al.* Modulação da gastroenterite grave por rotavírus pela combinação de probióticos e prebióticos. **Archives Microbiological**, v. 199, p. 953-961, 2017.

GRESSE, R. *et al.* Gut microbiota dysbiosis in postweaning piglets: understanding the keys to health. **Trends Microbiological**, v. 25, p. 851-873, 2017.

GUEVARRA, R. B. *et al.* Piglet gut microbial shifts early in life: causes and effects. **Journal Animal Science Biotechnol**, v. 10, n. 1, p. 1-10, 2019.

ISHIZUKA, T. *et al.* Immunobiotic bifidobacteria strains modulate rotavirus immune response in porcine intestinal epitheliocytes via pattern recognition receptor signaling. **PLoS One**, v. 11, n. 3, p. 1-19, 2016.

LIU, C. *et al.* Structural modulation of gut microbiota during alleviation of suckling piglets diarrhoea with herbal formula. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, p. 1-12, 2017.

MARCATTO, E. J. Influência de prebióticos e probióticos na reação imune e saúde intestinal de aves e suínos. *In: Salao internacional de avicultura e suinocultura -SIAVES*, 2019, São Paulo. **Anais...** Sao Paulo: ABCS, 2019, p. 24-25.

MASS, A. P. H. **Uso de óleos funcionais na alimentação de porcas lactantes e leitegadas**. 2019. 67 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2019.

MAZUTTI, K. **Estratégias para melhorar o desempenho de leitões desmamados**. 2017. 210 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

MISHRA, D. K. *et al.* Efeito dos probióticos no perfil bioquímico do sangue, imunidade e morfologia do intestino delgado em porcos em crescimento. **Agriculture Research**, v. 5, p. 407-412, 2016.

ONU (ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS). **OMS recomenda suspensão do uso de antibióticos para estimular crescimento de animais**. 2020. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/oms-recomenda-suspensao-do-uso-de-antibioticos-para-estimular-crescimento-de-animais/amp/>>. Acesso em: 16 jan. 2020.

PETRI, D.; HILL, J. E.; VAN KESSEL, A. G. Microbial succession in the gastrointestinal tract (GIT) of the preweaned pig. **Livestock Science**, v. 133, p. 107-109, 2010.

- RAMOS, D. R. A. **Uso da combinações de prebióticos em dietas de leitões recém-desmamados**. 2020. 55 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2020.
- SANTOS, G. A. **Impactos do tipo de desmame sobre os leitões: revisão de literatura**. 2020. 25 f. Monografia (Graduação em Zootecnia). Universidade Federal do Sergipe, Nossa Senhora da Glória, 2020.
- SANTOS, W. G. D. **Manose na alimentação de leitões na fase de creche (desempenho, parâmetros fisiológicos e microbiológicos)**. 2002. 66 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.
- SCHAREK, L. *et al.* Influence of a probiotic *Enterococcus faecium* strain on development of the immune system of sows and piglets. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 105, n. 1, p. 151-161, 2005.
- SHIN, D. *et al.* Beneficial roles of probiotics on the modulation of gut microbiota and immune response in pigs. **PloS one**, v. 14, n. 8, 2019.
- SILVA, C. C. L. **Depressão e interconexão microbioma-intestino-cérebro**. 2019, 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2019.
- SILVA, V. Y. *et al.* Efeitos da inclusão de blend de prebióticos na microbiologia cecal e peso de órgãos de leitões recém-desmamados. In: Jornada de Jóvenes Investigadores AUGM, Mendoza. **Anais...** Mendoza: Universidad Nacional de Cuyo, p. 1-10, 2018.
- ŚLIŻEWSKA, K.; CHLEBICZ-WÓJCIK, A.; NOWAK, A. Probiotic properties of new *Lactobacillus* strains intended to be used as feed additives for monogastric animals. **Probiotics Antimicrobianos Proteins**, v. 13, n. 1, p. 146-162, 2020.
- SOUZA, F. S. *et al.* Prebiotics, probiotics and symbiotics on prevention and treatment of allergic diseases. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 28, p. 86-97, 2010.
- TARAS, D.; VAHJEN, W.; SIMON, O. Probiotics in pigs modulation of their intestinal distribution and of their impact on health and performance. **Livestock Science**, v. 108, n. 1-3, p. 229-231, 2007.
- TREVISI, P. *et al.* Dietary addition of *Lactobacillus rhamnosus* GG impairs the health of *Escherichia coli* F4-challenged piglets. **Animal: An International Journal of Animal Bioscience**, v. 5, n. 9, p. 1354 - 1360, 2011.
- TORRES, R. N. S.; DREHER, A.; SIMIONI, T. A. Uso de antibióticos como promotor de crescimento e seus possíveis substitutos ao seu uso em frango de corte. **Nutritime**, v. 12, n. 6, p. 4348-4358, 2015.
- WANG, J. *et al.* Probiotic *Lactobacillus plantarum* promotes intestinal barrier function by strengthening the epithelium and modulating gut microbiota. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1-14, 2018.

XIAO, L. *et al.* Reference gene catalogue of the pig gut microbiome. **Nature Microbiology**, v. 1, n. 12, p. 1-6, 2016.

XIN, J. *et al.* Probiotic *Lactobacillus johnsonii* BS15 promotes growth performance, intestinal immunity, and gut microbiota in piglets. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 12, n. 1, p. 184-193, 2020.

YANG, J. *et al.* Roles of probiotic *Lactobacilli* inclusion in helping piglets establish healthy intestinal inter-environment for pathogen defense. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 10, p. 243-250, 2018.

ZHAO, X. *et al.* Impact of probiotic *Lactobacillus* sp. on autochthonous lactobacilli in weaned piglets. **Journal of Applied Microbiology**, v. 126, n. 1, p. 242-254, 2019.

ZHENG, D.; LIWINSKI, T.; ELINAV, E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. **Cell Research**, v. 30, p. 492–506, 2020.



Mecanismos de ação e influência das enzimas na nutrição de peixes

Shamara Silva Bulhões¹
Erivelton Oliveira de Souza²
Raphael Pires Bolzan³
Saulo Abreu Almeida da Silva⁴
Paola de Oliveira Santos⁵
Priscilla Cortizo Costa Pierro⁶
José Geraldo Vargas Junior⁷
Pedro Pierro Mendonça⁸

¹ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: shamarabulhoes@gmail.com

² Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: velto3032@gmail.com

³ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: rpbolzan@ifes.edu.br

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: sauloabreu1995@gmail.com

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

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

⁷ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: josegeraldovargas@yahoo.com.br

⁸ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: ppierrom@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

Com o avanço da piscicultura nas últimas décadas, houve uma intensificação no estudo que visou as necessidades nutricionais dos peixes, pois a dieta exerce influência sobre diversos parâmetros, como sanidade, fisiologia, reprodução, crescimento e comportamento. Em geral, os peixes em seu habitat natural são capazes de balancear a dieta escolhendo alimentos que possam suprir as suas exigências e possuem a habilidade de adaptação, decorrente das mudanças na dieta, aos processos digestivos, como secreção enzimática, absorção e transporte de nutrientes.

No entanto, para peixes em sistema de criação intensiva, o alimento natural torna-se escasso, havendo a necessidade da formulação de uma ração balanceada e que atenda às demandas nutricionais, porém mais onerosas (ROTTA, 2003). Devido ao custo elevado das matérias-primas tradicionais utilizadas nas formulações de rações, o interesse no uso de enzimas exógenas em dietas tem aumentado e sua utilização é, portanto, uma alternativa para aumentar a digestibilidade dos alimentos e o desempenho dos animais (CAVERO, 2004).

Além de atuar melhorando os processos digestivos dos animais, a inclusão de enzimas também contribui com o estado imunológico dos peixes e com as condições ambientais do sistema de produção. As enzimas são catalisadores biológicos que possuem a função de acelerar as reações químicas nos seres vivos, sendo componentes essenciais de animais, plantas e microrganismos. Geralmente, são necessárias em concentrações muito baixas e aceleram as reações sem que sejam consumidas (ROBINSON, 2015).

As primeiras aplicações do uso de enzimas destinavam-se ao amaciamento da carne e hidrólise do amido. Trabalhos envolvendo a digestão gástrica da carne originou a base científica para estudo das enzimas, com Rene Reaumur (1751) e Lazzaro Spallanzani (1780). A primeira aplicação da α -amilase foi feita em 1894 por Jockichi Takamini, resultando numa patente descrevendo a obtenção da enzima por *Aspergillus oryzae* (PUNEKAR, 2018).

Portanto, tem-se como objetivo determinar os mecanismos que realizam essa ação enzimática e a influência que eles têm na nutrição dos peixes.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1 NUTRIÇÃO E ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA DIGESTÃO EM PEIXES

Os animais precisam de proteínas, gorduras, hidratos de carbono, fibras, vitaminas e minerais na formulação de sua dieta, porém há uma enorme variação entre quantidade de nutrientes, espécie, idade do animal e condições ambientais, de modo que esses fatores ainda não estão consolidados para a maioria das espécies de cultivo (SANTOS, 2017).

Os alimentos são fontes naturais de nutrientes, que podem ser divididos em macronutrientes (proteínas, carboidratos e lipídios) e micronutrientes (vitaminas e minerais), de acordo com a proporção na dieta (MORAES; ALMEIDA, 2020). Em peixes, existem diferenças consideráveis entre espécies na requisição dos nutrientes, na capacidade de digestão e também aos hábitos alimentares, que podem ser classificados como carnívoros (se alimentam de proteína animal), herbívoro (se alimentam de vegetais) ou onívoro (se alimentam de fontes animal e vegetal) (VOLKOFF; LONDON, 2018).

Em geral, os peixes em seu habitat natural são capazes de balancear a dieta escolhendo alimentos que possam suprir as suas exigências e possuem a habilidade de adaptação, decorrente das mudanças na dieta, aos processos digestivos, como secreção enzimática, absorção e transporte de nutrientes. No entanto, em peixes em sistema de criação intensiva, o alimento natural torna-se escasso, havendo a necessidade da formulação de uma ração balanceada e que atenda às demandas nutricionais (ROTTA, 2003).

As proteínas são componentes essenciais de todos os seres vivos, sendo responsáveis por fornecer aos peixes aminoácidos essenciais, importantes para o crescimento, desenvolvimento, funções enzimáticas, formação de tecido muscular e para a reprodução (VOLKOFF; LONDON, 2018). As proteínas de origem animal possuem valores nutricionais mais altos que as proteínas de origem vegetal, mas não há grande disponibilidade no mercado e possuem um alto valor comercial, que encarece o custo de produção (PIRES, 2006).

O uso de fontes proteicas de origem vegetal é vantajoso pelo fato de estarem disponíveis de forma constante ao longo do ano, além do custo relativamente inferior, mas pode provocar um desequilíbrio de aminoácidos, além de apresentarem fatores antinutricionais. O farelo de soja, considerado melhor fonte proteica de origem vegetal, também possui fatores antinutricionais, como inibidores de proteases e polissacarídeos não amiláceos. O farelo de canola, por exemplo, possui glicosinolatos, taninos e ácido fítico, que inibem algumas funções

digestivas em peixes. O farelo de girassol, apesar do grande teor proteico, possui compostos fenólicos, que levam à redução da digestibilidade (BERGAMIN *et al.*, 2013).

Os carboidratos são importantes, pois fornecem a glicose como fonte de energia para os tecidos, porém a capacidade de digestão pelos peixes é variável entre as espécies, e a maioria das espécies possuem limitações em sua metabolização. Podem ser depositados na forma de glicogênio no fígado e nos músculos, sendo acessíveis fontes de energia (VOLKOFF; LONDON, 2018). Como há escassez na oferta de carboidratos no ambiente aquático, os peixes podem ser melhor adaptados à utilização de proteínas e lipídios como fontes energéticas (MORAES; ALMEIDA, 2020).

Os lipídios (triglicerídeos, fosfolipídeos e esteróis) são responsáveis por proporcionar uma maior palatabilidade aos alimentos (MORAES; ALMEIDA, 2020), e são necessários para o crescimento, absorção de vitaminas lipossolúveis no intestino e manutenção estruturais e das células. Os triacilgliceróis são os principais meios de armazenamento de energia nos animais e os fosfolipídeos são constituintes de membranas celulares. Os esteróis (colesterol) atuam como precursores de hormônios esteróides, sendo responsáveis pelo desenvolvimento gonadal (VOLKOFF; LONDON, 2018).

Os peixes são capazes de formar gordura a partir dos macronutrientes presentes nos alimentos (lipídios, carboidratos e proteínas), porém, as proteínas só poderão ser formadas pela quebra de proteínas ingeridas na alimentação. Dessa forma, se não houver uma ingestão suficiente de proteínas, haverá atraso no desenvolvimento e/ou perda de peso, sendo necessário a oferta contínua de aminoácidos (SANTOS, 2017).

Vitaminas são compostos orgânicos que participam de diversas funções: hemostasia sanguínea, síntese de DNA, importantes do processo de visão, entre outros, ainda que em pequenas quantidades (GORE, 2006). São divididas em hidrossolúveis e lipossolúveis, e geralmente não são sintetizadas pelos peixes, mas sua deficiência pode ocasionar crescimento reduzido e baixos índices reprodutivos (VOLKOFF; LONDON, 2018). Assim, em criações com altas densidades, as vitaminas devem ser suplementadas à dieta, a fim de propiciar um melhor crescimento (SANTOS, 2017).

As vitaminas mais comumente estudadas em peixes são A (retinol), C (ácido ascórbico) e E (tocoferol). A vitamina A é importante para o desenvolvimento embrionário, pois possui papel no desenvolvimento ósseo, formação de retina e diferenciação de células imunes, sendo a maior parte armazenada no fígado, mas também é encontrada nas gônadas durante o período de maturação. A vitamina C atua no desenvolvimento ovariano, esteroidogênese, vitelogênese

e embriogênese. A vitamina E age também em funções reprodutivas, influenciando a qualidade das gônadas, fecundidade, qualidade dos ovos, desenvolvimento embrionário, porcentagem de fertilização, eclosão e a sobrevivência de larvas. A associação entre as vitaminas C e E atuam como agentes antioxidantes, reduzindo os radicais livres e também agem melhorando a qualidade do ovo e do sêmen (VOLKOFF; LONDON, 2018).

Os minerais são elementos inorgânicos, importantes componentes estruturais de tecidos, fluidos, e catalisadores de enzimas. Podem ser divididos em dois grupos, os macrominerais, que estão presentes em maior nível corpóreo e, portanto, necessários em maior quantidade na dieta (sódio, cloreto, potássio e fósforo) e os microminerais (ou minerais traços) que são necessários em pequenas quantidades como componentes de sistemas enzimáticos e hormonais (cobre, ferro, cromo, iodo, zinco e selênio) (CRAIG *et al.*, 2017; VOLKOFF; LONDON, 2018).

O fósforo é essencial para que haja desenvolvimento adequado, está distribuído em todo o organismo e é um importante constituinte do tecido esquelético (FURUYA *et al.*, 2008). É o mineral mais crítico na dieta em peixes, sendo exigido em grandes quantidades, mas há pouca disponibilidade na água e sua absorção é limitada (VOLKOFF; LONDON, 2018).

A deficiência do fósforo ocasiona baixa mineralização óssea e compromete o crescimento (MENDONÇA *et al.*, 2012). A maior parte do fósforo está sob a forma inorgânica de fitato, componente presente em todas as sementes e células vegetais, que podem se ligar fortemente com cálcio, magnésio, zinco, cobre, ferro e potássio para formar sais insolúveis, afetando negativamente a absorção e digestão dos minerais nos peixes. Dessa forma, a utilização de dietas suplementadas com fitase são cada vez mais importantes (KUMAR *et al.*, 2012).

A evolução na aquicultura estabelece como objetivo principal o aumento da produtividade, e o cultivo de cereais (milho) e leguminosas (soja, algodão, canola, girassol) é utilizado com o objetivo de suprir as necessidades proteicas dos animais nas rações. Como existem no valor dos nutrientes dos grãos, adicionam-se compostos que possam melhorar o aproveitamento do alimento. Assim, o uso de biotecnologias abrange todo o sistema de criação: alimentação, saúde, reprodução e seleções genéticas (MALAJOVICH, 2004).

Como agentes biológicos, as enzimas podem ser de origem vegetal, animal ou microbiana, possuindo muitas vantagens nos processos tecnológicos, como a especificidade, biodegradabilidade e o fato de serem manuseadas em condições controláveis (MALAJOVICH, 2004). As enzimas de origem microbiana têm maior utilização, pois a produção é independente de fatores sazonais, utilização de substratos de baixo custo (resíduos agrícolas, por exemplo) e

rendimento elevado com a otimização das condições no processo fermentativo (MONTEIRO; NASCIMENTO, 2009).

2.1.1 Enzimas

Apesar de muitos considerarem que todas as enzimas são proteínas, em 1981 pesquisadores da Universidade do Colorado descobriram o primeiro RNA com atividade catalítica, chamadas ribozimas. Assim, desde 1986 têm sido descobertos, sendo isolados em vírus e vertebrados (SOARES; LINS, 1995).

Suas propriedades permitem ligações específicas, havendo uma especificidade na sua atividade, conhecida como “chave-fechadura”, modelo proposto por Emil Fischer em 1894 (PUNEKAR, 2018). As enzimas atuam de forma a criar um ambiente adequado para que uma determinada reação possa ocorrer mais rapidamente (NELSON; COX, 2005). A região onde ocorre a ligação com o substrato é chamada de sítio ativo (enzima + substrato), havendo uma reentrância na superfície da enzima e complementando a forma do substrato. Ocorre um rearranjo dos aminoácidos que formam o sítio ativo, possibilitando uma maior interação (SOUZA, 2010).

Geralmente, as enzimas possuem nomes triviais, referindo-se à reação que catalisam, com o sufixo –ase (celulase, amilase, lipase) ou indicam o substrato no qual a enzima atua (glicose oxidase, piruvato descarboxilase), sendo regulamentadas pela Comissão de Enzimas, da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular. Podem ser classificadas de acordo com a sua reação (Tabela 1) (PUNEKAR, 2018).

Tabela 1 – Classificação internacional das enzimas.

Classificação	Tipo de reação catalisada
Oxidoreductase	Transferência de elétrons
Transferase	Reações de transferência de grupos
Hidrolase	Reações de hidrólise
Liasas	Rompimento de ligações duplas ou anéis, ou adição de grupos a ligações duplas
Isomerases	Transferência de grupos dentro de uma mesma molécula, formando isômeros
Ligases	União de moléculas ligadas à quebra de uma ligação pirofosfato

Fonte: Punekar (2018).

As enzimas podem ser indutivas ou constitutivas. As enzimas indutivas geralmente estão em quantidades basais e têm sua síntese aumentada por um indutor no meio, como o amido indutor de amilase por *Bacillus*, por exemplo. Enquanto as enzimas constitutivas estão presentes em quantidades constantes na célula, independente do estado metabólico do organismo, como por exemplo as enzimas que participam das reações de catabolismo.

Diversos fatores são capazes de modificar as reações catalisadas pelas enzimas, como a temperatura, pH, presença de cofatores orgânicos (zinco, ferro e cobre) e orgânicos (principalmente vitaminas) (MALAJOVICH, 2004; PUNEKAR, 2018).

As enzimas possuem um pH ótimo, no qual a atividade de catálise é máxima. Alterações no pH reflete na carga iônica das cadeias laterais dos aminoácidos das enzimas, portanto, qualquer alteração pode eliminar uma interação iônica essencial na estabilização da conformação ativa da enzima (NELSON; COX, 2005).

O micromineral zinco atua de forma ativa ou como cofator de muitos processos enzimáticos, sendo componente essencial para um grande número de metaloenzimas e metaloproteínas e participa de muitas reações do metabolismo celular, incluindo processos fisiológicos (imunidade, crescimento e desenvolvimento), defesa antioxidante, crescimento e desenvolvimento. Também é responsável pela regulação do metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios (MAFRA; COZZOLINO, 2004). A absorção pelo intestino é prejudicada por compostos antagonistas, como o fitato, taninos e polifenóis, do contrário, a absorção pode ser oportunizada com a ingestão de fosfatos, ácidos orgânicos e aminoácidos (CRUZ; SOARES, 2011).

O ferro é um elemento essencial para o funcionamento eficaz de órgãos e tecidos dos vertebrados, participando do processo de transporte de oxigênio (YAMAMOTO *et al.*, 2011). É fundamental para o metabolismo energético, sendo um cofator para as enzimas da cadeia respiratória mitocondrial e no processo de fixação do nitrogênio (GROTTO, 2008).

O cobre é um componente de muitas enzimas que participam dos processos que envolvem reações de óxido-redução. As metaloenzimas que participam da produção de energia celular (citocromo C oxidase), proteção das células dos radicais livres (superóxido dismutase), neurotransmissores do cérebro (dopamina hidroxilase e peptidil monooxygenase), síntese de colágeno (lisil oxidase) e produção de melanina (tirosinase) (ARAÚJO *et al.*, 2012).

Segundo Moraes e Almeida (2020), as vitaminas hidrossolúveis (vitaminas do complexo B e ácido ascórbico) engloba moléculas que são de fundamental importância para o

metabolismo intermediário de plantas e animais, funcionando como cofatores de enzimas, porém os estudos sobre as quantidades necessárias ainda são escassos.

A atividade enzimática também pode ser inibida quando moléculas semelhantes ao substrato competem com esse a fim de ocupar o sítio ativo da enzima (inibição competitiva) ou quando moléculas fazem ligações com algumas partes da enzima, causando uma alteração em sua estrutura e prejudicando sua ligação com o substrato (inibição não competitiva) (MALAJOVICH, 2004).

Os metais pesados são capazes de alterar a estrutura molecular de uma enzima, de maneira irreversível. Esses poluentes, quando encontrados em altas concentrações no tecido animal, são responsáveis por desnaturar as proteínas e inativar enzimas, alterando a atividade celular. Os animais aquáticos atuam como bons marcadores de poluição aquática, sendo os indicadores mais utilizados as enzimas do tecido hepático, envolvidos na detoxificação de xenobióticos e os seus metabólitos (JESUS; CARVALHO, 2008).

Alterações na temperatura provocam mudanças nas forças intramoleculares das enzimas, podendo provocar modificações conformacionais na estrutura. A princípio, quando há um aumento na temperatura, a reação sofre uma aceleração, mas com limites, pois poderá haver uma ruptura da estrutura da proteína, reduzindo a eficiência e atividade (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011). Segundo Robinson (2015), a desnaturação da proteína depende do tempo de exposição e é difícil definir uma temperatura ideal para uma enzima, pois varia de enzima para enzima. Enzimas microbianas possuem estabilidade térmica muito alta, pode ser completamente termoestável a 70°C e manter os níveis da atividade mesmo a 100°C.

2.2 MECANISMOS DE AÇÃO DAS PRINCIPAIS ENZIMAS USADAS COMO ADITIVOS

2.2.1 Fitase

As fitases (hexafosfato de mioinositol) são pertencentes à classe das hidrolases e estão difundidas pela natureza, podendo ser derivada de animais, vegetais ou microrganismos. São responsáveis pela hidrólise do fitato (Figura 1), formando inositol e fosfatos, e disponibilizando o fósforo para absorção explorado (DELMASCHIO, 2018).

O fitato é um derivado do mioinositol, principal forma de armazenamento de fósforo orgânico nos vegetais, mas atua como um fator antinutricional em não ruminantes. No processo de amadurecimento da planta, há acúmulo de quantidades consideráveis de fitato, nas sementes

de cereais e leguminosas (PONTES, 2019). Além disso, devido à ausência de fitase no trato digestivo de não ruminantes, são excretados e causam poluição ambiental (SINGH *et al.*, 2020).

O fitato é capaz de se ligar a íons metálicos, formando complexos com proteínas e enzimas, no estômago dos animais, afetando a estrutura proteica e reduzindo a digestibilidade da proteína. Para que as fitases possam ter uma ótima atividade, devem possuir alta capacidade de degradação do fitato, resistência à temperatura e atividade em ampla faixa de pH (PONTES, 2019).

A classificação das fitases pode ser baseada no pH ótimo, existindo a fitase ácida, neutra e alcalina, sendo as ácidas as mais conhecidas e produzidas por inúmeros microrganismos. As fitases ácidas são muito ativas, sendo derivadas principalmente de fungos; as fitases neutras têm efeito limitado e são derivadas de algumas bactérias e fungos; as fitases alcalinas têm sua atividade geralmente dependente de Ca^{+2} , indicando que o cálcio possui a função de cofator da enzima. Em peixes, foi observado que a fitase alcalina pode ser utilizada para aumentar a disponibilidade de fósforo, com faixa ideal de pH 7,0 a 8,0, próximo ao pH intestinal dos animais (SINGH *et al.*, 2020).

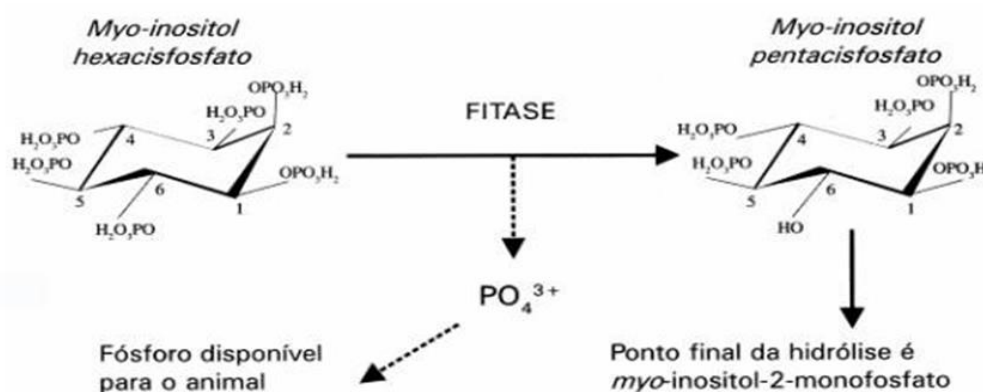


Figura 1 – Mecanismo de ação da enzima fitase

Fonte: Paula, Chen e Maia (2009)

2.2.2 Celulase

As celulasas são enzimas que podem ser sintetizadas por muitos microrganismos, sendo a maioria das celulasas comerciais de origem fúngica, porém as bacterianas têm sido consideradas como produtoras de enzimas robustas e versáteis devido à sua alta taxa de crescimento, estabilidade em condições extremas e presença de complexos multienzimáticos (LADEIRA *et al.*, 2015).

A celulase desempenha um importante papel na hidrólise da ligação β -1,4- glicosídica da celulose, componente dominante da parede celular dos vegetais. Para que haja a hidrólise completa da celulose, é necessário o sinergismo de três enzimas celulolíticas, as endoglucanases, exoglucanases e β -glicosidase, a fim de converter a celulose em glicose (FERREIRA *et al.*, 2020).

A primeira enzima a atuar é a endoglucanase que age na região interna da fibra da celulose, clivando sua cadeia linear, especificamente nas ligações β -1-4 internas. As exoglucanases atuam na região externa da celulose, agindo nos resíduos expostos pela ação anterior, liberando celobiose (dissacarídeo formado por duas moléculas de glicose). As β -glicosidase têm a capacidade de hidrolisar a celobiose e outros oligossacarídeos em glicose (FERREIRA *et al.*, 2020).

A temperatura ótima para a atuação da maioria das celulases está acima de 40°C. Quando produzidas por fungos, as celulases apresentam valores ótimos de pH na faixa ácida, 3,6 a 5,0, enquanto que as originadas de bactérias são ativas em pH alcalino (CASTRO; PEREIRA, 2010).

Na década de 80, as celulases começaram a ser produzidas em escala industrial para a nutrição animal, aumentando a digestibilidade. Seu uso se estendeu à indústria alimentícia e de bebidas, promovendo a clarificação de sucos. Houve uma intensa expansão da aplicação da celulose, sendo aplicada em vários seguimentos industriais (têxtil, papel, lavanderia), e na década de 90, a celulases e hemicelulases representavam mais de 20% do mercado mundial de enzimas (CASTRO; PEREIRA, 2010).

2.2.3 Amilase

A amilase é uma enzima responsável pela hidrólise do amido, o carboidrato mais comum na natureza e é dividida em dois grupos, as endoamilases (α -amilase), e as exoamilases. As endoamilases são responsáveis por realizar hidrólises no interior do amido, quebrando as ligações glicosídicas α -1,4 a glicose, maltose e dextrina. As exoamilases hidrolisam ligações glicosídicas α -1,4, ambas as ligações α -1,4 e α -1,6, dando origem a produtos com baixo peso molecular (GUPTA *et al.*, 2003; ZHANG; HAN; XIAO, 2017).

Podem ser originadas de animais, vegetais e microrganismos. A produção com origem microbiana apresenta como vantagens a capacidade de grande produção e a facilidade na

manipulação para a obtenção de enzimas com as características desejadas (GUPTA *et al.*, 2003).

Em peixes, o pH ótimo da amilase é variável de acordo com a espécie, mas está entre 6,0 e 9,0, e a temperatura ótima entre 25° e 55°C. Nesses animais não há produção de amilase salivar, sendo a produção restrita ao pâncreas e ao intestino (OLIVEIRA, 2011). Devido a termoresistência, amilases produzidas por microrganismos termofílicos têm se destacado industrialmente devido à estabilidade à temperatura e pH (CARVALHO *et al.*, 2008).

2.2.4. Protease

As proteases compõem um grupo de grandes moléculas enzimáticas, com a função de hidrolisar as proteínas, sendo a sua atividade fundamental para o metabolismo de um organismo, regulando vias fisiológicas. Podem ter origem animal, vegetal ou microbiana (GURUMALLESH *et al.*, 2019).

As enzimas de origem microbiana têm vantagens sobre as demais, como menor custo de produção, recurso renovável, possibilidade de produção em larga escala, utilização de enzimas termorresistentes, principalmente de bactérias termofílicas do gênero *Bacillus*. Essas bactérias geralmente crescem rapidamente, catalisam reações em temperaturas elevadas, e por consequência, os riscos de contaminação são reduzidos (NASCIMENTO, 2005).

As proteases são utilizadas em diversos setores: comercial, farmacêutico, detergentes, nutrição, químico, têxtil, papéis, entre outros (CHAUD; ARRUDA; FELIPE, 2007) e podem ser classificadas em exopeptidases e endopeptidases, de acordo com o seu local de ação. As exopeptidases atuam de duas formas, como aminopeptidase, clivando a parte terminal amino da proteína, resultando na liberação de dipeptídeo ou tripeptídeo, e a carboxipeptidases, que clivam a parte carboxila da proteína. Funções atribuídas às carboxipeptidases incluem a digestão de moléculas de alimentos e processos de coagulação sanguínea (GURUMALLESH *et al.*, 2019).

As endopeptidases atuam no interior das cadeias, nas partes não terminais dos aminoácidos. São classificadas de acordo com o grupo químico responsável pela atividade catalítica, existindo seis classes: proteases de cistina, proteases de serina, proteases de treonina, proteases de ácido glutâmico, proteases de ácido aspártico e metaloproteases (GURUMALLESH *et al.*, 2019).

Para condições ótimas de produção de proteases, há diferenças que dependem da fonte utilizada. Segundo Chaud, Arruda e Felipe (2007), as condições ótimas de crescimento a partir do gênero *Bacillus* estão na faixa de pH de 7,0 a 9,0 e a temperatura de 40° a 70°C.

O mercado de enzimas vem crescendo em varias áreas, devido a busca por estratégias para elaboração de produtos ecologicamente corretos, em 2019, o mercado global das industrias de enzimas foi estimado em US\$ 2,4 bilhões, deve chegar a 3,2 bilhões em 2025 (DENTI *et al.*, 2022).

2.3 INFLUÊNCIAS IMUNOLÓGICAS E AMBIENTAIS À ADIÇÃO DE ENZIMAS

O sistema imune dos peixes é regulado por tecidos linfóides associados à mucosa (MALT), que são divididos em tecidos linfóides associados à brânquia (GIALT), tecido linfóide associado ao intestino (GALT) e tecido linfático associado à pele (SALT). Como a exposição do ambiente aquático com as mucosas é contínua, torna o animal susceptível, as células imunocompetentes e os fatores nas superfícies mucosas, juntamente com a microbiota comensal, têm papel fundamental contra patógenos (LAZADO; CAIPANG, 2014).

O estresse influencia diretamente os animais, tornando-os susceptíveis à doenças, alterando as respostas inatas e contribuindo para o aparecimento de doenças e a alta mortalidade. Apesar de os agentes estressores serem inevitáveis na piscicultura, o uso de probióticos têm sido descritos como agentes que melhoram a tolerância ao estresse em peixes (AKHTER *et al.*, 2015).

O uso de probióticos, prebióticos e/ou simbióticos tem sido amplamente usado na aquicultura, devido às características imunoestimulantes (SADO; BICUDO, 2012). Os efeitos do uso são a competição por sítios de adesão; produção de compostos antagonistas contra os patógenos; resistência à colonização e competição por nutrientes essenciais (NAKANDAKARE *et al.*, 2018). Segundo Brown (2011), algumas bactérias utilizadas como probióticos, como o *Bacillus cereus*, são capazes de interromper o *quorum sensing* de bactérias patogênicas por intermédio da secreção enzimática.

Diversos estudos têm associado a presença de doenças com a microbiota intestinal. A presença de microrganismos comensais podem atuar como importante imunomodeladores, interferindo na resposta inflamatória. Assim, a aplicação de probióticos é considerada uma alternativa viável e sustentável no controle de doenças (LAZADO; CAIPANG, 2014; WU; IVANOVA; OREKHOV, 2020).

Resíduos alimentares e fezes estão entre as principais fontes de poluentes da água, e os elementos como fósforo e nitrogênio desempenham um papel crucial, devido ao fato de serem causadores de eutrofização na água (CYRINO *et al.*, 2010). Na piscicultura, a alimentação com excesso de proteínas pode resultar em um catabolismo de aminoácidos com excreção de amônia, sendo um componente tóxico para os animais. (ALMEIDA *et al.*, 2019).

A amônia pode estar presente sob duas formas na água, NH_3 , que é a forma não ionizada e NH_4 , a amônia ionizada. O aumento do pH da água faz com que aumente as concentrações de NH_3 , considerada entre as duas a mais tóxicas para os animais aquáticos (CORREIA, 2011).

Apesar de ser um nutriente essencial para a estrutura e processos fisiológicos dos peixes, níveis altos em dietas causam um aumento em sua excreção, levando à eutrofização do meio e ao super florescimento de algas, que podem causar toxidez aos animais (LAZZARI; BALDISSEROTTO, 2018). A fim de reduzir os impactos ambientais, é necessária a adoção de técnicas de manejo que possam contribuir com uma melhor digestibilidade e absorção dos nutrientes, como a adição de fitase e protease (CYRINO *et al.*, 2010).

3 CONCLUSÕES

Após o exposto, pode-se considerar que as enzimas possuem papel importante nos processos de digestão, permitindo melhorar a eficiência do uso de nutrientes, e consequentemente aumentar a produção de peixes, impactando diretamente sobre o custo final de produção.

4 REFERÊNCIAS

AKHTER, N. *et al.* Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: a review. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 45, n. 2, p. 733-741, 2015.

ALMEIDA, V. N. S. **Exigência proteica e respostas metabólicas de juvenis de piapara (*Megaleporinus obtusidens*)**. 2019. 49 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Mestre em Ciência e Tecnologia Animal) – Programa de pós graduação em Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Estadual Paulista, UNESP, 2019.

ARAÚJO, E. P. *et al.* **Importância do mineral cobre em dieta de peixes**. In Simpósio de Ciências da UNESP, 8. In Encontro de zootecnia da UNESP, 10, 2012, Botucatu, UNESP, 2012. p.1-4.

- BERGAMIN, G. T. *et al.* Extração de antinutrientes e aumento da qualidade nutricional dos farelos de girassol, canola e soja para alimentação de peixes. **Ciência Rural**, v. 43, p. 1878-1884, 2013.
- BROWN, M. Modes of action of probiotics: recent developments. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 10, n. 14, p. 1895-1900, 2011.
- CARVALHO, R. V. de. *et al.* Otimização das condições de cultivo para a produção de amilases pelo termofílico *Bacillus sp.* e hidrólise de amidos pela ação da enzima. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 2, p. 380-386, 2008.
- CASTRO, A. M. de; PEREIRA JR, N. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 181-188, 2010.
- CAVERO, B. A. S. **Uso de enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de Pirarucu (*Arapaima gigas*) (Cuvier, 1829)**. 2004. 79 f. Tese (Doutorado Ciências Biológicas) programa de pós Graduação em Biologia tropical e Recursos Naturais - Universidade Federal do Amazonas, Manaus. 2004.
- CHAUD, L. C. S.; ARRUDA, P. V.; FELIPE, M. G. A. das. Considerações sobre a produção microbiana e aplicações de proteases. **Nucleus**, v. 4, n. 1, p. 1-11, 2007.
- CORREIA, A. F. M. **Exposição crônica de juvenis de tilápia do Nilo a nitrogênio amoniacal total em PH da água neutro a moderadamente ácido**. 2011. 21 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Pesca), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.
- CRAIG, S. *et al.* **Understanding fish nutrition, feeds, and feeding**: Virginia cooperative Extension 2017. Disponível em <https://vtechworks.lib.vt.edu/bitstream/handle/10919/80712/FST-269.pdf>. Acesso em: 18 out. 2022.
- CRUZ, J. B. F.; SOARES, H. F. Uma revisão sobre o zinco. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 15, n. 1, p. 207-222, 2011.
- CYRINO, J. E. P. *et al.* A piscicultura e o ambiente: o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 68-87, 2010.
- DELMASCHIO, I. Enzimas na alimentação de animais monogástricos - revisão de literatura. **Revista Científica de Medicina Veterinária-UNORP**, v. 2, n. 1, p. 06-20, 2018.
- DENTI, A. F. *et al.* Enzimas e suas aplicações com ênfase na indústria de alimentos. **Revista Perspectiva**, v. 46, n. 175, p. 51-68, 2022.
- FERREIRA, A. N. *et al.* **Obtenção de celulases microbianas: uma breve revisão**, v. 3 p. Ponta Grossa: Atena, 2020. 474p.
- FOOD INGREDIENTS BRASIL. **Enzimas: Natureza e ação nos alimentos**. 2011. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/166.pdf>> Acesso em: 20 de julho de 2020.

- FURUYA, W. M. *et al.* Exigência de fósforo disponível para tilápia-do-nilo (35 a 100 g). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 6, p. 961-966, 2008.
- GORE, S. R. Nutritional support of fish. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v.15, n. 4, p. 264-268, 2006.
- GROTTO, H. Z.W. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, n. 5, p. 390-397, 2008.
- GUPTA, R. *et al.* Microbial α -amylases: a biotechnological perspective. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 11, p. 1599-1616, 2003.
- GURUMALLESH, P. *et al.* A systematic reconsideration on proteases. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 128, p. 254-267, 2019.
- JESUS, T. B.; CARVALHO, C. E. V. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 4, p. 7-14, 2008.
- KUMAR, V. *et al.* Phytate and phytase in fish nutrition. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 96, n. 3, p. 335-364, 2012.
- LADEIRA, S. A. *et al.* Cellulase production by thermophilic *Bacillus* sp: SMIA- 2 and its detergent compatibility. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 18, n. 2, p. 110-115, 2015.
- LAZADO, C. C.; CAIPANG, C. M. A. Mucosal immunity and probiotics in fish. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 39, n. 1, p. 78-89, 2014.
- LAZZARI, R.; BALDISSEROTTO, B. Nitrogen and phosphorus waste in fish farming. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 34, n. 4, p. 591-600, 2018.
- MAFRA, D.; COZZOLINO, S. M. F. Importância do zinco na nutrição humana. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 1, p. 79-87, 2004.
- MALAJOVICH, M. A. **Biotechnologia**: Axcel Books do Brasil Editora. Rio de Janeiro: Academia Accelerating the world's research, 2004. 313p.
- MENDONÇA, P. P. *et al.* Efeito da suplementação de fitase na alimentação de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Archivos de Zootecnia**, v. 61, n. 235, p. 437-448, 2012.
- MONTEIRO, V. N.; NASCIMENTO, S. R do. Aplicações industriais da biotecnologia enzimática. **Revista Processos Químicos**, v. 3, n. 5, p. 9-23, 2009.
- MORAES, G; ALMEIDA, L. C. de. Nutrition and functional aspects of digestion in fish. In: BALDISSEROTTO, B. *et al.* **Biology and physiology of freshwater neotropical fish**. Cambridge: Academic Press, 2020. p. 251-271.

NAKANDAKARE, I. B. *et al.* Incorporation of probiotics in the diet for juvenile Nile tilapia: hematological, immunological and microbiological parameters. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 39, n. 2, p. 121-135, 2018

NASCIMENTO, W. C. A. **Estudos sobre a secreção de proteases por *Bacillus* sp. SMIA-2 e sua compatibilidade com detergentes comerciais**. 2005. 79 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Programa de doutorado em Produção Vegetal – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2005.

NELSON, D.; COX, M. **Lehninger principles of biochemistry**. Macmillan: W.H. Freeman & Co Ltd, 2005. 1328p.

OLIVEIRA, V. M. **Aplicação de hidrolases de tilápias-do-nilo (*Oreochromis Niloticus*) como biomarcadores de exposição ao alumínio**. 2011. 77 f. Dissertação (Mestrado em ciências biológicas) – Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

PAULA, E. F. E.; CHEN, R. F. F; MAIA, F. P. Enzimas exógenas na nutrição de animais monogástricos. **PUBVET**, v. 3, n. 14, p. 1-18, 2009.

PIRES, C. V. *et al.* Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes protéicas. **Food Science and Technology**, v. 26, p. 179-187, 2006.

PONTES, T. C. **Nova geração de fitase líquida em dietas para tilápias do Nilo**. 2019. 73 f. Tese. (Doutorado em zootecnia) - Programa de doutorado em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2019.

PUNEKAR, N. S. **Enzymes**. India: Academic Press, 2018. 560p.

ROBINSON, P. K. Enzymes: principles and biotechnological applications. **Essays in Biochemistry**, v. 59, p. 1-41, 2015.

ROTTA, M. A. Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. **Embrapa pantanal- documentos (INFOTECA-E)**, Embrapa, 2003. 49p.

SADO, R. Y.; BICUDO, A. J. A. de. Prevenção de doenças em peixes tem nutrição como fator determinante. **Visão Agrícola**, n. 11, p. 80-82, 2012.

SANTOS, F. W. B. Nutrição de peixes de água doce: definições, perspectivas e avanços científicos. In: SIMPOSIO DE NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 1, 2017, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2017. p. 5-33.

SINGH, B. *et al.* Contribution of microbial phytases to the improvement of plant growth and nutrition: a review. **Pedosphere**, v. 30, n. 3, p. 295-313, 2020.

SOARES, T. A; LINS, R. D. R. Nem toda enzima é uma proteína. **Química Nova**, v. 18, n. 4, p. 375-378, 1995.

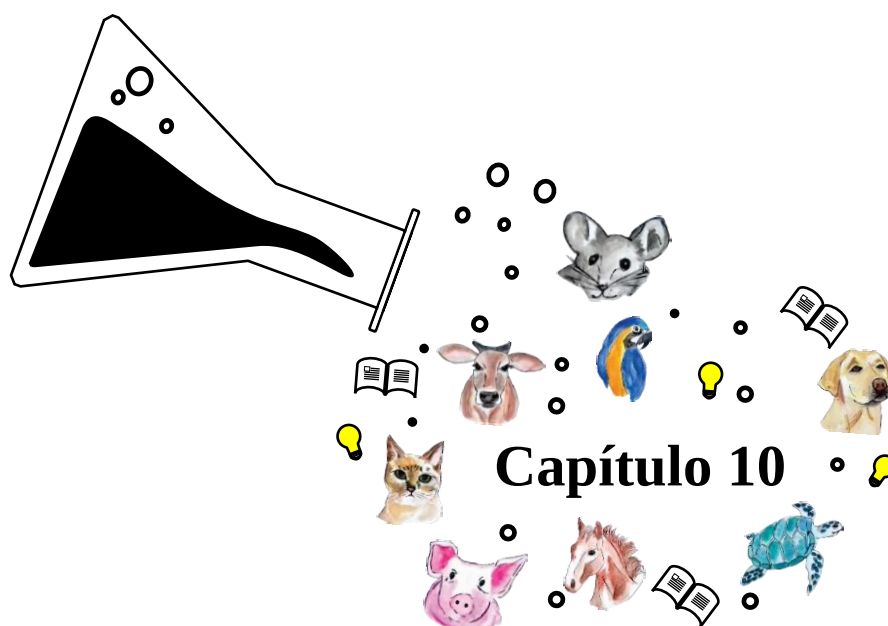
SOUZA, F. R. de. **Aplicação de enzimas no processamento de couros: comparação entre processos químicos e coenzimáticos**. 2010. 133 f. Dissertação (Mestrado em engenharia química) -Programa de Pós Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

VOLKOFF, H.; LONDON, S. Nutrition and reproduction in fish. **Encyclopedia of Reproduction**, v. 9, p. 743-748, 2018.

WU, W. K.; IVANOVA, E. A.; OREKHOV, A. N. Gut microbiome: A possible common therapeutic target for treatment of atherosclerosis and cancer. **Seminars in Cancer Biology**, v. 70, p. 85-97, 2021.

YAMAMOTO, F. Y. *et al.* **Microminerais (Cu, Fe, Mn, Se e Zn) na nutrição de peixes, uma revisão bibliográfica**. 2011. 42 f. Monografia. (Graduação em engenharia de Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

ZHANG, Q.; HAN, Y.; XIAO, H. Microbial α -amylase: a biomolecular overview. **Process Biochemistry**, v. 53, p. 88-101, 2017.



Rações com aditivos enzimáticos para produção de peixes

Raphael Pires Bolzan¹
Erivelton Oliveira de Souza²
Shamara Silva Bulhões³
Priscilla Cortizo Costa Pierro⁴
José Geraldo Vargas Junior⁵
Paola de Oliveira Santos⁶
Saulo Abreu Almeida da Silva⁷
Pedro Pierro Mendonça⁸

¹ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: rpbolzan@ifes.edu.br

² Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: velto3032@gmail.com

³ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: shamarabulhoes@gmail.com

⁴ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: pricortizo@gmail.com

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: josegeraldovargas@yahoo.com.br

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

⁷ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: sauloabreu1995@gmail.com

⁸ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: ppierrom@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se por ser um grande produtor mundial de carnes, sendo uma das mais desenvolvidas do mundo, conferindo ao país um papel protagonista no setor (CRUZ; RUFINO, 2017). A proteína animal oriunda da aquicultura apresenta características mais sustentáveis de criação, com maior conversão alimentar, quando comparada a outras espécies animais (BOCABELLO, 2019).

Apesar de corresponder ao maior custo na produção, chegando a representar 70%, a alimentação tem uma importância fundamental para o setor aquícola, pois é uma peça chave para o crescimento, reprodução e lucratividade (MORO; RODRIGUES, 2015). Assim, para que haja fabricação de qualidade de rações com valor mínimo, há uma crescente busca entre instituições públicas e privadas na busca de matérias primas alternativas (CRUZ; RUFINO, 2017).

Diversos fatores devem ser buscados para a fabricação de uma ração, portanto, deve-se conhecer as variações entre as espécies de peixes, fisiologia do sistema digestivo, preferência alimentar e fase de desenvolvimento, por exemplo, somando esses fatores a classificações adequadas das rações, poderá manter as crescentes na aquicultura (RIBEIRO *et al.*, 2012). As rações para animais aquáticos são classificadas da seguinte forma (CRUZ; RUFINO, 2017; MORO; RODRIGUES, 2015; RIBEIRO *et al.*, 2012).

Quanto a forma física:

a. Peletizada: é o mais popular em rações para animais. Baseia-se em transformar os ingredientes moídos em um aglomerado livre de partículas, denominado pellet. Esse tipo evita perda de nutrientes na água, e sua estabilidade na água deve durar cerca de 15 minutos.

b. Extrusada: os ingredientes são submetidos ao cozimento em alta temperatura e pressão. Exige altos investimentos, mas facilita o manejo alimentar, uma vez que sua estabilidade na superfície da água dura cerca de 12 horas e permite ao produtor visualizar o consumo da ração. Essas características são devido à expansão e gelatinização do amido às condições de cozimento.

c. Farelada: são preparadas a partir da moagem dos grãos e posterior homogeneização aos demais ingredientes, sem que haja o processo de umidificação. Seu uso é limitado, pois a perda de nutrientes é grande.

Ou quanto ao teor de umidade presentes, nas mesmas, que interferem diretamente na forma e no local de armazenamento destas. Porém, independente do nível de umidade, as rações

devem ser armazenadas em locais secos, protegidos de sol, vento, chuvas e outros animais (RIBEIRO *et al.*, 2012).

- a. Úmidas (50 a 70% de umidade): geralmente utilizadas em locais com pouca acessibilidade aos ingredientes, fabricadas na propriedade e devem ser armazenadas em baixas temperaturas.
- b. Semi Úmidas (35 a 40% de umidade): mais estáveis que as úmidas, também é necessária a manutenção a baixas temperaturas.
- c. Secas (inferior a 12%): mais empregadas e recomendadas nas pisciculturas.

Dessa forma pode-se perceber que características das rações utilizadas na produção de peixes assim como os aditivos que são utilizados nestas, principalmente os enzimáticos, despertam interesse no mercado e na sociedade acadêmica/técnica, colocando este tema em aberto para debates e novos entendimentos.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1 UTILIZAÇÃO DE ENZIMAS COMO ADITIVOS EM RAÇÕES PARA PEIXES.

A inclusão de aditivos às rações tem a função de melhorar as condições dos animais, contribuindo para haver melhor aproveitamento dos nutrientes (RIBEIRO *et al.*, 2012). Seu uso é regulamentado pela Instrução Normativa número 13 de 30 de novembro de 2004, e podem ser classificados de quatro categorias (BRASIL, 2004):

- a. aditivos tecnológicos: qualquer substância adicionada ao produto destinado à alimentação animal com fins tecnológicos;
- b. aditivos sensoriais: qualquer substância adicionada ao produto para melhorar ou modificar as propriedades organolépticas destes ou as características visuais dos produtos;
- c. aditivos nutricionais: toda substância utilizada para manter ou melhorar as propriedades nutricionais do produto;
- d. aditivos zootécnicos: toda substância utilizada para influir positivamente na melhoria do desempenho dos animais;
- e. anticoccidianos: substância destinada a eliminar ou inibir protozoários.

Segundo Iwashita, Moro e Nakandakare (2014), a inclusão de aditivos às rações pode ser feita de três formas, misturando-se o aditivo puro aos ingredientes antes de seu processamento; misturando-se o aditivo puro na ração farelada ou triturada; misturando-se o

aditivo em um veículo aquoso, oleoso ou inerte na ração farelada, triturada, peletizada e extrusada (Figura 1).



Figura 1 - A – Mistura do aditivo aos ingredientes da ração; B – Processamento dos ingredientes para fabricação do pellet de ração; C – Mistura do aditivo puro à ração extrusada; D – Mistura do aditivo em um veículo aquoso à ração farelada; E – Mistura do aditivo em um veículo inerte à ração extrusada; F – Mistura do aditivo em um veículo oleoso à ração peletizada.

Fonte: Iwashita, Moro e Nakandakare (2014).

2.2. - APLICAÇÃO DE ENZIMAS NA ALIMENTAÇÃO DE PEIXES

Segundo dados da Associação Brasileira de Piscicultura - (PEIXE BR, 2020), a produção no Brasil de peixes em cultivo em 2019 foi de 758.006 toneladas, representando aumento de 4,9% quando comparado ao ano de 2018, sendo praticamente toda a produção voltada para atender ao mercado interno.

Além da grande quantidade de terras, o Brasil é o maior reservatório de água do planeta, com mais de 8 mil quilômetros de costa marítima, e 5,5 milhões de hectares e água doce. Assim, o Brasil destaca-se pelo grande potencial para a aquicultura, pelas condições naturais, pelo clima favorável e pela sua matriz energética (ROCHA *et al.*, 2013).

Conforme o atual relatório, Produção Pecuária Municipal do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2018), o Brasil está em crescente expansão do mercado aquícola. Entre 2008 e 2014, o setor teve um crescimento de 54%, sendo a piscicultura de água doce a

principal categoria (PEDROZA FILHO; ROUTLEDGE, 2016). A Região Sul é responsável por 32% da produção nacional. Em seguida vêm as Regiões Norte e Nordeste (ambas com 19%) e Sudeste (17,8%). Dentre os estados, o Paraná assume a liderança (23,4%), seguido por São Paulo (9,9%) e Rondônia (9,7%) (IBGE, 2018).

A tilápia (*Oreochromis niloticus*) é a espécie de peixe mais cultivada no Brasil, seguido do tambaqui (*Colossoma macropomum*). A tilápia foi responsável por 60% da produção de peixes no Brasil, sendo a Região Sul a maior produtora (45,8%) (Figura 2) (IBGE, 2018). Com esse aumento na produção, o Brasil passou a ser o quarto maior produtor de tilápias no mundo, sendo liderado por China, Indonésia e Egito (PEIXE BR, 2020).

A espécie apresenta diversos fatores que facilitam o seu cultivo: facilidade de reprodução e obtenção de alevinos, a possibilidade de manipulação, hormonal do sexo para obtenção de populações masculinas, a boa aceitação de, diversos tipos de alimentos, a grande capacidade de aproveitar alimentos naturais em viveiros, bom crescimento em cultivo, grande rusticidade, suportando bem o manuseio intenso e os baixos níveis de oxigênio dissolvido na produção e, sobretudo, sua grande resistência às doenças; a carne branca, de textura firme, sem espinhos, de sabor pouco acentuado e de boa aceitação (TURRA *et al.*, 2010).

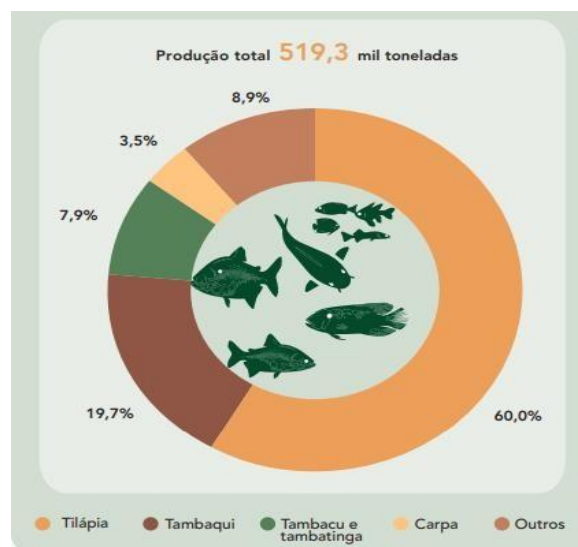


Figura 2 – Participação dos grupos de peixes de cultivo no Brasil.
Fonte: IBGE (2018).

A tilápia é a espécie mais cultivada no país, tendo cada vez mais importância na economia de diversas regiões. Assim, a nutrição e alimentação desses animais em cultivos é alvo de muitas pesquisas e de grande interesse pela indústria de alimentação animal (FURUYA; FURUYA, 2010).

A dieta dos peixes e a intensificação da produção atuam sobre o comportamento, saúde, funções fisiológicas, reprodução, crescimento e as condições ambientais do sistema de produção (CYRINO *et al.*, 2010). O manejo inadequado e o fornecimento de alimentos de baixa qualidade, ou não balanceados, podem causar deficiências na absorção de nutrientes e acúmulo de matéria orgânica no ambiente (SADO; BICUDO, 2012).

Altas densidades de estocagem na piscicultura resultam em maiores produções e, consequentemente, em um maior retorno econômico (MARENGONI, 2006). Porém, os sistemas intensivos, caracterizados por alta densidade populacional, acarretam estresse nos animais, prejudicando o sistema imunológico dos peixes (SADO; BICUDO, 2012).

Segundo dados do Boletim Informativo do Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal – SINDIRAÇÕES (2020), no primeiro trimestre de 2020 a produção de ração para peixes e camarões foi de 393 mil toneladas, sendo a maior parte voltada para a produção de tilápias pelas cooperativas no Paraná.

Quando em ambientes naturais, os peixes são capazes de balancear a dieta optando por alimentos que possam suprir as exigências nutricionais e as preferências alimentares, animais ou vegetais, sendo raro ocorrer sintomas nos animais sob essas condições (ROTTA, 2003). Os peixes teleósteos, como o caso da tilápia, o espectro alimentar sofre influência das condições ambientais, havendo plasticidade trófica, em que o animal se aproveita de uma fonte alimentar mais vantajosa em um determinado período de tempo (ABELHA; AGOSTINHO; GOULART, 2001). Porém, em criações intensivas, é necessário a utilização de rações balanceadas e inclusão de aditivos, auxiliando a atividade das enzimas endógenas e atuando em substratos que não são degradados naturalmente (GOMES *et al.*, 2019).

A fim de reduzir possíveis impactos, o uso de enzimas exógenas são adicionadas às rações com o objetivo de minimizar ou remover alguns fatores antinutricionais, melhorar o valor nutricional (digestão e absorção de nutrientes), reduzir a excreção de fósforo e nitrogênio, reduzindo os impactos ambientais (CYRINO *et al.*, 2010; GOMES *et al.*, 2019). Assim, a produtividade e uma maior rentabilidade na piscicultura dependem da obtenção de alimentos que satisfaçam os requerimentos em nutrientes essenciais (SANTOS, 2017).

A Instrução Normativa nº13 de 30 de novembro de 2004 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento define como aditivo para produtos destinados à alimentação animal como “substância, micro-organismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos produtos, que não é utilizado normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal dos produtos animais,

melhore o desempenho dos animais sadios ou atenda às necessidades nutricionais” (BRASIL, 2004).

Segundo Gomes *et al.* (2019) as enzimas e os complexos enzimáticos exógenos incorporados às rações, de acordo com sua finalidade, podem ser divididos em duas categorias: enzimas que possuem produção endógena, mas que são destinadas a complementar a ação no organismo (protease, amilase, lipase, entre outros) e enzimas que não são sintetizadas pelos peixes (fitase, xilanases, celulase, entre outros).

As enzimas são em sua maioria, proteínas, que possuem como função agir como catalisadores biológicos, aumentam a velocidade das reações. Possuem sítio de ação específico e atuam em condições favoráveis de pH, temperatura, havendo um limiar ótimo para que sua atividade máxima ocorra (CAMPESTRINI; SILVA; APPEL, 2005; GOMES *et al.*, 2018).

A produção de enzimas destinadas à alimentação animal atinge escala comercial na década de 1980, sendo os fungos, bactérias e leveduras as principais fontes de enzimas exógenas (CAMPESTRINI; SILVA; APPEL, 2005). Atualmente, as enzimas comercialmente produzidas para os animais aquáticos são geralmente provenientes de bactérias do gênero *Bacillus* e fungos do gênero *Aspergillus* (STECH; CARNEIRO; PIZAULO JUNIOR, 2009).

A formulação de dietas para peixes objetiva a exigência energética e dessa forma a relação energia/proteína merece grande atenção. Os produtos de origem animal (farinha de peixe, carne, osso e sangue) têm sido substituídos por produtos de origem vegetal, devido ao alto valor protéico e baixo custo. No entanto, nem todos os componentes vegetais são digeridos pelos peixes, possuindo muitos efeitos antinutricionais (SANTOS, 2017).

Antinutrientes são definidos como substâncias que, isoladas ou por meio de metabólicos, interferem na utilização e aproveitamento dos alimentos, afetando a saúde e a produção animal. Podem ser divididos em quatro grupos: fatores que afetam a utilização e digestão de proteínas; fatores que afetam a utilização de minerais; antivitaminas e algumas substâncias nocivas, como micotoxinas, mimosinas, cianogênicos, saponinas (FRANCIS; MAKAR; BECKER, 2001). No Quadro 1 estão os principais fatores antinutricionais em alimentos utilizados em rações para peixes.

A utilização de polissacarídeos não amiláceos são comumente usados em rações para peixes. São componentes da parede celular em alimentos de origem vegetal (celulose, hemicelulose e pectinas), sendo geralmente encontrados nos cereais (cevada, milho, sorgo, soja, trigo, aveia, arroz, centeio, etc.) e em algumas leguminosas. Podem comprometer o desempenho animal, dependendo da concentração, pelo fato de os peixes não possuírem

enzimas capazes de degradá-los (TACHIBANA *et al.*, 2010), afetando a digestibilidade do nutriente e modificando o tempo de permanência no trato digestivo (BRITO *et al.*, 2008).

Quadro 1 – Principais antinutrientes presentes em alimentos vegetais

Nutrientes de origem vegetal	Fatores antinutricionais
Farelo de soja	Inibidores de protease, lectinas, ácido fítico, saponinas, fitoestrogênios, antivitaminas, alérgenos
Farinha de canola	Inibidores de protease, glucosinolatos, ácido fítico, taninos
Farinha de tremoço	Inibidores de protease, saponinas, fitoestrogênios, alcalóides
Farinha de ervilha	Inibidores de protease, lectinas, taninos, cianogênios, ácido fítico, saponinas, antivitaminas
Torta de óleo de girassol	Inibidores da protease, saponinas, inibidor da arginase
Farinha de algodão	Ácido fítico, fitoestrogênios, gossipol, antivitaminas, ácido ciclopropenóico
Farinha de folhas de <i>Leucaena</i>	Mimosina
Farinha de folhas de alfafa	Inibidores de protease, saponinas, fitoestrógenos, antivitaminas
Torta de óleo de mostarda	Glucosinolatos, taninos
Farinha de gergelim	Ácido fítico, inibidores de protease

Fonte: Francis *et al.* (2001).

Apesar de os polissacarídeos serem classificados como solúveis e insolúveis, ambos possuem capacidade para ligar-se a grandes volumes de água. Essa atividade antinutricional causa um aumento da viscosidade do conteúdo intestinal, levando à diminuição na velocidade de passagem dos alimentos, dificultando a ação das enzimas endógenas, prejudicando o transporte dos nutrientes e a difusão (BRITO *et al.*, 2008).

Ingredientes vegetais também são ricos em fitato, que é um elemento indisponível para o peixe, devido à ausência da enzima fitase. É de fundamental importância no metabolismo dos peixes, e sua deficiência está relacionada à redução na taxa de crescimento e baixa mineralização óssea (MENDONÇA *et al.*, 2012). Assim, além de contribuir com o desempenho

do animal, o uso da fitase ainda reduz os impactos ambientais diminuindo o excesso de fósforo na água (FURUYA *et al.*, 2018).

É importante ressaltar que os fatores anti nutricionais não são tóxicos aos animais, uma vez que são gerados nos alimentos pelo metabolismo normal da espécie, tendo efeito oposto à nutrição adequada e desejável, causando crescimento reduzido, queda na conversão alimentar, menor digestibilidade de nutrientes e consequente diminuição no desempenho animal (CAMPESTRINI; SILVA; APPEL, 2005).

Dessa forma, a adição de enzimas digestivas na piscicultura é necessária para aumentar a absorção de nutrientes, diminuir os impactos ambientais e consequentemente os custos de produção (TACHIBANA *et al.*, 2010).

2.2.1 Enzimas exógenas usadas como aditivos

Dentre as principais enzimas não produzidas pelos peixes e incorporadas à ração estão a fitase e celulase. A fitase (mio-inositol hexaquifosfato fosfohidrolase) é uma enzima pertencente ao grupo das fosfatases e são geralmente encontradas em grandes quantidades na natureza, no solo, e pode ser produzida por fungos (*Aspergillus*), bactérias (*Bacillus subtilis* e *Pseudomonas*), além de microrganismos ruminais. É responsável pela hidrólise do fitato, que é forma primária de armazenamento de fósforo nas plantas (BRANDÃO, 2009).

A celulase é uma enzima responsável por hidrolisar a celulose insolúvel, que pode representar até 50% do peso seco total da planta. Pode ser produzida por inúmeros microrganismos, dentre os quais se destacam *Bacillus*, *Streptomyces*, *Pseudomonas* e *Clostridium*, além de alguns fungos (SANGRILA; MAITI, 2013).

Outras enzimas, como a xilanase e a beta glucanase, por exemplo, também vêm sendo incorporadas às rações com o objetivo de reduzir os fatores antinutricionais e os possíveis impactos ambientais. A xilanase (endoxilanase ou beta xilanase) é uma enzima produzida a partir de fungos *Aspergillus*, responsáveis por catalisar a hidrólise das ligações com xilana, que é o maior constituinte da hemicelulose, representando até 35% do peso seco total da planta (MOTTA, 2008).

A enzima beta glucanase, por sua vez, é responsável pela hidrólise de substratos de beta glucanos insolúveis. Os beta glucanos são responsáveis pela rigidez celular, e alguns têm sido associados à modulação do sistema imune, propiciando uma melhor resposta a nível

imunológico, tanto em animais quanto em humanos (EDISON; SHIBURAJ; PRADEEP, 2017; GARCIA, 2008).

2.2.2 Enzimas endógenas utilizadas como aditivos

Os peixes são animais generalistas, podendo mudar o hábito alimentar ao longo da vida, sendo esta adaptação mais comum em onívoros do que em carnívoros. Algumas enzimas são produzidas pelos peixes, mas são adicionadas à ração com o objetivo de suplementar a atividade enzimática no organismo, como a amilase, proteases (tripsina, quimiotripsina, etc.), lipase, entre outras (STECH; CARNEIRO; PIZAURO JUNIOR, 2009).

A amilase é uma enzima que possui origem pancreática em peixes, que age no intestino delgado sobre os polissacarídeos (MOURA *et al.*, 2007). A amilase, quando administrada de forma exógena, tem como função diminuir a viscosidade da digestão, facilitando a ação de outras enzimas (STECH; CARNEIRO; PIZAURO JUNIOR, 2009).

As proteases são enzimas que podem ser encontradas em fontes animais, vegetais ou microrganismos, responsáveis por clivar as ligações peptídicas entre os aminoácidos das proteínas, envolvido diretamente no processo de digestão (OLIVEIRA, 2015).

A lipase é responsável pela quebra da gordura em ácido graxo e glicerol, e ocorre nos peixes no pâncreas, fígado, intestino e ceco pilórico dos peixes, sendo as de origem pancreática a mais importante no processo de digestão das gorduras (ROTTA, 2003).

Utilizar complexos enzimáticos pode permitir que diversas enzimas possam atuar de forma simultânea, proporcionando maior disponibilidade de proteína e energia nas dietas e melhor aproveitamento dos nutrientes pelos animais (GOMES *et al.*, 2018).

Dessa forma, diversos estudos têm sido conduzidos a fim de avaliar diversos complexos enzimáticos em diferentes concentrações, com o objetivo final de reduzir os fatores antinutricionais, melhorar a conversão alimentar e no desempenho zootécnico do animal, além de reduzir os impactos ambientais.

Segundo Castillo e Gatlin (2015), é de fundamental importância na aquicultura a utilização de ingredientes à base de vegetais em substituição à farinha de peixes, a fim de garantir a sustentabilidade. Porém, o maior entrave dessa substituição seriam os fatores antinutricionais, que interferem diretamente no desempenho dos animais. Apesar de os estudos na aquicultura ainda serem escassos, possui um grande potencial, uma vez que a utilização de enzimas exógenas na alimentação de não ruminantes é extensa.

Em um estudo com tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), Gomes *et al.* (2019) avaliaram o desempenho (ensaio I) e a taxa de excreção de amônia (ensaio II), acrescentando um complexo enzimático composto por protease, fitase, xilanase, β -glucanase, celulase, amilase e pectinase. No ensaio I, os animais alimentados com ração reformulada com inclusão em níveis do complexo enzimático apresentaram maior ganho de peso do que os alimentados sem o complexo enzimático.

Em relação ao ensaio II, os animais que receberam a dieta sem suplementação do complexo enzimático apresentaram maiores taxas de excreção de amônia, enquanto as menores taxas de excreção de amônia (mg/kg/h) foram dos peixes que receberam a dieta com inclusão de 0,025% do complexo enzimático, resultando, de maneira geral, efeitos benéficos na inclusão do complexo enzimático para tilápias (GOMES *et al.*, 2019).

Efeitos benéficos também são relatados por Brito (2019). Em um dos seus experimentos, avaliou o desempenho produtivo, histologia intestinal, parâmetros bioquímicos e microbioma de juvenis de tilápia do Nilo durante 90 dias de experimento, em rações sem ou com adição de xilanase e β -glucanase. Ao final do experimento e análise dos dados, concluiu-se que a adição de xilanase e β -glucanase melhorou o desempenho produtivo, aumentou as vilosidades intestinais e modulou a microbiota intestinal de tilápias do Nilo, de forma que a microbiota intestinal exerce influência na resistência a doenças, o desenvolvimento e a sobrevivência.

Utilizando um complexo enzimático (amilase, protease, celulase, lipase, pectinase, xilanase, β -glucanase e fitase) Signor *et al.* (2010) avaliaram o desempenho e a composição química da carcaça a níveis de 0; 0,033; 0,066 ou 0,099% de complexo enzimático fornecidos à tilápias. Ao nível de 0,066% de inclusão foi verificado benefícios na conversão e eficiência alimentar, mas não houve interferência no desempenho dos animais.

A fim de verificar o desempenho de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*), Nunes *et al.* (2006) utilizaram diferentes concentrações das enzimas amilase, lipase e protease, em experimentos independentes. Houve uma resposta positiva para adição de amilase e lipase, a 0,05% e 0,2%, respectivamente, porém não foi verificada nenhuma influência da protease nos animais.

Mendonça *et al.* (2012), em trabalho com a mesma espécie, o tambaqui, avaliaram a adição de fitase em diferentes concentrações, e obtiveram respostas satisfatórias em relação à inclusão de doses, porém sempre acima de 1400 UFA/kg de ração. Também utilizando a mesma espécie e diferentes níveis de fitase, Brandão *et al.* (2015), não foi verificado melhorias no desempenho zootécnicos dos animais.

Em tilápias, Pontes *et al.* (2019) avaliaram o desempenho zootécnico adicionando a enzima fitase granulada e líquida à ração. Verificou-se que a fitase na forma líquida apresentou muitos benefícios quando comparada à fitase granulada, como a melhoria do desempenho, melhor conteúdo de proteínas na carcaça e coeficiente de digestibilidade. Além disso, seu fornecimento na forma líquida pode ser adicionado em concentrações menores, gerando respostas satisfatórias.

Em estudo conduzido por Bock *et al.* (2007), verificou-se que a inclusão de fitase para tilápias durante a fase de crescimento aumentou a biodisponibilidade do fósforo, diminuindo a eliminação no ambiente, e consequentemente reduzindo possíveis danos ambientais.

Utilizando alevinos de carpa (*Cyprinus carpio*), Rocha *et al.* (2010) avaliaram o desempenho produtivo e as características de carcaça sob tratamentos com a inclusão de fitase em diferentes níveis. Apesar de não encontrarem diferenças no desempenho, houve melhora nas características da carcaça.

Com alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*), a inclusão de fitase até 1500 UAF/kg teve resposta benéfica no ganho de peso, na taxa de crescimento e nas características de carcaça. O excesso de gordura na carcaça não é uma característica desejável, pois pode interferir nas características organolépticas do alimento, além de prejudicar a qualidade durante o congelamento (ROCHA *et al.*, 2007).

A partir de duas dietas diferentes, uma controle (36% de proteína e 17% de polissacarídeos não amiláceos) e outra de baixa qualidade (32% de proteína e 30% de polissacarídeos não amiláceos), Maas *et al.* (2020) utilizou três tratamentos, o primeiro sem adição de nenhuma enzima, o segundo com fitase e o terceiro uma associação entre fitase e xilanase. Ao final do experimento, verificou-se que o efeito da fitase na melhoria da digestibilidade e desempenho dos nutrientes foi independente da qualidade da dieta, enquanto o efeito da xilanase foi dependente da qualidade da dieta (não houve melhorias na dieta controle, apenas na de baixa qualidade).

A carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*), um peixe de hábito herbívoro, foi utilizada para o estudo da celulase exógena, fornecendo como alimento a lentilha, que é rica em carboidratos. Como a utilização de carboidratos na dieta de peixes ainda é limitada, os resultados foram satisfatórios, promovendo, além do crescimento da carpa, aumento da atividade de algumas enzimas digestivas, como amilase e protease (ZHOU *et al.*, 2013).

A enzima carboidrase, amplamente utilizada na suinocultura e na avicultura, ainda tem seu uso restrito na aquicultura devido à escassez de estudos. Segundo Castillo e Gatlin (2015),

melhora a digestibilidade de carboidratos, proteínas e lipídios, mas os efeitos da administração exógena da enzima no desempenho dos peixes ainda não estão claros.

Além de propiciar melhores benefícios digestivos, alguns pesquisadores utilizam os probióticos frente a infecções. Em uma revisão sobre o uso de probióticos em salmonídeos contra *Aeromonas*, importante bactéria causadora de doenças no meio aquáticos, Fečkaninová *et al.* (2017) afirmam que o uso de probióticos é promissor, mas deve existir mais estudos com outros microrganismos e *in vivo*.

3 CONCLUSÕES

Apesar de promissor, o uso de enzimas exógenas na aquicultura ainda requer muitos ensaios. Dessa forma, a adição de enzimas exógenas na aquicultura pode ser uma alternativa ao uso de alguns nutrientes, diminuindo a contaminação ambiental. Os estudos disponíveis utilizam uma infinidade de espécies de peixes, com diferentes hábitos alimentares, além de dietas diversas em níveis de inclusão de aditivos e ingredientes principais. Além disso, muitas publicações utilizam associações entre prebióticos e probióticos, complexos enzimáticos, dificultando o entendimento do mecanismo de ação de cada componente na fisiologia animal, tornando a comparação entre os estudos ainda uma incógnita.

Diante do exposto nesta revisão, pode-se concluir que os aditivos são substâncias importantes e com papel fundamental nas dietas direcionadas à produção animal. Sendo as enzimas, aditivos com funções específicas, porém que trazem respostas significativas nas dietas que são utilizadas, justificando assim o uso das mesmas como aditivos.

4 REFERÊNCIAS

- ABELHA, M. C. F.; AGOSTINHO, A. A.; GOULART, E. Trophic plasticity in freshwater fishes. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 23, n. 2, p. 425-434, 2001.
- BOCABELLO, F. Z. **Evoluções na indústria de proteína animal: os caminhos para a indústria de tilápias no Brasil**. 2019. 122 f. Dissertação (Mestrado em administração de empresas) – Programa de Pós Graduação em Administração de Empresas, FGV/EAESP, São Paulo, 2019.
- BOCK, C. L. *et al.* Fitase em rações para tilápia-do-Nilo na fase de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 5, p. 1455-1461, 2007.

BRANDÃO, L.V. *et al.* Influence of phytase addition in diets for tambaqui. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 41, n. 4, p. 1025-1032, 2015.

BRANDÃO, L. V. Utilização de fitase em dietas para peixes. **PUBVET**, v. 3, n. 5, p. 10-19, 2009.

BRASIL. Instrução Normativa nº 13, de 30 de novembro de 2004. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 01 dez. 2004. Seção 1

BRITO, J. M. **Associação de xilanase e β -glucanase sobre a digestibilidade, desempenho produtivo, histologia intestinal e microbioma de tilápias do Nilo**. 2019. 110 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2019.

BRITO, M. S. *et al.* Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de monogástricos—revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 2, n. 4, p. 111-117, 2008.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V. T. M. da; APPELT, M. D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 2, n. 6, p. 254-267, 2005.

CASTILLO, S.; GATLIN, D. M. Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: A review. **Aquaculture**, v. 435, p. 286–292, 2015

CRUZ, J. P. F.; RUFINO, J. P. F. **Formulação e fabricação de rações (aves, suínos e peixes)**. Manaus: EDUA, 2017. 118 p.

CYRINO, J. E. P. *et al.* A piscicultura e o ambiente: o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 68-87, 2010.

EDISON, L. K.; SHIBURAJ, S.; PRADEEP, N. S. Microbial beta glucanase in agriculture. In: MATHIVANAN, S. **Advances in microbial biotechnology**. London: Apple Academic Press, 2018. 53-72 p.

FEČKANINOVÁ, A. *et al.* The use of probiotic bacteria against *Aeromonas* infections in salmonid aquaculture. **Aquaculture**, v. 469, p. 1-8, 2017.

FRANCIS, G.; MAKKAR, H. P. S; BECKER, K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. **Aquaculture**, v. 199, n. 3-4, p. 197-227, 2001.

FURUYA, W. M. *et al.*, Fitase em rações para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 34, n. 4, p. 489-496, 2018.

FURUYA, W. M.; FURUYA, V. R. B. Nutritional innovations on amino acids supplementation in Nile tilapia diets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 88-94, 2010.

GARCIA, F. **Suplementação alimentar com 'beta'-glucano e mananoligossacarídeo para tilápias do Nilo em tanques-rede**. 2008. 100 f. Tese (Doutorado em aquicultura) – Programa de Pós Graduação em Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

- GOMES, V. D. S. *et al.* Blend de enzimas digestivas sobre crescimento e composição corporal de juvenis de tilápia do nilo. **Revista científica de produção animal**, v. 20, p. 59-64, 2018.
- GOMES, V. D. S. *et al.* Suplementação enzimática sobre o desempenho e taxa de excreção de amônia em tilápias do Nilo. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 22, n. 1, p. 13-20, 2019.
- IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Pesquisa da pecuária municipal 1974-2017**. 2018. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm/tabelas>>. Acesso em: 05 out. 2022.
- IWASHITA, M. K. P; MORO, G. V.; NAKANDAKARE, I. V. **Incorporação de aditivos na ração de peixes**. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2014. 4 p.
- MAAS, R. M. *et al.* Effect of exogenous enzymes (*phytase and xylanase*) supplementation on nutrient digestibility and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed different quality diets. **Aquaculture**, v. 529, p. 723-735, 2020.
- MARENGONI, N. G. Produção de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (linhagem chitralada), cultivada em tanques-rede, sob diferentes densidades de estocagem. **Arquivos de Zootecnia**, v. 55, n. 210, p. 127-138, 2006.
- MENDONÇA, P. P. *et al.* Efeito da suplementação de fitase na alimentação de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Arquivos de Zootecnia**, v. 61, n. 235, p. 437-448, 2012.
- MORO, G. V.; RODRIGUES, A. P. O. **Rações para organismos aquáticos: tipos e formas de processamento**. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2015. 29 p.
- MOTTA, F. B. **Triagem, seleção, produção e caracterização da enzima xilanase a partir de leveduras silvestres**. 2008. 92 f. Dissertação (Mestrado em engenharia de alimentos) – Programa de Pós graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2008.
- MOURA, G. S. de. *et al.* Desempenho e atividade de amilase em tilápias-do-Nilo submetidas a diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 11, p. 1609-1615, 2007.
- NUNES, É. S. S. da. *et al.* Enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 1, p. 139-143, 2006.
- OLIVEIRA, V. M. de. **Obtenção de proteases a partir do trato digestivo de peixes neotropicais para aplicação na produção de peptídeos de colágeno**. 2015. 243 f. Tese (Doutorado em ciências Biológicas) - Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.
- PEDROZA FILHO, M. X; ROUTLEDGE, E. A. B. Intensificação produtiva da aquicultura brasileira e novas demandas tecnológicas. **Nota Técnica AGROPENSA/EMBRAPA**, v. 1, p. 14, 2016.

PEIXE BR. Anuário 2020 PeixeBr da Piscicultura. **Associação Brasileira da Piscicultura**. 2020. Disponível em <<https://www.peixebr.com.br/Anuario2020/AnuarioPeixeBR2020.pdf>> Acesso em 08 de julho de 2022.

PONTES, T. C. *et al.* Avaliação da enzima de fitase em formas granuladas e líquidas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Archivos de Zootecnia**, v. 68, n. 261, p. 158-163, 2019.

RIBEIRO, P. A. P. *et al.* **Manejo nutricional e alimentar de peixes de água doce**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2012. 92 p.

ROCHA, C. B. *et al.* Fitase na dieta de alevinos de carpa húngara: desempenho e características de carcaça. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 6, p. 1462-1468, 2010.

ROCHA, C. B.; *et al.* Suplementação de fitase microbiana na dieta de alevinos de jundiá: efeito sobre o desempenho produtivo e as características de carcaça. **Ciência Rural**, v. 37, n. 6, p. 1772-1778, 2007.

ROCHA, C. M. C. da. *et al.* Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 8, p. 4-6, 2013.

ROTTA, M. A. **Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003. 49 p.

SADO, R. Y.; BICUDO, A. A. J. A. Prevenção de doenças em peixes tem nutrição como fator determinante. **Visão Agrícola**, n. 11, p. 80- 82, 2012.

SANGRILA, S.; MAITI, T. K. Cellulase production by bacteria: a review. **Microbiology Research Journal International**, v. 3, n. 3, p. 235-258, 2013.

SANTOS, F. W. B. Nutrição de peixes de água doce: definições, perspectivas e avanços científicos. In: **I Simpósio de nutrição e alimentação animal**. Fortaleza-CE. p.36, 2017.

SIGNOR, A. A. *et al.* Desempenho de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com rações contendo complexo enzimático. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 5, p. 977-983, 2010.

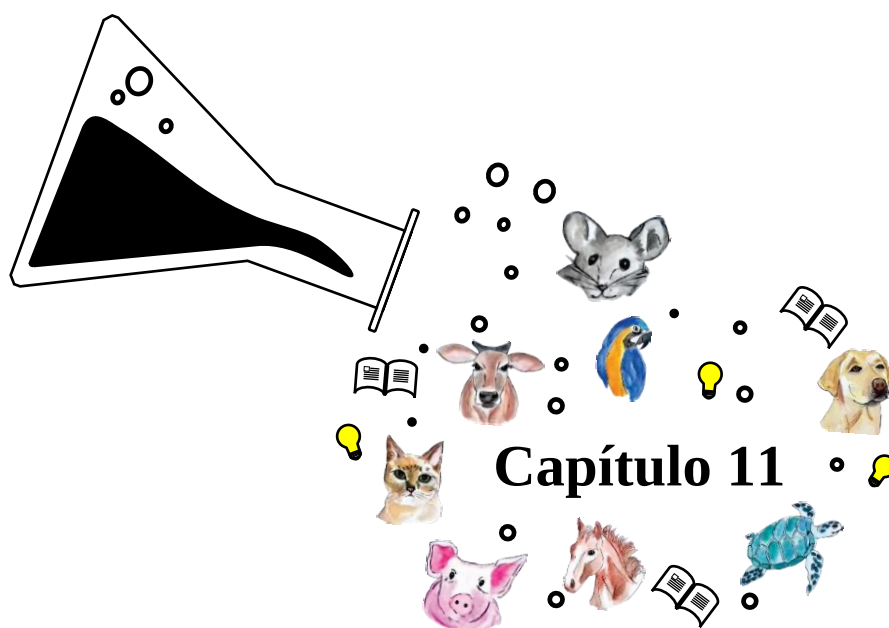
SINDIRAÇÕES (SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL). **Boletim Informativo do Setor**. Junho, 2020. Disponível em: <<https://bityli.com/YpxIMb>>. Acesso em: 08 jul 2020.

STECH, M. R.; CARNEIRO, D. J.; PIZAULO JÚNIOR, J. M. P. Fatores que afetam a produção de enzimas digestivas em peixes e o uso de enzimas exógenas como ferramentas em nutrição de peixes. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 13, n. 2, p. 79-93, 2009.

TACHIBANA, L. *et al.* Xylanase and beta-glucanase on nutrient aparent digestibility of triticale by Nile tilapia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 2, p. 445-452, 2010.

TURRA, E. M. *et al.* Controle reprodutivo em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por meio de manipulações sexuais e cromossômicas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 34, n. 1, p. 21-28, 2010.

ZHOU, Y. *et al.* Enhancement of growth and intestinal flora in grass carp: the effect of exogenous cellulase. **Aquaculture**, v. 416, p. 1-7, 2013.



Extrato pirolenhoso e outros aditivos em alimentação animal

Ellen Abreu Fonte Boa¹
Mayara Correa Dias de Souza Bernabe²
Lucas Henrique Cortat³
Jessica da Paschoa Penzuti Scardini⁴
Raphael Pires Bolzan⁵
Saulo Abreu Almeida da Silva⁶
Pedro Pierro Mendonça⁷
José Geraldo de Vargas Júnior⁸

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

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

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

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: jessica.scardini@edu.ufes.br

⁵ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: rpbolzan@ifes.edu.br

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: sauloabreu1995@gmail.com

⁷ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: ppmendonca@ifes.edu.br

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

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é produtor e exportador de alimentos, incluindo produtos avícolas. Durante décadas o Brasil inseriu nas composições das dietas de aves, os aditivos antibióticos, com função promotora de crescimento, que por meio de exclusão competitiva mantém o equilíbrio da microbiota intestinal, aumentando a eficiência produtiva com consequente diminuição dos índices de mortalidade (ALVES, 2017; CASTANON, 2007).

De maneira geral, define-se por aditivos, substância, microrganismos ou produto formulado, adicionados intencionalmente às rações em pequenas quantidades, seguindo determinadas normas de uso, que possui função profilática e pró-nutricional, que não venha trazer prejuízos ao animal, e nem mesmo ao ser humano, sem deixar resíduos em seus produtos finais, seja carne, ovos ou leite, que seguirão para consumo (BRASIL, 2004).

Os aditivos podem ser divididos em três grupos, sendo estes classificados de acordo com o seu modo de ação ou característica funcional (ALVES, 2017; BRASIL, 2004). São eles:

- 1- Profiláticos: Têm a finalidade de prevenir possíveis enfermidades causadas por agentes patogênicos, e perdas de vitaminas por oxidação.
- 2- Coadjuvantes: Atuam sobre as características físicas dos ingredientes das rações, podendo alterar a cor, consistência, odor, conservação, entre outros.
- 3- Pró-nutriente: Favorecem a atuação de nutrientes dietéticos pelos animais, aumentando a eficiência produtiva.

É inquestionável a favorável relação custo: benefício com a inclusão de antibióticos nas rações. Porém, o mercado consumidor de produtos de origem animal tem intensificado as exigências para produtos sem o uso de antibióticos. Em razão disso, a indústria produtora busca de forma constante, alternativas por produtos similares, sem que os desempenhos das aves sejam afetados de forma significativas. Com isso, produtos alternativos têm surgido de forma constante e entre estes tem-se os probióticos, prebióticos, simbióticos, óleos essenciais e mais recentemente o extrato pirolenhoso ou vinagre de madeira. Assim, objetiva-se com o presente, fazer abordagem geral sobre o extrato pirolenhoso, antibióticos, probióticos, prebióticos e óleos essenciais.

2 EXTRATO PIROLENHOSO

O extrato pirolenhoso (EPL) é uma substância líquida, aquosa, de caráter ácido (WEI; MA; DONG, 2010) e tonalidade castanho avermelhada (MATHEW; ZAKARIA, 2015). É derivado da pirólise de materiais lenhosos (WEI; MA; DONG, 2010), sendo a carbonização da madeira sua principal fonte. Também é conhecido como ácido pirolenhoso, líquido pirolenhoso, vinagre de madeira, licor pirolenhoso, fumaça líquida ou bioóleo (CAMPOS, 2007).

Durante a queima de material lenhoso, vapores orgânicos condensáveis são resfriados e condensam, formando o EPL, cuja fração é rica em água e compostos oxigenados enquanto que os vapores não condensáveis deixam o sistema na forma gasosa (MATHEW; ZAKARIA, 2015). Sua produção é obtida a partir da indústria em que utiliza a madeira como combustíveis para os processos térmicos. No entanto, além da madeira, outros produtos podem ser utilizados, para a sua produção, como bambu, espigas de milho, pinhas, caroços e cascas de frutos, como coco e noz (WEI; MA; DONG, 2010).

O material utilizado na produção do extrato pirolenhoso influencia diretamente na sua qualidade e composição. Desta forma, deve-se evitar o uso de madeiras tratadas com pesticidas ou provenientes de plantas tóxicas, o que poderia inviabilizar o extrato pirolenhoso devido sua composição provavelmente tóxica. No Brasil, a maior parte da madeira destinada a produção do extrato pirolenhoso é originada de plantações de eucalipto, pinus e bambu (CAMPOS, 2007). A obtenção do produto com garantia de qualidade deve seguir orientações quanto aos níveis de alcatrão e outros compostos tóxicos que poderão inviabilizar o produto. O alcatrão é poluente e contém componentes cancerígenos (ROCHA *et al.*, 2022).

A maioria dos trabalhos atuais relacionados a produção e aplicação do extrato pirolenhoso ocorrem em países como Japão, Coreia do Sul, e China. Os relatos de fabricação e utilização do extrato pirolenhoso são muito antigos. Pesquisadores de diversas áreas principalmente na indústria agrícola e alimentícia tem sido atraído por este produto que possui inúmeras trabalhos comprovando a eficiência do seu uso em diversas culturas, como controle de praga (CAMPOS, 2007). No Brasil a sua utilização para fins diversos é recente (PETTER *et al.*, 2013).

É um produto que tem sido aplicado para fins diversos, tanto na agricultura como na pecuária, principalmente as relacionadas a produção animal (THEAPPARAT *et al.*, 2014). Atualmente, pesquisas em diversas áreas do conhecimento buscam avaliar seu potencial como aditivo bactericida/fungicida contra patógenos vegetais; pesticida/praguicida em plantações e

promotor de crescimento (CHU *et al.*, 2013) e antimicrobiano (WANG *et al.*, 2012) para aves e suínos.

Diante da possibilidade de tantos efeitos benéficos relacionados ao seu uso, o extrato pirolenhoso vem despertando a curiosidade de pesquisadores e técnicos de várias áreas, principalmente daquelas relacionadas a produção de alimentos de origem vegetal e animal, podendo, num futuro próximo, tornar-se uma alternativa aos aditivos convencionais utilizados na pecuária.

Theapparat *et al.* (2014) verificaram a composição de oito extratos pirolenhosos oriundos da madeira de cinco espécies de plantas distintas e encontraram que o ácido acético é a molécula em maior concentração, seguida por compostos fenólicos, ácidos orgânicos, álcoois, derivados de furfural e furano e derivados de fenol e metoxifenol (Tabela 1). Assim, extratos pirolenhosos de origens distintas podem conter diferentes concentrações e tipos de substâncias orgânicas, inclusive de componentes que apresentem alguma atividade biológica (WEI; MA; DONG, 2010).

Tabela 1 – Componente fenólicos e não fenólicos e fenólicos identificados no extrato pirolenhoso (EPL) de diferentes fontes de biomassa vegetal.

Classe química	Componente
Ácidos orgânicos	Ácido acético
Alcoóis	Metanol n-propanol
Derivados do furfural e furano	2-furfuraldeído metil-2-furoato 2-metilfurano
Derivados do fenol	fenol 2-metilfenol 3-metilfenol 4-metilfenol 2-etilfenol 2,6-dimetilfenol 2,5-dimetilfenol 2,4-dimetilfenol 2,3-dimetilfenol
Derivados do metoxifenol	4-propil-2-metoxifenol 4-metil-2-metoxifenol 4-etil-2-metoxifenolguaiacol Eugenol Siringol Acetovanilona

Fonte: Adaptado de Theapparat *et al.* (2014)

Na produção do EPL, pode-se encontrar três estados físicos: sólida – produto resultante é o carvão vegetal; gasosa – gases não condensáveis e líquida - fração pirolenhosa (CAMPOS, 2007), sendo que, as proporções obtidas em cada etapa pode variar de acordo com a tecnificação/equipamento utilizado para obtenção do produto, temperatura e tipo de madeira utilizada na queima, sendo a madeira não tratada, a mais indicada para este processo.

Em termos numéricos, em 100% da madeira queimada (eucalipto), obtém-se em termos de matéria seca, 49,90% de carvão vegetal, 17,10% gases condensáveis e 33% perdas e gases não condensáveis (VIEIRA *et al.*, 2014).

Para obtenção do EPL, a fumaça ocasionada pela queima é resfriada, ao condensar passa para o estado líquido, apresentando tonalidades de cores que vão do marrom, marrom-amarelo claro, castanho e castanho-avermelhado. Além da cor, o odor é bem característico, sendo o odor de defumado bem proeminente. Por ser uma solução ácida, o EPL apresenta pH em torno de 2,3-3,0, e densidade de 1,010 a 1,020 na temperatura de 15°C, o que também são características de garantia de qualidade do produto (CAMPOS, 2007).

Após a extração, o líquido deve ser mantido em repouso por período superior a 100 dias até que todas as reações de polimerização cessem e seus componentes estejam estabilizados. Este processo é fundamental, pois determina a decantação e posterior eliminação de impurezas e do alcatrão do EPL. Na decantação, o líquido apresenta três camadas distintas (CAMPOS, 2007; MATHEW; ZAKARIA, 2015; MIYASAKA, 2001;) e com diferentes compostos orgânicos (Tabela 2) (BENITES *et al.*, 2010):

1ª – 10%: Predominância de água (80-90%) e óleos vegetais;

2ª – 60 a 75%: Fração ou líquido pirolenhoso;

3ª – 20 a 30%: Alcatrão (fração tóxica).

Tabela 2 - Compostos orgânicos encontrados no EPL e suas respectivas concentrações

Compostos orgânicos	Concentrações (%)
Ácido fórmico	8
Ácido acético	50
Acetona	~4
Ácido propiônico	~4
Cicloteno	0,7
Fenol	1
Guaiacol	1,70
Siringol	~2

Fonte: Adaptado de Benites *et al.* (2010)

É importante salientar, que o tipo de madeira influencia na qualidade do EPL, sendo o indicado para fabricação e as mais utilizadas nas carvoarias brasileiras, o eucalipto, pinus e bambu. Madeiras de mata nativa não são indicadas, uma vez que há espécies consideradas tóxicas, tornando o EPL venenoso e impróprio para uso. Além do tipo de madeira, a temperatura empregada no processo de fabricação também deve ser controlada; temperaturas elevadas podem induzir a produção de compostos bioativos presentes no produto, como os benzopirenos, compostos cancerígenos, encontrado principalmente no alcatrão, interferindo na qualidade do mesmo (MIYASAKA, 2001).

Na nutrição animal, o EPL pode ser utilizado como potencial substituto aos antibióticos, modificando de maneira benéfica a microflora intestinal refletindo no desempenho e eficiência animal. Outra potencial utilização é sobre as excretas, na solução de 1/50, com a finalidade de reduzir mau cheiro e potenciais vetores (MIYASAKA, 2001).

Nunes (2019) ao avaliar o uso de EPL na alimentação de codornas japonesas em postura, constatou que a nível de 0,833% o EPL teve efeito positivo sobre os parâmetros de desempenho e qualidade de ovos. Estudo realizado por Diógenes (2017), avaliou o extrato pirolenhoso na ração de codornas europeias criadas em dois tipos de cama (nova e usada). Aves alojadas nas camas usadas, apresentaram melhoria no ganho de peso, na conversão alimentar e na eficiência produtiva quando comparadas as aves criadas na cama nova. De acordo com a autora a inclusão de até 2,5% de extrato pirolenhoso na ração de codornas europeias de 1 a 42 dias de idade independentemente do tipo de cama foi benéfico para os animais.

Choi *et al.* (2009) avaliaram o valor nutricional de diferentes níveis (0 a 0,3%) do extrato pirolenhoso em rações de leitões desmamados e observaram aumento linear da digestibilidade da matéria seca, energia bruta e da proteína bruta. Além disso observou-se melhoria do desempenho de leitões. Chu *et al.* (2013) observaram melhorias na eficiência alimentar, no ganho de peso, na reposta imune e nas populações da microfauna fecal.

Testando outras funcionalidades do EPL, dentre elas o efeito antisséptico, Zhu (2013) em experimento com frangos de corte, frente à desintoxicação da aflatoxina B1, encontrou diferença estatística sobre àqueles que consumiram rações com aflatoxina, comprovando que níveis de inclusão do extrato melhoraram o ganho de peso e conversão alimentar.

2.1 ÁCIDO ACÉTICO

Oficialmente conhecido como ácido etanoico, o ácido acético ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$), que pertencente ao grupo químico dos ácidos orgânicos ($-\text{COOH}$) (MENTEN *et al.*, 2014), é o componente de maior concentração no extrato pirolenhoso (EPL) (THEAPPARAT *et al.*, 2014). Entre diversas propriedades atribuídas aos ácidos orgânicos, incluído o ácido acético, uma se destaca, sua atividade antimicrobiana, que está relacionada diretamente com sua capacidade de reduzir o pH do meio. Desta forma, ácidos orgânicos têm sido frequentemente utilizados na conservação de alimentos e na alimentação animal como forma de controle microbiológico (MENTEN *et al.*, 2014).

Considerados na nutrição animal como possíveis alternativas a utilização de antibióticos promotores de crescimento (APC), espera-se que os ácidos orgânicos sejam similarmente eficientes, mas que não estimulem o surgimento da resistência bacteriana (MENTEN *et al.*, 2014). De forma geral, estes aditivos atuam reduzindo pH do trato digestório, o que pode estimular a atividade de enzimas proteolíticas e, conseqüentemente, melhorar a digestão e absorção de alguns nutrientes. Também são capazes de reduzir a carga de bactérias enteropatogênicas vulneráveis a menores valores de pH, como *Salmonella* spp., *Clostridium* spp. e *Escherichia coli*, melhorando assim o equilíbrio da microbiota intestinal benéfica ao hospedeiro (BERTECHINI, 2012).

Não de hoje, estudos buscam avaliar os efeitos dos ácidos orgânicos sobre a nutrição animal, conservação de alimentos, acidificação do trato digestório e controle de microrganismos (MENTEN *et al.*, 2014). Ostling e Lindgren (1993) estudaram a capacidade de inibição no crescimento de enterobactérias por ácidos orgânicos e verificaram que os ácidos láctico, acético e fórmico, quando utilizados em concentrações mínimas inibitórias entre 2-11 mMol, 0,5-14 mMol, 0,1-1,5 mMol, respectivamente, foram capazes de inibir o crescimento desses microrganismos em condições aeróbias e anaeróbias. Entretanto, quando adicionado em rações de frangos de corte contaminadas com *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium*, o ácido acético não apresentou efeito positivo na eliminação bacteriana, mas influenciou positivamente no consumo de ração e ganho de peso dos animais (REZENDE *et al.*, 2008).

A existência de ambiente ácido no ingluvírio é primordial para diminuir a colonização por patógenos. Esses patógenos só conseguem atingir o trato digestivo após passarem pelo

inglúvio. Diante disso, é de suma importância a existência de ambiente ácido em parte anterior ao estômago (HINTON *et al.*, 2000).

Rezende *et al.* (2008) conduziram estudo com cinco diferentes concentrações de ácido acético (0; 0,5%; 1,0%; 1,5%; e 2,0%) em rações contaminadas experimentalmente com *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium*. Obtiveram resultados positivos para o índice de ganho de peso e melhoria na conversão alimentar para níveis de até 2,0%, sem que houvesse eliminação das salmonelas estudadas.

Bastos-Leite *et al.* (2016), realizaram estudo sobre o efeito de ácidos orgânicos e de sua associação com óleos essenciais com o objetivo de avaliar o desempenho (peso inicial e final, ganho de peso, consumo acumulado, conversão alimentar) e biometria dos órgãos (peso dos órgãos digestivos e reprodutivos) em frangas. Bonato *et al.* (2008) demonstraram em seu estudo, que a associação de ácidos orgânicos e extratos vegetais alcançaram efeitos positivos, sobre os parâmetros de desempenho e qualidade de ovos de poedeiras comerciais, porém no isolamento desses compostos, esses parâmetros não sofreram alterações.

2.2 FURFURAL

O furfural ($C_5H_4O_2$) ou 2-furaldeído caracteriza-se por ser um líquido (solúvel em água) de coloração âmbar e odor forte (PUBCHEM, 2017). Deriva geralmente de pentoses (açúcares de cinco carbonos), principalmente xilose e arabinose, contidas na hemicelulose de materiais lignocelulósicos (CHHEDA; ROMÁN-LESHKOV; DUMESIC, 2007). A indústria utiliza os furanos e seus derivados, como o furfural, na produção de conservantes, fungicidas, herbicidas, desinfetantes e agentes terapêuticos (HOYDONCKX *et al.*, 2007).

2.3 FENÓIS E CRESÓIS

Os derivados fenólicos correspondem a segunda maior concentração entre os compostos orgânicos que compõem o extrato pirolenhoso. Representados genericamente pelo fenol, o grupo apresenta grande variedade de substâncias, sendo, no extrato pirolenhoso, a classe de compostos orgânicos com o maior número de substâncias diferentes (THEAPPARAT *et al.*, 2014). O termo fenol pode ser empregado como nome de uma substância específica (hidroxibenzeno) ou como nome para uma família de compostos aromáticos hidróxi-substituídos (MCMURRY, 2005). Derivados do alcatrão de hulha (GIUFFRIDA, 2008),

quimicamente, os fenóis apresentam em sua estrutura um ou mais grupos hidroxila (OH) ligados a um anel aromático (Benzênico) (BARBOSA, 2011). Inicialmente, esses compostos foram utilizados como antissépticos em cirurgias. No entanto, após a comprovação de sua toxicidade sobre tecidos corporais, os fenóis passaram a ser empregados principalmente na desinfecção do ambiente, de equipamentos e utensílios (GIUFFRIDA, 2008). De forma geral, os compostos fenólicos atuam sobre o protoplasma bacteriano, causando desnaturação e precipitação de proteínas (PAULINO; RIZZO, 2011). Também podem agir inativando sistemas enzimáticos bacterianos essenciais às células após se ligarem a substâncias importantes da parede celular (GIUFFRIDA, 2008). Os fenóis tem amplo espectro de ação, exercendo atividade bactericida, principalmente contra bactérias Gram-positivas; fungicida; e viricida, com ação limitada somente aos vírus envelopados (PAULINO; RIZZO, 2011).

Os cresóis são substâncias derivadas do fenol (GIUFFRIDA, 2008), e possuem estrutura química primária semelhante ao composto originário (BARBOSA, 2011). Existem três formas de cresol estruturalmente muito semelhantes: ortocresol, metacresol, paracresol (GIUFFRIDA, 2008). Assim como os fenóis, os cresóis penetram na parede celular bacteriana e no citoplasma causam desnaturação e precipitação de proteínas essenciais ao metabolismo do microrganismo (PAULINO; RIZZO, 2011). Os cresóis apresentam ação bactericida, viricida limitada (vírus envelopado) e não esporicida. Quando comparados aos fenóis, esses compostos apresentam maior ação bactericida com menos efeitos adversos (causticidade, toxicidade), o que os tornam desinfetantes mais eficazes (PAULINO; RIZZO, 2011).

2.4 GUAIACOL

Oficialmente conhecido como 2-metoxifenol (IUPAC), o guaiacol ($C_7H_8O_2$) é um composto fenólico estruturalmente formado por um grupo metoxi. O guaiacol pode ser isolado naturalmente a partir da resina do Guaiaco (*Guaiacum officinale*) ou sintetizado através da oxidação da lignina. O guaiacol também está presente na fumaça gerada a partir da queima da madeira, sendo produto da pirólise da lignina. Caracteriza-se como uma substância líquida oleosa, aromática e amarelada. O guaiacol é utilizado medicinalmente como expectorante, antisséptico e anestésico local (PUBCHEM, 2017).

3 ANTIBIÓTICOS

Agentes antimicrobianos têm sido empregados na produção animal há mais de 50 anos, com ação terapêutica, melhorando a saúde dos animais ou como melhorador de desempenho, melhorando a produtividade animal (STELLA *et al.*, 2020)

Seu uso tem sido bastante discutido, pois existe muitos pontos positivos e negativos para sua adoção. De acordo com Mota *et al.* (2005), a utilização indiscriminada e contínua, os antimicrobianos utilizados na terapêutica veterinária podem por pressão seletiva gerar bactérias resistentes na terapêutica humana e por isso há forte campanha para proibir o uso dos antibióticos na alimentação animal. Porém, todas essas alegações precisam ser comprovadas cientificamente (AZEVEDO, 2022).

3.1 ENRAMICINA

Primariamente isolada a partir de caldos fermentados do actinomiceto *Streptomyces fungicidicus*, a enramicina é um polipeptídio formado de dois componentes principais, a Enramicina A (C₁₀₇ H₁₃₈ N₂₆ O₃₁ C₁₂) e a Enramicina B (C₁₀₆ H₁₄₀ N₂₆ O₃₁ C₁₂) (EL-HUSSEINY; ABDALLAH; ABDEL-LATIF, 2008). Utilizada como antibiótico promotor de crescimento para aves e suínos (PALERMO-NETO; ALMEIDA, 2011), atua inibindo a síntese da parede celular de bactérias gram-positivas causadoras de afecções no trato digestório, como, por exemplo, algumas bactérias dos gêneros *Clostridium* e *Streptococcus* ((EL-HUSSEINY; ABDALLAH; ABDEL-LATIF, 2008). A enramicina é altamente estável em pH variando de 3,5 a 7,5 tanto na forma seca como em solução aquosa (INOUE *et al.*, 2010), o que possibilita sua inclusão na alimentação ou na água de bebida dos animais.

Para frangos de corte utiliza-se a enramicina via alimentação (incluída na ração) nas dosagens que variam de 5 a 10 gramas por tonelada (g/ton) nas fases pré-inicial e crescimento e 3 a 5g/ton na fase final (PALERMO-NETO; ALMEIDA, 2011). Estudos avaliaram o efeito de inclusão da enramicina na alimentação de frangos de corte desafiados por infecções com *Clostridium perfringens* e verificaram melhores resultados de desempenho (ABUDABOS; ALYEMNI, 2013; ABUDABOS; YEHA, 2013a) e redução da prevalência do agente patogênico (ABUDABOS; YEHA, 2013b) nos tratamentos contendo o antibiótico. Segundo Wang *et al.* (2012), a suplementação com enramicina via dieta para frangos de corte influenciou

positivamente o desempenho animal, digestibilidade dos nutrientes, controle da microbiota intestinal e morfologia intestinal.

3.2 ENROFLOXACINA

A enrofloxacin é um quimioterápico de ação antibacteriana pertencente ao grupo das fluoroquinolonas, também denominadas quinolonas de segunda geração. Originada na década de 1980, é utilizada exclusivamente no tratamento de afecções de origem bacteriana em animais (GÓRNIAK, 2011). Antimicrobiano de ação bactericida, age inibindo a enzima DNA girase bacteriana, que controla a direção e o espiralamento das cadeias de DNA (ANDRADE; GIUFFRIDA, 2008). Possui boa ação frente a bactérias aeróbias Gram-negativas, como *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp. e *Enterobacter* spp. (PAES, 2012), tendo entre seus principais usos na medicina veterinária o combate a gastroenterites graves de origem bacteriana (GÓRNIAK, 2011).

No uso terapêutico contra salmoneloses, estafilococose, celulite e outras infecções causadas por patógenos Gram-negativos suscetíveis em aves, indica-se a dose de 20 a 40 miligramas por quilo (mg/Kg) via água de bebida ou ração (ITO *et al.*, 2005).

Em estudos da Secretaria da Saúde do Estado do Paraná sobre a comercialização de medicamentos veterinários para frangos de corte revelou que a enrofloxacin esteve entre os quimioterápicos antimicrobianos mais utilizados terapêutica e preventivamente, sendo, nesse último caso, empregado inadequadamente como um promotor de crescimento. Além do risco de desenvolvimento da resistência bacteriana associado ao uso indiscriminado do antibiótico, nada ainda se sabe sobre seu efeito no desempenho de frangos de corte. Desta forma, a enrofloxacin não se encaixa entre os antimicrobianos promotores de crescimento utilizados como aditivos na produção avícola (GÓRNIAK, 2011).

3.3 HALQUINOL

O halquinol (cloridroxiquinolina) resulta da cloração controlada da 8-hidroxiquinolina, consistindo na mistura de 5-monocloro-8-hidroxiquinolina (34, 27%), 5,7-dicloro-8-hidroxiquinolina (64,22%) e 7-monocloro-8-hidroxiquinolina (2,24%) (KAUL; LEWIS, 1965). Considerado um agente antimicrobiano não antibiótico, o Halquinol exerce atividade contra grande variedade de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, fungos e alguns protozoários

causadores de enfermidades em aves e suínos. O halquinol funciona como droga de ação quelante, capaz de combinar-se ao grupo metálico de enzimas presentes na membrana citoplasmática, causando a destruição de bactérias e fungos pela supressão do processo de respiração celular nesses microrganismos. Pesquisas avaliando a utilização do halquinol separadamente ou em conjunto a outros aditivos promotores de crescimento em frangos de corte demonstraram melhores resultados sobre variáveis relacionadas ao desempenho ($p < 0,05$) nos tratamentos contendo algum nível de halquinol (FOMENTINI *et al.*, 2016; NUNES *et al.*, 2012).

4 PROBIÓTICOS

Como alternativa para o uso de antibióticos tem-se os probióticos. Sua forma de ação ocorre após sua colonização e multiplicação no trato gastrointestinal por exclusão competitiva; redução de pH do meio, devido a produção de ácidos com o seu metabolismo; e produção de metabólitos que atuam inibindo bactérias enteropatogênicas ou mesmo a produção de peróxido de hidrogênio que inibe vários microrganismos (BERTECHINI, 2012).

Probiótico como suplemento alimentar que afeta de forma benéfica o animal hospedeiro, melhorando o equilíbrio microbiano intestinal. A presença desses probióticos, produzem enzimas que auxiliam na digestão pelo hospedeiro, além de fornecer barreira contra patógenos invasores. A alimentação de bactérias se torna uma alternativa à utilização de antibióticos uma vez que a competição em que os microrganismos benéficos são favorecidos é importante, pois o desequilíbrio em favor de bactérias indesejáveis pode resultar em infecção intestinal, o que comprometeria a digestibilidade da ração (ARAÚJO *et al.*, 2007).

Para melhorar a eficiência, sugerem a utilização dos probióticos nos primeiros dias de vida, para que ocorra a exclusão competitiva, beneficiando assim um bom equilíbrio entre os microrganismos benéficos (LORENÇON *et al.*, 2007).

5 PREBIÓTICOS

Prebióticos são produtos utilizados na alimentação animal que não são digeridos por enzimas normais no trato digestório e que atuam estimulando seletivamente o crescimento e/ou atividade de bactérias benéficas no intestino que têm, por ação final, melhorar a saúde do hospedeiro (AZEVEDO, 2022).

De acordo com Bertechini (2012), os prebióticos não são digeridos no trato gastrointestinal por falta de enzimas endógenas específicas, sendo seu modo de ação direcionada para determinadas cepas de microrganismo que utilizam estas substâncias como substratos.

Geralmente são extraídos de leveduras e células de plantas. Resultando assim, o favorecimento dos microrganismos benéfico ao animal gerando o equilíbrio da microbiota intestinal. O uso dos prebióticos como alternativa para eliminar a resistência bacteriana nos produtos avícolas tem sido crescente. Cada vez mais esses produtos são utilizados para melhorar a imagem dos produtos diante ao mercado consumidor (ALBINO *et al.*, 2006).

6 ÓLEOS FUNCIONAIS

Os óleos funcionais são considerados alternativas a compostos sintéticos (PEARCE; JIN, 2010). De acordo com a espécie, apresentam diferentes funções como vermífugo, antitérmico, anti inflamatório, inseticida, anti-séptica, atividade antioxidante e antibacteriana. Com isso, promove melhoria na digestibilidade, absorção de nutrientes e na resposta imune. Além de aumentar a palatabilidade da ração e melhora da fauna intestinal (ALMEIDA, 2012).

A atividade desses óleos está relacionado a presença de compostos fenólicos, terpenóides, ésteres, cetonas, álcoois, e flavonóides que impendem a propagação do processo oxidativo (TRAESSEL *et al.*, 2011) podendo assim melhorar desempenho de frango de corte.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Existem muitos aditivos no mercado, cada um atendendo necessidades específicas e que devem ser analisados a eficiência do produto, a relação custo benefício e o mercado consumidor.

Com a busca de produtos isentos de antibiótico melhorador de desempenho na produção animal, o mercado tem utilizado produtos alternativos de forma cada vez maior, com resultados bastantes promissores. Dentre estes produtos o extrato pirolenhoso tem surgido com grandes perspectivas de utilização, devido aos resultados apresentados.

8 REFERÊNCIAS

- ABUDABOS, A. M.; ALYEMNI, A. H. The effect of feeding a commercial essential oil product to broilers challenged with *Clostridium Perfringens*. **African Journal of Microbiology Research**, v. 7, n. 36, p. 4539-4545, 2013.
- ABUDABOS, A. M.; YEHIA, H. M. Effect of dietary mannan oligosaccharide from *Saccharomyces cerevisiae* on live performance of broilers under *Clostridium perfringens* challenge. **Italian Journal of Animal Science**, v. 12, n. 2, p. 231-235, 2013a.
- ABUDABOS, A. M.; YEHIA, H. M. Performance, intestinal morphology and microbiology of broilers fed corn-soybean meal diets supplemented with enzyme and antibiotic. **International Journal of Food, Agriculture and Environment**, v. 11, n. 3-4, p. 642-646, 2013b.
- ALBINO, L. F. T. *et al.* Uso de prebióticos à base de mananoligossacarídeo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 742-749, 2006.
- ALMEIDA, E. **Aditivos digestivos e equilibradores da microbiota intestinal para frangos de corte**. 2012. 48 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2012.
- ALVES, M. G. M. Aditivos melhoradores de desempenho na alimentação de poedeiras comerciais. **NutriTime - Revista Eletrônica**, v. 13, n. 4, p. 1-8, 2017.
- ANDRADE, S. F.; GIUFFRIDA, R. Quimioterápicos antimicrobianos e antibióticos. In: ANDRADE, S. F. **Manual de terapêutica veterinária**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2008, p. 26-69.
- ARAÚJO, J. A. *et al.* Uso de aditivos na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasília**, v. 1, n. 3, p. 69-77, 2007.
- AZEVEDO, C. P. F. **Avaliação de aditivos alternativos, em substituição aos antibióticos, na alimentação de leitões recém-desmamados**. 2022. 98 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2022.
- BARBOSA, L. C. A. **Introdução à química orgânica**. 2. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2011. 362p.
- BASTOS-LEITE, S. C. *et al.* Ácidos orgânicos e óleos essenciais sobre o desempenho, biometria de órgãos digestivos e reprodutivos de frangas de reposição. **Acta Veterinária Brasília**, v. 10, n. 3, p. 201-207, 2016.
- BENITES, V. D. M. *et al.* Utilização de carvão e subprodutos da carbonização vegetal na agricultura: aprendendo com as terras pretas de índio. In: TEIXEIRA, W. G. *et al.* (Ed.). **As terras pretas de índio da Amazônia: sua caracterização e uso deste conhecimento na criação de novas áreas**. Manaus: EDUA/Embrapa Amazônia Ocidental, 2010. p. 286-297. .

- BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: Editora UFLA, 2012. 373p.
- BONATO, M. A. *et al.* Efeito de acidificantes e extratos vegetais sobre o desempenho e qualidade de ovos de poedeiras comerciais. **Ars Veterinaria**, v. 24, n. 3, p. 186-192, 2009.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 13, de 30 de novembro de 2004. Regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 01 dez. 2004.
- CAMPOS, Â. D. **Técnicas para produção de extrato pirolenhoso para uso agrícola**. Pelotas: EMBRAPA – Embrapa Clima Temperado. Circular Técnica 65, 2007, 8 p.
- CASTANON, J. I. R. History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. **Poultry Science**, v. 86, p.2 466-2471, 2007.
- CHHEDA, J. N.; ROMÁN-LESHKOV, Y.; DUMESIC, J. A. Production of 5-hydroxymethylfurfural and furfural by dehydration of biomass-derived mono-and poly-saccharides. **Green Chemistry**, v. 9, n. 4, p. 342-350, 2007.
- CHOI, J. Y. *et al.* Effect of wood vinegar on the performance, nutrient digestibility and intestinal microflora in weanling pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 22, n. 2, p. 267-274, 2009.
- CHU, G. M. *et al.* Effects of bamboo charcoal and bamboo vinegar as antibiotic alternatives on growth performance, immune responses and fecal microflora population in fattening pigs. **Animal Science Journal**, v. 84, n. 2, p. 113-120, 2013.
- DIÓGENES, G. V. **Extrato pirolenhoso como aditivo na ração de codornas europeias criadas em dois tipos de cama**. 2017. 34 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Programa de Pós-Graduação em Produção Animal, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Macaíba, 2017.
- EL-HUSSEINY, O. M.; ABDALLAH, A. G.; ABDEL-LATIF, K. O. The influence of biological feed additives on broiler performance. **International Journal of Poultry Science**, v. 7, n. 9, p. 862-871, 2008.
- FOMENTINI, M. *et al.* Prebiotic and antimicrobials on performance, carcass characteristics, and antibody production in broilers. **Ciência Rural**, v. 46, n. 6, p. 1070-1075, 2016.
- GIUFFRIDA, R. Antissépticos e desinfetantes. In: ANDRADE, S. F. **Manual de terapêutica veterinária**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2008, p. 416-441.
- GÓRNIK, S. L. Sulfas, quinolonas e outros quimioterápicos In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 432-441.
- HINTON, A. Jr. *et al.* Reduction of *Salmonella* in the crop of broiler chickens subjected to feed withdrawal. **Poultry Science**, v. 79, p. 1566-1570, 2000.

HOYDONCKX, H.E. *et al.* Furfural and derivatives. **Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry**, 2007.

INOUE, K. *et al.* An approach to on-line electrospray mass spectrometric detection of polypeptide antibiotics of enramycin for high-speed counter-current chromatographic separation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 51, n. 5, p. 1154-1160, 2010.

ITO, N. M. K *et al.* Antimicrobianos: usos preventivos e curativos na avicultura. In: PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L. **Farmacologia aplicada à avicultura: boas práticas no manejo de medicamentos**. São Paulo: Roca, 2005. p. 115-148.

KAUL, C. L.; LEWIS, J. J. Observations of pharmacology of halquinol. **Journal Pharmacy and Pharmacology**, v. 17, p. 434-439, 1965.

LORENÇON, L. *et al.* Utilização de promotores de crescimento para frangos de corte em rações fareladas e peletizadas. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 29, n. 2, p. 151-158, 2007.

MATHEW, S.; ZAKARIA, Z. A. Pyrolygneous acid—the smoky acidic liquid from plant biomass. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 2, p. 611-622, 2015.

MCMURRY, J. **Química orgânica**. 6. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2005. 1280p.

MENTEN, J. F. M. *et al.* Antibióticos, ácidos orgânicos e óleos essenciais na nutrição de monogástricos. In: SAKOMURA, N. K. *et al.* **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2014. p. 511-535.

MIYASAKA, S. Técnicas de produção e uso de fino de carvão e licor pirolenhoso. In: ENCONTRO DE PROCESSOS DE PROTEÇÃO DE PLANTAS. CONTROLE ECOLÓGICO DE PRAGAS E DOENÇAS, 2001, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Agro Ecológica, p. 161-176, 2001.

MOTA, R. A. *et al.* Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.

NUNES, J. O. *et al.* Evaluation of the use of probiotic (*Bacillus subtilis* C-3102) as additive to improve performance in broiler chicken diets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 11, p. 2374-2378, 2012.

NUNES, T. S. **Extrato pirolenhoso para codornas japonesas em postura**. 2019. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2019.

OSTLING, C. E.; LINDGREN, S. E. Inhibition of enterobacteria and *Listeria* growth by lactic, acetic and formic acids. **The Journal of Applied Bacteriology**, v. 75, n. 1, p. 18-24, 1993.

PAES, A. C. Quinolonas. In: DI STASI, L.C.; BARRO, C.M. **Farmacologia veterinária**. Barueri: Manole, 2012, p. 406-415.

PALERMO-NETO, J.; ALMEIDA, R. T. Antimicrobianos como aditivos em animais de produção. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 608-628.

PAULINO, C. A.; RIZZO, M. S. Antissépticos e desinfetantes. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 418-431.

PEARCE, M.; JIN, G. L. Z. Aditivos fitogênicos. **Porkworld**, n. 58, p. 128-136, 2010.

PETTER, F.A. *et al.* Adaptation of the use of pyroligneous acid in control of caterpillars and agronomic performance of the soybean crop. **Journal of Agricultural Science**, v. 5, p. 27-36, 2013.

PUBCHEM (OPEN CHEMISTRY DATABASE). **2-Furaldehyde**. 2017. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7362>>. Acesso em: 06 jun 2017.

REZENDE, C. *et al.* Ácido acético em rações de frangos de corte experimentalmente contaminadas com *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium*. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 3, p. 516-528, 2008.

ROCHA, F. T. *et al.* Extrato pirolenhoso na germinação de sementes forrageiras. **Conjecturas**, v. 22, n. 2, p. 485-499, 2022.

STELLA, A. E. *et al.* Uso de antimicrobianos na suinocultura: indicações e restrições. **Veterinária e Zootecnia**, v. 27, p. 1-14, 2020.

THEAPPARAT, Y. *et al.* Physicochemical characteristics of wood vinegars from carbonization of *Leucaena leucocephala*, *Azadirachta indica*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Hevea brasiliensis* and *Dendrocalamus asper*. **Kasetsart Journal (Natural Science)**, v. 48, p. 916-928, 2014.

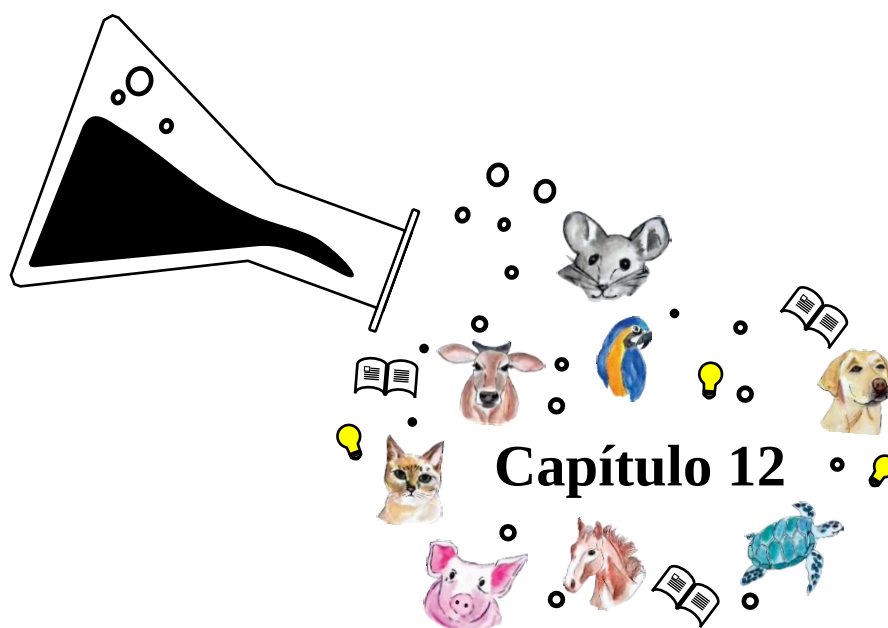
TRAESEL, C. K. *et al.* Óleos essenciais como substituintes de antibióticos promotores de crescimento em frangos de corte: perfil de soroproteínas e peroxidação lipídica. **Ciência Rural**, v. 41, n. 2, p. 278-284, 2011.

VIEIRA, R. P. *et al.* **Caracterização química do extrato pirolenhoso oriundo da carbonização**. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 2014. Florianópolis – SC, 2014. p. 1-8.

WANG, H. F. *et al.* Effect of bamboo vinegar as an antibiotic alternative on growth performance and fecal bacterial communities of weaned piglets. **Livestock Science**, v. 144, p. 173-180, 2012.

WEI, Q.; MA, X.; DONG, J. Preparation, chemical constituents and antimicrobial activity of pyroligneous acids from walnut tree branches. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 87, n. 1, p. 24-28, 2010.

ZHU, Y. Z. Detoxification effects of wood vinegar on aflatoxin B1 in broiler chicken. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 12, n. 14, p. 1256-1259, 2013.



Acará bandeira: características e manejos reprodutivos

Erivelto Oliveira de Souza¹
Shamara Silva Bulhões²
Raphael Pires Bolzan³
Priscilla Cortizo Costa Pierro⁴
José Geraldo Vargas Junior⁵
Paola de Oliveira Santos⁶
Saulo Abreu Almeida da Silva⁷
Pedro Pierro Mendonça⁸

¹ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: velto3032@gmail.com

² Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: shamarabulhoes@gmail.com

² Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: rpbolzan@ifes.edu.br

³ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: pricortizo@gmail.com

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: josegeraldovargas@yahoo.com.br

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

⁷ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: sauloabreu1995@gmail.com

⁸ Instituto Federal do Espírito Santo, e-mail: ppierrom@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

O comércio de peixes ornamentais no mundo é bastante movimentado e as vendas chegam a 400 milhões de peixes por ano. No parâmetro geral dos peixes colocados para a venda, 90% são derivados de criação em cativeiro e 10% de extrativismo. Em terras nacionais, o cultivo de peixes ornamentais para a comercialização é extraído em sua maior parte de ambientes naturais, por exemplo, a da bacia amazônica (CHAPMAN, 2000)

Dentre essas espécies comercializadas está o acará bandeira. Este peixe pertence à família dos ciclídeos, possuindo uma linha lateral interrompida, destacado pela sua beleza. Este animal é um dos peixes mais vendidos entre os peixes populares ornamentais (CHAPMAN *et al.*, 1997; LIMA, 2003). A sua reprodução é sazonal, a desova é adesiva, desovando em ambientes planos e largos como, por exemplo, plantas de folhas largas e pedras planas (CACHO; YAMAMOTO; CHELLAPPA, 1999).

O lugar onde acontece a desova tem ligação direta na qualidade e quantidade da desova podendo aumentar positivamente os índices reprodutivos, até aqueles que não possuem cuidado parental (PRETTY *et al.*, 2003). Por isso o conhecimento dos fatores bióticos e abióticos, assim como outros fatores, que podem afetar a desova ou o desenvolvimento dos óvulos (ontogenia) e o índice reprodutivo, são importantes, pois impactam de forma indireta no desenvolvimento das espécies (AGOSTINHO *et al.*, 1990) (Figura 1).

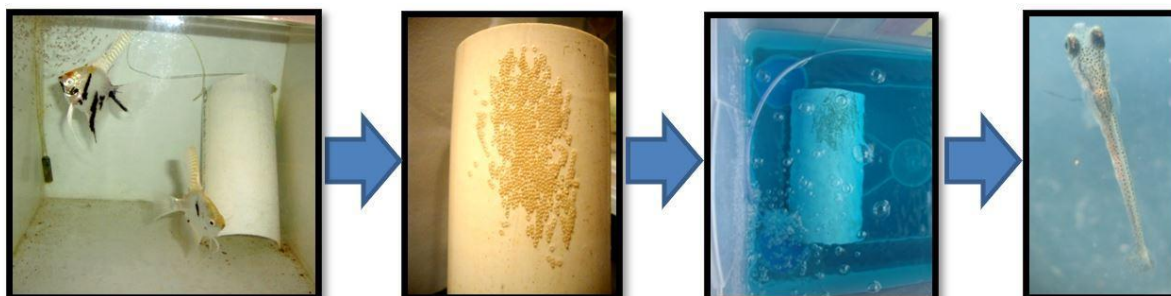


Figura 1 – Conjunto de fotos demonstrando locais e etapas da reprodução e formação de formas jovens do acará bandeira.

Fonte: O autor

O índice reprodutivo é um conjunto de dados, determinando os estágios dos ciclos reprodutivos dos peixes, sendo trabalhado desde os números de ovos até a sobrevivência (PEREIRA *et al.*, 2004). O conhecimento dos índices é importante, sendo ideal em uma produção de grande escala, podendo aperfeiçoar e melhorar a produção (GODINHO, 2007). O estudo do índice reprodutivo permite obter o controle da produção, fornecendo informações e

conhecimento do cultivo, gerenciando a produção (BERGAMASCHI; MACHADO; BARBOSA, 2010).

Visto isso, o objetivo do presente capítulo está em avaliar a reprodução do Acará bandeira (*Pterophyllum scalare*) em sistemas de produção aquícola.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1 AQUICULTURA ORNAMENTAL

A aquariofilia é o termo utilizado para quem cria peixes ornamentais, podendo ser cultivado em diversos ambientes como aquários, caixas e até em lagos. Pelo mundo tem-se alguns exemplos dessa técnica empregada. Um deles são peixes criados em vasos antigos dos egípcios, nas banheiras na Roma antiga, zoológico do imperador asteca (RIBEIRO, 2007).

Este hobby, de criação de peixes ornamentais, difundiu-se a partir do século XX, com o auxílio das tecnologias, facilitando a expansão para outros países como os EUA, Japão, Alemanha, França, Itália e Bélgica. Com isso havendo uma demanda de peixes principalmente pelos aquaristas, originando assim a piscicultura ornamental (RIBEIRO, 2007). A piscicultura ornamental nacional se baseia no cultivo de espécies exóticas.

Exemplo disso são os peixes comumente produzidos, como o betta (*Betta splendens*), peixe japonês (*Carassius auratus*) e a carpa colorida (*Ciprinus carpio*). Mas também trabalham com espécies nativas, como o acará bandeira (*Pterophyllum scalare*), podendo ser criados em pequenas áreas. O que permite um ótimo retorno econômico, uma vez que estes animais serão comercializados por unidade (PEREIRA, 2015). A comercialização mundial de peixes ornamentais é muito expressiva, pois movimentou US \$600 milhões de peixes exportados durante 2016 e 2017 (ROCHA, 2018).

Como supracitado, a aquariofilia vem se destacando cada vez mais expressivamente, Singapura, por exemplo, tem sido destaque na exportação de peixes ornamentais, com cerca de (US\$ 50.2 milhões) de peixes exportados. Seguida pela Espanha com (US\$ 34.6 milhões) e Japão (US\$ 30.4 milhões) (FARIA *et al.*, 2019). O Brasil subiu de colocação no mercado de exportação, saindo da vigésima primeira posição para a oitava. Esse crescimento vem acontecendo desde 2014 (FARIA, 2016).

Em terras nacionais as exportações de peixe são bastante movimentadas, principalmente peixes nativos, gerando cerca de nove milhões de dólares por ano, exportando para Hong Kong, Tailândia, Japão, Estados Unidos e Alemanha (SECEX, 2015).

2.2 BIOLOGIA GERAL DO ACARÁ BANDEIRA

O *Pterophyllum scalare* é uma espécie ornamental de água doce, popularmente conhecido como acará bandeira, pertencendo à família Cichlidae (CACHO; YAMAMOTO; CHELLAPPA, 1999) (Figura 2). Geograficamente o acará bandeira pode ser encontrado na bacia Amazônica do Brasil, Peru, Colômbia e Guianas (PERES, 2013). Sua preferência em ambiente natural, se caracteriza por possuir águas rasas e calmas, habitando entre raízes e folhas de plantas aquáticas (CHELLAPPA *et al.*, 2010).



Classe: Actinopterygii

Ordem: Perciformes

Família: Cichlidae

Nome binominal: *Pterophyllum scalare*
(Schultze, 1823)

Nomes comuns: Acará Bandeira, Buxuari,
Cará Bandeira, Charéu, Scalare, Piraque.

Inglês name: Angelfish, Freshwater
angelfish, Veil ngelfish

Figura 2 – Exemplar de acará bandeira
Fonte: Rechi (2014).

Para a reprodução, o acará bandeira escolhe seu parceiro realizando displays de corte, mantendo os animais em grandes reservatórios. Para a reprodução acontecer a fêmea escolhe o macho, esse é o primeiro quesito para liderar o território escolhido. Após a escolha, o casal formado é isolado de todo o resto, defendendo seu território contra animais que ameacem se aproximar (MANOEL, 2014).

A partir daí o casal passará a tomar conta da desova, passando a perseguir outros que chegarem perto, posicionando lado a lado. É neste momento que o casal deve ser retirado, transportado para um aquário individual, onde o cuidado será apenas com os ovos. O acará tem a característica de ser comprimido lateralmente, seu corpo apresenta um formato triangular, criado por suas nadadeiras dorsais e anais que são alongadas e fortes (PEREIRA, 2016).

Na natureza os exemplares desta espécie são normalmente encontrados juntos, se abrigando em vegetações e madeiras submersas, se protegendo contra possíveis predadores (RODRIGUES *et al.*, 2021). Essas características fazem com que essa espécie seja bem estudada, tendo grande interesse econômico e produtivo. Um exemplo disso é Fabregat *et al.* (2018) que estudaram a caracterização das proporções anatômicas e tempo de trânsito gastrointestinal do apaiari e do acará-bandeira.

Takahashi *et al.* (2018) avaliaram o efeito do tipo de alimento no desempenho produtivo de juvenis de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*), Guimarães (2016) testou os efeitos da seleção de características morfológicas na agressividade e fisiologia dos *Pterophyllum scalare*. Com esses estudos pode-se conhecer cada vez mais sobre a fisiologia e anatomia do acará bandeira, fazendo com que o conhecimento seja levado cada vez mais longe.

2.3 MANEJO NA PRODUÇÃO DE PEIXES ORNAMENTAIS

O manejo é importante para o cultivo de peixes, ele está envolvido em toda a cadeia produtiva, utilizando técnicas e práticas empregadas. De forma geral, o manejo se destaca pela forma como o animal é criado, desde a alimentação até a reprodução (RODRIGUES, 2020). O manejo ajuda na melhora das intervenções vindas da criação, por isso é de grande importância executar um bom manejo durante a produção (KUBITZA, 2008).

O manejo alimentar é fundamental para o desenvolvimento do peixe, esta etapa é a principal para o cultivo, sendo importante para a criação. A ração deve ser de boa qualidade, uma boa alimentação dá ao peixe um desenvolvimento saudável e expressivo. Respeitando o nível nutricional da espécie (RODRIGUES, 2020).

A nutrição dos peixes é um fator importante para o desenvolvimento e crescimento. Uma nutrição mal-empregada poderá interferir no crescimento, conversão alimentar, eficiência reprodutiva e até na saúde do animal. Assim o uso eficiente dos alimentos é importante para diminuir os custos de produção (KUBITZA, 2008). Para isso a nutrição é importante na qualidade dos peixes, pois ela apresenta um papel fundamental, sendo na saúde ou contra

agentes patogênicos (PEZZATO; BARROS; FURUYA, 2009). Peixe em água com condições inadequadas é ruim para o sucesso do cultivo, prejudicando o crescimento, saúde, e a sobrevivência do animal na produção (KUBITZA, 1998).

Assim como uma boa qualidade de água, um bom manejo imposto na produção é muito importante, pois reduz os riscos de doenças e estresse, visando o bem-estar do animal (SOUZA, 2021). O manejo bem executado tem suas vantagens, como por exemplo, a retirada dos animais com facilidade reduzindo o estresse, menor custo inicial, movimentação dos peixes. Por outro lado, também têm as desvantagens como maiores gastos com mão-de-obra, e insumos aquícolas (FURNALETO; AYROZA; AYROZA, 2006).

Esteves *et al.* (1998) estudaram a produção de bovinos de corte em manejo intensivo de pastagem. Silva e Pereira (2019) avaliaram o manejo alimentar em instalações utilizadas por pequenos produtores de suínos no município de Caxias, Maranhão. Enquanto Simplício, Santos e Salles (2000) analisaram o manejo de caprinos para produção de leite em regiões tropicais. Pedroso (2014) avaliou o manejo de produção de três espécies de aves alternativas, Catarina (*Bolborhynchus lineola*), Faisão Coleira (*Phasianus colchicus torquatus*) e Galinha Wyandotte (*Gallus gallus domesticus*). Com esses trabalhos citados pode-se concluir que o manejo dos animais vem ganhando cada vez mais notoriedade para a produção.

Assim como nos animais terrestres, o manejo é importante para os animais aquáticos, sendo empregada em diversos trabalhos como, por exemplo: Justo, Castagnolli e Cantelmo (2018) que analisaram o efeito do manejo na produção de peixes em sistema de policultivo. Santos (2018) avaliou a criação de rãs-touro em baias flutuantes e tanques-rede com automação do manejo alimentar. Oliveira (2018) analisou o eugenol no manejo de pintado amazônico (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Peiarius marmoratus*) e no transporte de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*), Silva (2021) estudou a produção do camarão branco do pacífico em sistema de bioflocos com diferentes estratégias de manejo alimentar. Esses trabalhos mostram a importância de se conhecer o manejo ideal para cada espécie, mostrando sua interferência direta ou indireta em uma boa produção. Essa influência se acarreta pelo manejo diário da produção. No manejo diário do acará bandeira *Pterophyllum scalare* deve-se ter atenção em todos os processos, desde o transporte do animal até a venda final, mantendo seu bem-estar positivo dentro do cultivo (Figura 3).

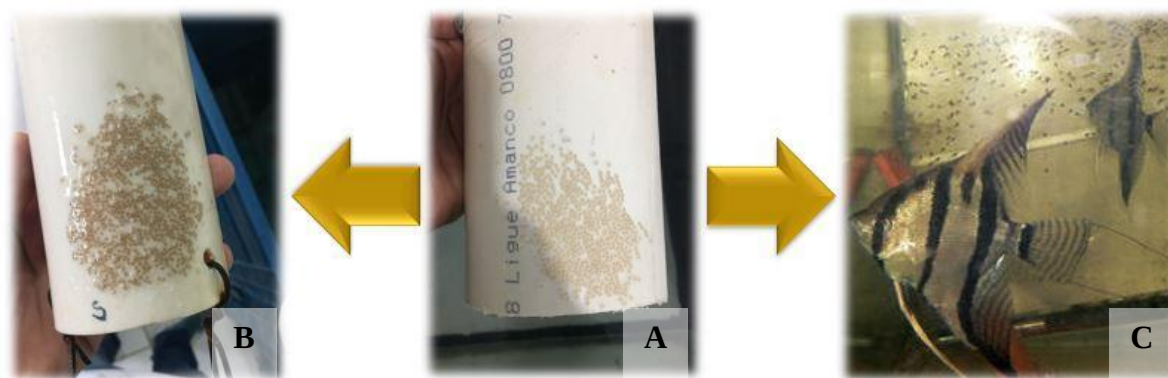


Figura 3 – Fotos demonstrando dois manejos reprodutivos realizados na produção de acará bandeira no Laboratório de Nutrição e Produção de Espécies Ornamentais (LNPEO) do IFES – Campus de Alegre. (A) Desova recém realizada; (B) desova retirada dos pais (C) desova mantida com os pais.

Fonte: O autor

Um dos fatores para que esse sucesso aconteça é o manejo alimentar. O manejo alimentar na criação do acará bandeira é essencial principalmente em um cultivo em grande escala. Quando se tem um manejo bem empregado, o animal pode ter o crescimento, conversão alimentar e sobrevivência positiva. Isso reflete em um bom desempenho de venda mais a frente (SELVATICI *et al.*, 2017). A frequência de ração dada e a restrição alimentar podem ser trabalhadas juntas, quando trabalhadas em conjunto podem trazer benefícios para o cultivo, aumentando as vendas do produtor (ZUANON *et al.*, 2006).

O monitoramento da qualidade de água deve ser feito constantemente, sempre mantendo na temperatura e pH ideal para a espécie. A troca parcial de água (TPA) deve ser feita periodicamente, dando ao animal um ambiente ideal para a sobrevivência. A manutenção dos aquários também deve ser feita constantemente, isso ajuda a manter o aquário limpo. (STEVANATO; TAKAHASHI; SABBAG, 2009). O manejo reprodutivo do acará bandeira é fator que se deve ter atenção, pois se mal empregado pode causar prejuízo na produção, não sendo interessante para o produtor. O pH do ambiente gira em torno de 6,5, sendo o mais indicado para a espécie.

Na produção os animais vão começar a ser agressivos e defender seu território, isso significa que há um casal naquele ambiente. É importante nessa hora que haja o manejo reprodutivo, retirando o casal do ambiente e isolando-os (RIBEIRO, 2007). Quando os animais são isolados o manejo reprodutivo deve continuar. Os cuidados ao manejar o casal desta espécie são importantes, um bom manejo reprodutivo auxilia no bem-estar e garante que o casal tenha uma boa prole. E animais que são provenientes de um manejo estressante podem ter uma grande

perda de energia o que pode prejudicar a prole (STEVANATO; TAKAHASHI; SABBAG, 2009).

2.3.1 Índice reprodutivo

O índice reprodutivo é a determinação dos estágios reprodutivos, prevendo então as variáveis como número de ovos, número de ovos eclodidos, sobrevivência, índice gonadal, (PEREIRA *et al.*, 2004). Através dos índices é possível melhorar a produtividade, assim como em suas variáveis, destacando a sua importância na produtividade (GODINHO, 2007). Um bom índice na reprodução é muito importante para o sucesso do cultivo, principalmente no período gonadal e no período inicial de vida dos peixes, como pode-se observar na figura 4.

Segundo Godinho (2007), os principais índices que se destacam são:

Índice gonadossomático (IGS) = Para calcular este índice é somado o peso da ova (PO) somado ao peso dos ovários esgotados (POE) e multiplicado por cem. Depois dividido pelo peso corporal do animal (PC). $IGS = (PO + POE \times 100) / PC$

Índice de desova = Este índice é calculado multiplicando o peso da ova (PO) vezes cem, depois dividido o valor pelo peso corporal da fêmea (PCF). $ID = (PO \times 100 / PCF)$

Fecundidade absoluta = Para ter a fecundidade absoluta (FA) é realizada a soma do número de ovócitos extrusados (NOE) com o número de ovócitos ovulados retidos nos ovários (NORO). $FA = (NOE + NORO)$

Fecundidade relativa = Para saber a fecundidade relativa (FR) é feito um somatório da fecundidade absoluta (FA) com unidade de peso corporal (UPC). $FR = (FA / UPC)$

Fertilidade inicial = Para calcular a fertilidade inicial (FI) é realizada dividindo o número de ovócitos extruídos (NO) pelo peso da fêmea (F). $FI = (NO / F)$

Fertilidade inicial relativa = A fertilidade inicial relativa (FIR) é calculada dividindo o número de ovos extrusados (NOE) pelo peso da fêmea (F). $FIR = (NOE / F)$

Taxa de fertilização = A taxa de fertilização é (TF) calculada multiplicando o número de ovos viáveis (NOV) por cem e dividindo pelo número total de ovos (NTO). $TF = (NOV \times 100 / NTO)$

Fertilidade final = A fertilidade final (FF) é o número de ovos viáveis (NOV) pelo peso da fêmea (F). $FF = (NOV / F)$

Fertilidade final relativa = Fertilidade final relativa (FFR) é o número de ovos viáveis (NOV) divididos pelo peso da fêmea (F). $FFR = NOV / F$

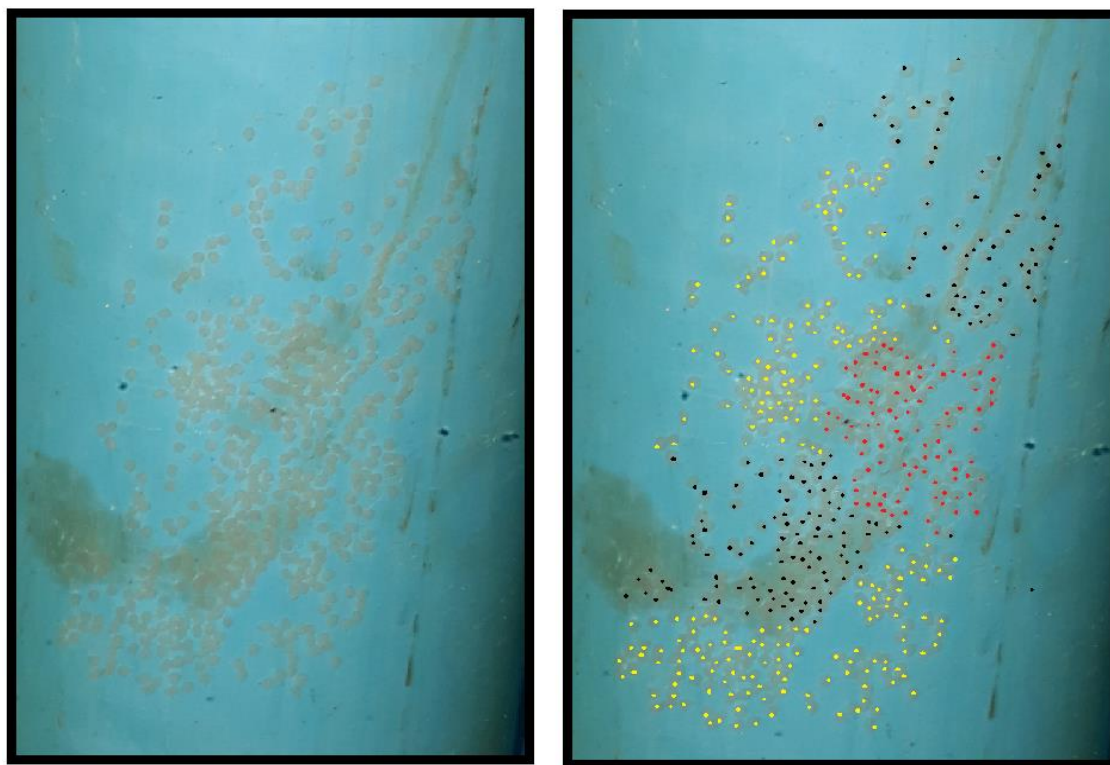


Figura 4 – Foto da desova de acará bandeira, antes e depois da contagem de ovos, para determinar o número de ovos por desova e consequentemente outros índices reprodutivos.

Fonte: O autor

Esses índices são de extrema importância, principalmente para a reprodução. Rodrigues *et al.* (2021) analisaram os índices reprodutivos de porcas induzidas no parto, Triana, Jimenez e Torres (2012) analisaram a eficiência reprodutiva em bovinos leiteiros, enquanto Carneiro (2015) avaliou a produção de leite caprino e o índice reprodutivo, relacionando a época de parto e o genótipo como um modelo alternativo para a produção. Silva e Pereira (2019) avaliaram o multifatorial dos índices reprodutivos de granjas brasileiras. Assim como Porciúncula *et al.* (2020) estudaram a relação entre as variáveis de produção e sanitárias de ovelhas, que era submetida a diferentes protocolos de sincronização deaios. Com esses trabalhos pode-se observar que o índice reprodutivo é conhecido e estudado em criações diversas.

O índice reprodutivo não só é estudado em animais terrestres, é também em animais aquáticos. Silvestri, Cordeiro e Costa (2018) avaliaram os parâmetros reprodutivos do mexilhão *Perna perna* (L. 1758) em fazendas marinhas na Ilha Grande (RJ), Craveiro (2018) estudou os aspectos reprodutivos dos camarões peneídeos *Litopenaeus schmitti* e *Farfantepenaeus subtilis* capturados em Lucena, litoral norte da Paraíba. Bem como Rodrigues *et al.* (2007) analisaram a curva de crescimento média e o efeito dos níveis de energia e a relação energia/proteína sobre o desempenho e fecundidade da rã-touro (*Lithobates catesbeianus*), Navarro, Navarro e Murgas

(2013) analisaram o efeito de diferentes intensidades de luz na resposta ao estresse, crescimento e taxa reprodutiva em fêmeas de lambari (*Astyanax bimaculatus*).

Assim como Matielo (2014) analisou os níveis proteicos nos índices produtivos e reprodutivos do acará bandeira (*Pterophyllum scalare*). Isto demonstra que o conhecimento e o estudo do índice reprodutivo em seres aquáticos também são importantes como a dos terrestres. Além dos estudos é interessante conhecer o parâmetro que se pode ter no cultivo do acará bandeira (Figura 5). Um deles é o número de ovos postos pelo casal, a quantidade de ovos na reprodução é um parâmetro inicial, cada casal pode colocar cerca de 60 a 800 ovos por reprodução (MATHIAS; KOCHENBORGER; GIANNECCGINI, 2010).

Essa quantidade de ovos pode variar também com a idade do casal, diminuindo a quantidade e qualidade dos ovos na reprodução, não sendo bom para a venda. É importante o acompanhamento do número de ovos do casal, pois através desse parâmetro é possível saber os parâmetros mais a frente como, por exemplo, a taxa de fecundidade. A taxa de fecundação do acará é baixa em relação ao número de ovos que o casal põe, essa queda acontece devido aos cuidados que o casal põe sobre a prole, retirando os que não estão fecundos (CACHO; YAMAMOTO; CHELLAPPA, 1999).



Figura 5 – Estruturas utilizadas para reprodução de peixes ornamentais.

Fonte: O autor

Seguindo o desenvolvimento do animal acontecerá a eclosão dela, esse evento poderá ocorrer em torno de 48 horas após a postura, tendo uma taxa de 70 a 80% de animais eclodidos (ROCHA, 2018). Segundo Chapman (2000) a sobrevivência dos peixes ornamentais em geral é de 85%, entretanto a sobrevivência da prole do acará bandeira oscila indo de 30 a 87,5% na

produção. Na produção o conhecimento destes índices reprodutivos desta espécie é importante, pois elas apresentam aspectos fundamentais, sendo possível compreender o ciclo de vida dos peixes (SIVAKUMARAN *et al.*, 2003). Com essa informação em mãos a produção será cada vez mais fácil para o produtor, sendo possível melhorar e até aumentar a sua criação (SOLISMURGAS *et al.*, 2011).

2.3.2 Preferência por substrato

O conhecimento a fundo da espécie é muito importante para a produção. Assim, o estudo de preferência dos animais vem se destacando, através de testes é possível conhecer mais sobre a espécie estudada. Dessa forma pode-se controlar as variáveis indesejadas durante o estudo. O teste de preferência é de características importantes para o estudo do bem-estar. A partir dos resultados dos testes é possível saber as condições ideais dos animais (VOLPATO, 2007).

Com os resultados do teste, é possível prever uma série de variáveis preferenciais, mostrando a escolha do animal. Essas variáveis podem ser substrato, abrigo, cor e luminosidade indicando apenas uma escolha em cada variável imposta, isso fornece aos animais uma ampla possibilidade de escolha nos testes (VOLPATO, 2007). O estudo da preferência por diferentes substratos é importante, pois o conhecimento de sua preferência é representativo para a reprodução das espécies. A partir do conhecimento da preferência por substrato é possível conhecer o substrato ideal para a melhor vivência do animal (MENDONÇA, 2010) (Figura 6).

O estudo da preferência por diferentes abrigos diminui o estresse dos animais para com o ambiente. Um exemplo deles é a diminuição de agressão específica. O peixe estando em um abrigo que se sinta à vontade, poderá produzir no animal um estado de bem-estar (HUNTINGFORD *et al.*, 2012). O estudo da coloração é importante para o conhecimento da espécie, os diferentes ambientes proporcionam saber os benefícios de determinada cor (VOLPATO; BARRETO, 2001). A cor do ambiente pode variar podendo aumentar ou diminuir o estresse, outras os animais podem se adequar causando um bem-estar nos animais (FANTA, 1995).

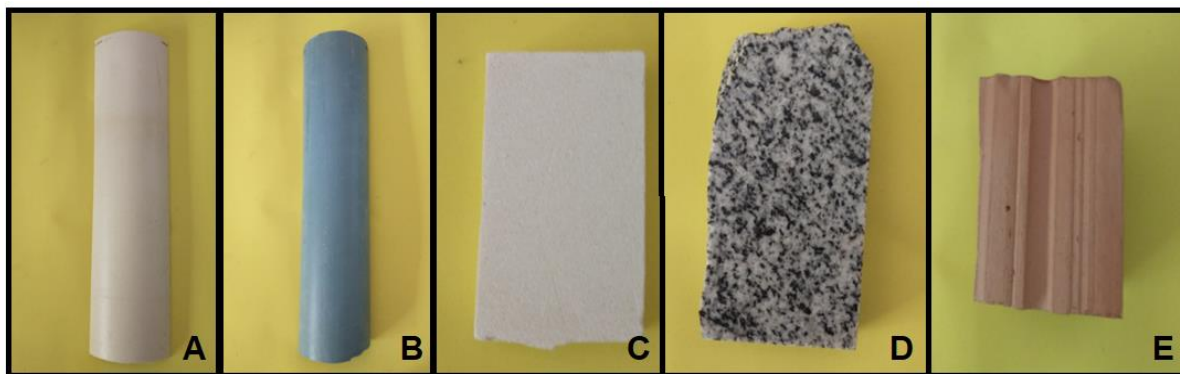


Figura 6 – Diferentes substratos utilizados para desova em produção de formas jovens de acará bandeira. A – cano de PVC branco, B – cano de PVC azul, C – mármore branco, D – granito talismã e E – tijolo de barro cozido.

Fonte: O autor

Estudos com acará bandeira relatam que o animal se estressa mais com a luminosidade mais frequente, tornando o animal mais agressivo, por isso é importante conhecer as características dos substratos (CARVALHO, 2009). Há diversos substratos para peixes, estes exercem um papel considerável, no comportamento dos animais e também na sua nutrição. Para isso os testes de preferência dão uma resposta, compreendendo melhor qual seria o tipo de substrato para um bem-estar ideal (SANTOS; FREIRE; PONTES, 2013).

No caso do acará bandeira os substratos preferidos são os inertes e que tenham superfície lisa. São alguns exemplos de substratos preferidos pela espécie: folhas largas, superfícies de pedras grandes, ou plantas (MATHIAS; KOCHENBORGER; GIANNECCGINI, 2010). Os substratos na reprodução auxiliam na expressão natural do comportamento da espécie, isso é um ponto importante, pois favorece o bem-estar psíquico e etiológico do peixe (CAMPOS *et al.*, 2010).

Estudos mostram a preferência por substratos em meio aquático também, um exemplo deles é Meurer, Pereira e Macieira (2017) verificaram a preferência de substrato do peixe-limpador *Elacatinus figaro* na Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ. Santos, Freire e Pontes (2013) analisaram o comportamento do camarão em diferentes substratos nas fases clara e escura do dia. Batista (2017) analisou a preferência por cor (ambiente) e de substrato do peixe *Betta splendens*, e a influência no seu comportamento reprodutivo, Martins (2011) estudou os efeitos da posição social e do contexto reprodutivo sobre a preferência por substratos claro ou escuro, em machos de Tilápia-do Nilo.

Em ambiente natural o acará possui mais opções de substratos para a desova, Vidal Junior (2006) relata duas delas, podendo colocar seus ovos em troncos e folhas submersas. Mas sempre permanecendo com o cuidado parental, aerando os ovos e eliminando os fungos.

3 CONCLUSÕES

Inicialmente este trabalho mostra a relevância da piscicultura ornamental como fonte de renda e de desenvolvimento social e ambiental para o País. Assim como deixa claro também a importância do acará bandeira dentro desse nicho de mercado assim como seu papel, sendo uma das espécies nacionais mais trabalhadas na piscicultura ornamental.

Outro aspecto considerável deste trabalho é a importância de saber sobre rotinas e manejos dos animais produzidos, dos mais triviais aos menos percebidos, como o manejo da desova, pois tal manejo gera impactos diretos sobre a produção e a rentabilidade deste agronegócio.

E assim, além de entender os manejos, saber também quais equipamentos ou estruturas deve-se usar, também contribuem ao sucesso da produção. E este trabalho trouxe diversos estudos que demonstram isso, levando a considerar tais fatores dentro da piscicultura ornamental.

Após o exposto, percebe-se a importância do conhecimento sobre as variáveis que compõem os índices reprodutivos e também em relação aos manejos empregados durante a reprodução ou produção de formas jovens dessa espécie. Visto que tais fatores podem influenciar diretamente o resultado dessa etapa na produção de uma piscicultura ornamental.

4 REFERÊNCIAS

BATISTA, T. L. **A preferência por cor ambiente e de substrato do peixe *Betta splendens*, e a influência no seu comportamento reprodutivo**. 2017. 41 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

BERGAMASCHI, M. A. C. M.; MACHADO, R.; BARBOSA, R. T. **Eficiência reprodutiva das vacas leiteiras**. 2010. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/880245/1/Circular642.pdf>> Acesso em: 03 mar. 2022.

CACHO, M. S. R. F. do; YAMAMOTO, M. E; CHELLAPPA, S. Comportamento reprodutivo do acará bandeira, *Pterophylum scalare* Cuvier & Valenciennes (*Osteichthyes*, *Cichlidae*). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 16, p. 653-664, 1999.

- CAMPOS, J. A. *et al.* Enriquecimento ambiental para leitões na fase de creche advindos de desmame aos 21 e 28 dias. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 2, p. 272-278, 2010.
- CARNEIRO, W. P. **Produção de leite caprino e índices reprodutivos em função da época de parto e genótipo em um modelo alternativo de produção**. 2015. 38 f. Monografia (Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2015.
- CARVALHO, T. B. **A interferência da luminosidade na agressividade e na hierarquia social de ciclídeos**. 2009. 98 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.
- CHAPMAN, F. A. *et al.* United States of America trade in ornamental fish. **Journal of The World Aquaculture Society**, v. 28, n. 1, p. 1-10, 1997.
- CHAPMAN, F. A. Ornamental fish culture, freshwater. In: STICKNEY, R. R. **Encyclopedia of aquaculture**. Usa: Wiley Interscience, 2000. Cap. 3. p.602610. Disponível em: <http://www.chanthaburi.buu.ac.th/~chalee/ref/Encyclopedia_Aquaculture.pdf> Acesso em: 9 mar. 2022.
- CHELLAPPA, S. *et al.* Biologia, comportamento e reprodução do peixe ornamental, acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*). In: BALDISSEROTO, B. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2. ed. Santa Maria: Ufsm, 2010, p. 477-488.
- CRAVEIRO, C. F. F. **Aspectos reprodutivos dos camarões peneídeos *Litopenaeus schmitti* e *Farfantepenaeus subtilis* capturados em Lucena, litoral norte da Paraíba, Brasil**. 2018. 73 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) – Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2018.
- ESTEVES, S. N.; SCHIFFER, E. A.; NOVO, A. L. M. Produção de bovinos de corte em manejo intensivo de pastagem. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE GADO DE CORTE, 1998, Campinas, **Anais...** Campinas: CBNA, 1998. p. 11-21.
- FABREGAT, T. E. H. P. *et al.* Avaliação do trato gastrointestinal para oscar e angelfish: proporções anatômicas e tempo de trânsito. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 41, n. 3, p. 671-676, 2018.
- FANTA, E. Influence of background color on the behavior of the fish *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 38, n. 4, p. 1237-1251, 1995.
- FARIA, C. F. A. de. **Aquicultura ornamental: um mercado promissor**. 2016. Disponível em: <<https://panoramadaaquicultura.com.br/aquicultura-ornamental-um-mercado-promissor/>> Acesso em: 03 fev. 2022.

FARIA, C. F. A. de *et al.*. Caracterização do mercado de aquicultura ornamental e aquariofilia no Rio Grande do Norte. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 8, n. 1, p. 203-215, 2019.

FURNALETO, F. P. B. de.; AYROZA, D. M. M. R.de.; AYROZA, L. M. S. da. Custo e rentabilidade da produção de tilápia (*Oreochromis spp.*) em tanque rede no médio Paranapanema, estado de São Paulo, safra 2004/2005. **Informações econômicas**, v. 36, n. 3, p. 1-7, 2006.

GODINHO, H. P. Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 3, p. 351-360, 2007.

GUIMARÃES, F. D. **Effects of selection of morphological traits on aggression and physiology in *Pterophyllum scalare***. 2016. Dissertação (Mestrado em biologia animal)-programa de Pós Graduação em biologia animal, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto. 2016.

HUNTINGFORD, F. *et al.* Introduction: aquaculture and behavior. In: HUNTINGFORD, F.; JOBLING, M.; KADRI, S. **Aquaculture and Behavior**. Londres: Blackwell Publishing, 2012. p. 1-35.

JUSTO, C. L.; CASTAGNOLLI, N.; CANTELMO, O. A. Efeito do manejo na produção de peixes em sistema de policultivo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 12, n. 3, p. 21-29, 2018.

KUBITZA, F. **Manejo na produção de peixes**. 2008. Disponível em: <<https://panoramadaaquicultura.com.br/manejo-na-producao-de-peixes-4/>> Acesso em: 16 fev. 2022.

KUBITZA, F. **Qualidade da água na produção de peixes**. 1998. Disponível em: <<https://bityli.com/tmNFkF>> Acesso em: 16 fev. 2022.

LIMA, A. O. **O potencial de mercado para algumas espécies de peixes ornamentais: formas alternativas de diversificação da produção na aquicultura brasileira** 2003. Disponível em:<<https://panoramadaaquicultura.com.br/aquiculturaornamental-2/>>. Acesso em: 18 fev. 2022.

MANOEL, V. T. **Viabilidade econômica e prática da produção urbana e sustentável de acará-bandeira – *Pterophyllum scalare* no Distrito Federal**. 2014. 82 f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

MARTINS, F. C. **Efeitos da posição social e do contexto reprodutivo sobre a preferência por substratos claro ou escuro, em machos de tilápia-do-Nilo**. 2011. 36 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2011.

- MATHIAS, J.; KOCHENBORGER, J. B.; GIANNECCGINI, L. G. **Como criar acará bandeira**. 2010. Disponível em: <<http://revistagloborural.globo.com/GloboRural/0,6993,EEC1708920-4530,00.html>> Acesso em: 03 fev. 2022.
- MATIELO, M. D.; **Níveis proteicos dos índices produtivos e reprodutivos do acará bandeira (*Pterophyllum scalare*)**. 2014. 52 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2014.
- MENDONÇA, F. Z. de. **Escolha de substrato para a construção de ninho na tilápia do Nilo: associação com parâmetros fisiológicos e de bem estar**. 2010. 97 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2010.
- MEURER, B. C.; PEREIRA, O. A.F. C. da; MACIEIRA, J. C. Preferência de substrato do peixe-limpador *Elacatinus figaro* (Sazima, Moura & Rosa, 1997) na Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ. **Revista Pensar**, v. 3, p. 33-43, 2017.
- NAVARRO, F. K. S. P.; NAVARRO, R. D.; MURGAS, L. D. S. Efeito de diferentes intensidades de luz sobre a resposta ao estresse, crescimento e índice reprodutivo em fêmeas de lambari (*Astyanax bimaculatus*). **Nucleus Animalium**, v. 5, n. 1, p. 61-68, 2013.
- OLIVEIRA, C. P. B. de. **Eugenol no manejo de pintado amazônico (*Pseudoplatystoma reticulatum* X *Leiarius marmoratus*) e no transporte de acará bandeira (*Pterophyllum scalare*)**. 2018. 69 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2018.
- PEDROSO, E. L. **Manejo de produção de três espécies de aves alternativas: catarina (*Bolborhynchus lineola*), faisão coleira (*Phasianus colchicus torquatus*) e galinha wyandotte (*Gallus gallus domesticus*)**. 2014. 61 f. Monografia (Graduação em Agronomia) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.
- PEREIRA, S. L. *et al.* Diferentes estratégias alimentares na larvicultura do acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*, Cichlidae). **Acta Amazonica**, v. 46, p. 91-98, 2016.
- PEREIRA, B. L. de. *et al.* **Índice gonadossomático como indicador do período reprodutivo de *Prochilodus lineatus* (pisces, characidae) nos rios Aquiduanã e Miranda, MS**. 2004. Disponível em: <https://www.cpap.embrapa.br/agencia/simpan/sumario/resumos/asperctos/pdf/biotico/53RB_Pereira-1-OK.PDF>. Acesso em: 17 fev. 2022.
- PEREIRA, S. L. **Efeito da temperatura na ontogenia inicial do *Trichogaster leeri* (*Trichogaster leeri*)**. 2015. 41 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2015.

PERES, M. T. P. **Plano de revitalização do aquário do passeio público de Curitiba**. 2013. Disponível em: <<https://gia.org.br/portal/wp-content/uploads/2013/11/passeio-publico.pdf>>. Acesso em: 02 fev. 2022.

PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; FURUYA, W. M. Valor nutritivo dos alimentos utilizados na formulação de rações para peixes tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 43-51, 2009.

PORCIÚNCULA, G. da *et al.* Relação entre as variáveis de produção e sanitárias de ovelhas submetidas a diferentes protocolos de sincronização de cios. In: SALÃO INTERNACIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 1, 2020, Bagé. **Anais...** Bagé: Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, 2020.

PRETTY, J. L. *et al.* River rehabilitation and fish populations: assessing the benefit of instream structures. **Journal of Applied Ecology**, v. 40, n. 2, p. 251-265, 2003.

RECHI, E. **Aquarismo paulista: documento de trabalho**. São Paulo. 2014. Disponível em <<http://www.aquarismopaulista.com/pterothylum-scalare/>>. Acesso em: 04 jul. 2022

RIBEIRO, F. A. S. de. **Sistemas de criação para o acará-bandeira *Pterophyllum scalare***. 2007. 52 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Federal Paulista, Jaboticabal, 2007.

ROCHA, I. P. **Análise da produção aquícola mundial e das oportunidades para o Brasil**. Natal-Rn: Fenacam, 2018. Disponível em: <<https://bitly.com/NBvoEh>>. Acesso em: 9 mar. 2022.

RODRIGUES, D. F. *et al.* Reproductive indices in sows subjected to farrowing induction. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. 1-9, 2021.

RODRIGUES, L. A.; FERNANDES, J. B. K. Influência do processamento da dieta no desempenho produtivo do acará bandeira (*Pterophyllum scalare*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 28, n. 1, p. 113-119, 2006.

RODRIGUES, M. L. *et al.* Efeito dos níveis de proteína e relação energia/proteína sobre o desempenho da rã-touro. **Archivos de Zootecnia**, v. 56, n. 216, p. 939-942, 2007.

RODRIGUES, R. **Manejo alimentar de peixes**. 2020. Disponível em: <<https://www.cpt.com.br/cursos-criacaodepeixes/artigos/manejo-alimentar-de-peixes>>. Acesso em: 28 jan. 2022.

SANTOS, A. A. D. **Criação de rãs touro em baias flutuantes e tanques rede com automação do manejo alimentar**. 2018. 26 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2018.

SANTOS, D. B. dos; FREIRE, F. A. M.de; PONTES, C. S. Comportamento do camarão em diferentes substratos nas fases clara e escura do dia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 8, p. 841-848, 2013.

SECEX. **Sistema de análise de informações do comércio exterior**. 2015. Disponível em: <www.aliceweb.gov.br>. Acesso em: 18 fev. 2022.

SELVATICI, P. D. C. *et al.* Manejo alimentar de juvenis de acará bandeira (*Pterophyllum scalare*). **Nutri time**, v. 14, n. 1, p. 4919-4927, 2017.

SILVA, D. L. dos S.; PEREIRA, W. S. Manejo alimentar e instalações utilizadas por pequenos produtores de suínos no município de Caxias, Maranhão. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 15, n. 2, p. 115, 2019.

SILVA, W. A. **Produção do camarão-branco-do-pacífico em sistema de bioflocos com diferentes estratégias de manejo alimentar**. 2021. 27 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2021.

SILVESTRI, F.; CORDEIRO, G. B.; COSTA, P. M. S. Parâmetros reprodutivos do mexilhão *Perna perna* (L. 1758) em fazendas marinhas na Ilha Grande (RJ). **Acta of Fisheries And Aquatic Resources**, v. 6, n. 1, p. 43-49, 2018.

SIMPLÍCIO, A. A.; SANTOS, D. O.; SALLES, H. O. Manejo de caprinos para produção de leite em regiões tropicais. **Ciência Animal**, v. 10, n. 1, p. 13-27, 2000.

SIVAKUMARAN, K. P. *et al.* Maturation and reproductive biology of female wild carp, *Cyprinus carpio*, in Victoria, Australia. **Environmental Biology Of Fishes**, v. 68, p. 321-332, 2003.

SOLIS-MURGAS, L. D. *et al.* Importância da avaliação dos parâmetros reprodutivos em peixes nativos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 35, n. 2, p. 186-191, 2011.

SOUZA, A. C. B. de. **Importância das boas práticas de manejo sanitário na piscicultura de água doce**. 2021. 41 f. Monografia (Graduação em Zootecnia) - Universidade Católica de Goiás, Goiânia. 2021.

STEVANATO, D. J.; TAKAHASHI, L. S.; SABBAG, O. J. **Reprodução de acará bandeira em cativeiro e suas particularidades**. 2009. Disponível em: <<https://bityli.com/YeODUM>>. Acesso em: 7 mar. 2022.

TAKAHASHI, L. S. *et al.* Efeito do tipo de alimento no desempenho produtivo de juvenis de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 36, n. 1, p. 1-8, 2018.

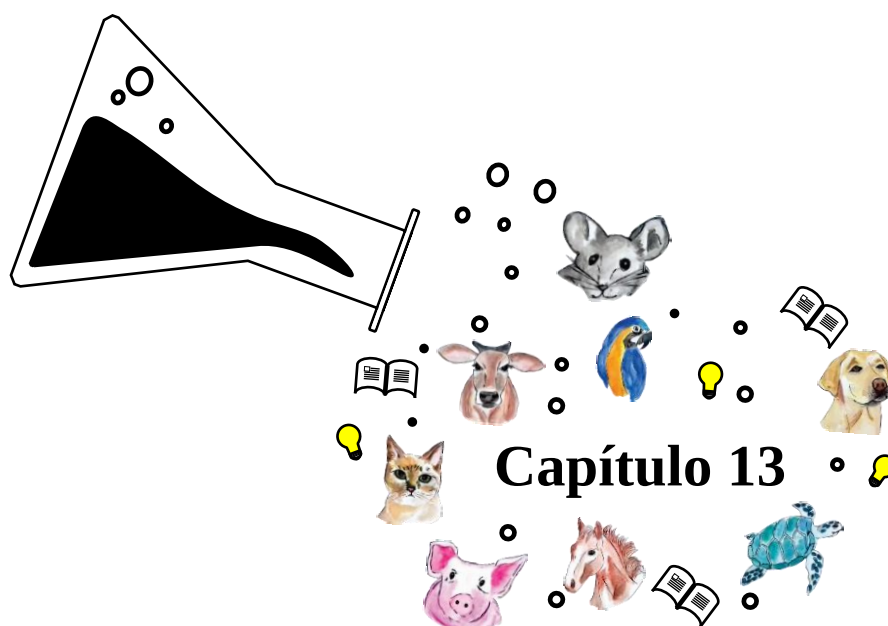
TRIANA, E. L. C.; JIMENEZ, C. R.; TORRES, C. A. A.. Eficiência reprodutiva em bovinos de leite. In: SEMANA DO FAZENDEIRO, 83, 2012, Viçosa, **Anais...** Viçosa: 2012 v. 1, p 20.

VIDAL JUNIOR, M.V.V. Sistemas de produção de peixes ornamentais. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, n. 51, p. 62-74, 2006

VOLPATO, G. L. Considerações metodológicas sobre os testes de preferência na avaliação do bem-estar em peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 53-61, 2007.

VOLPATO, G. L.; BARRETO, R. E. Environmental blue light prevents stress in the fish Nile tilapia. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 8, n. 34, p. 1041-1045, 2001.

ZUANON, J. A. S. *et al.* Níveis de proteína bruta em dietas para alevinos de acará-bandeira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 5, p. 1893-1896, 2006.



Criopreservação de embriões bovinos produzidos *in vitro*

Michele Ricieri Bastos ¹
Ligiane de Oliveira Leme ²
Felipe Ruas ³
Margot Alves Nunes Dode ⁴
José Oliveira Carvalho ⁵

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

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

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

⁴ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, e-mail: margot.dode@gmail.com

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

1 INTRODUÇÃO

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) tem grande potencial para acelerar o ganho genético, pois possibilita a rápida multiplicação de animais geneticamente superiores. Inicialmente, a técnica de PIVE foi utilizada no Brasil apenas para fins de pesquisa, tendo início de sua utilização comercial a partir do ano 2000. A partir daí o seu uso aumentou progressivamente, levando o Brasil a ser um dos maiores produtores de embriões *in vitro* do mundo, respondendo por aproximadamente 33,5% da produção mundial (VIANA, 2021).

Apesar desta tecnologia ser utilizada amplamente em todo o mundo, seu procedimento envolve elaboradas etapas que vão desde a captação dos complexos cumulus oócitos (CCOs) até o cultivo embrionário, havendo alguns fatores limitantes, como qualidade dos CCOs obtidos, necessidade de uso de complexos meios de cultivo e elaborada estrutura laboratorial. Além disto, os embriões produzidos *in vitro* possuem pior qualidade e maior sensibilidade à criopreservação (ABE *et al.*, 1999; ABE *et al.*, 2002). De fato, diferentes estudos (LOPATÁŘOVÁ *et al.*, 2002; RIZOS *et al.*, 2002a) relatam efeito negativo da criopreservação sobre características celulares, moleculares e de sobrevivência dos embriões PIVE, limitando seu uso comercial em larga escala. Segundo Viana (2021), dos 368.345 embriões bovinos produzidos em 2018 no Brasil, apenas 16,1% foram transferidos após passarem pelo processo de criopreservação (VIANA, 2021), o que demonstra o baixo uso comercial da criopreservação destes embriões.

Considerando que a PIVE é uma técnica extensivamente utilizada nos programas reprodutivos e de melhoramento genético em espécies domésticas, a criopreservação se torna uma etapa de fundamental importância para a constante evolução e consolidação da técnica. A importância da criopreservação se dá pelo fato de permitir manter embriões excedentes para uso futuro, conservar material genético de espécies ameaçadas, formar bancos de germoplasma, transportar material genético, como também a comercialização nacional e internacional de germoplasma. No entanto, para a realização da criopreservação são necessárias etapas que se baseiam em dois principais fatores: resfriamento/aquecimento e uso de crioprotetores, os quais podem ser afetados por vários outros fatores, tais como: método de congelamento, crioprotetor utilizado, qualidade do embrião, sistema de cultivo, entre outros (NICACIO *et al.*, 2002).

O primeiro estudo testando a capacidade de criopreservar embriões foi realizado com embriões de camundongos por Whittingham, Leibo e Mazur (1972). Em bovinos, os primeiros estudos avaliando a resistência a criopreservação foram realizados por Wilmut e Rowson (1973), incluindo o primeiro nascimento. Desde então, diversos estudos têm sido realizados na

tentativa de desenvolver ou otimizar protocolos mais eficientes, soluções menos tóxicas e mais estáveis, processos de resfriamento e aquecimento e equipamentos de transporte mais eficazes (FERRÉ *et al.*, 2020), visando a obtenção de melhores resultados na criopreservação de embriões PIVE.

Desta forma, objetiva-se com esta revisão reunir conceitos, avanços e limitações dos métodos de criopreservação, discutir alguns dos principais fatores que afetam o resultado da criopreservação, bem como as estratégias que têm sido testadas e utilizadas em busca de aumentar a criotolerância de embriões bovinos produzidos *in vitro*.

2 MÉTODOS DE CRIOPRESERVAÇÃO

Atualmente, dois métodos são utilizados para a criopreservação de embriões bovinos: a congelação tradicional lenta ou clássica e a vitrificação (DATTENA *et al.*, 2000; VAJTA; KUWAYAMA, 2006). Assim como em outras biotecnologias reprodutivas, existem vantagens e desvantagens relacionadas a ambas as técnicas de criopreservação.

A vitrificação é considerada menos onerosa por não necessitar de equipamentos e por dispendar menor tempo para sua execução. No entanto, requer maior habilidade técnica, além de não possuir uma metodologia estabelecida para a transferência direta dos embriões para fêmeas receptoras. A desvitrificação/aquecimento requer passos importantes de reidratação e retirada do crioprotetor, que devem ser realizados com o auxílio de um estereomicroscópico, para que, então, os embriões sejam reenvazados e transferidos às receptoras (VAJTA; KUWAYAMA, 2006). Sendo este, um dos principais gargalos para o uso comercial em larga escala da vitrificação.

Por outro lado, a congelação tradicional lenta ou clássica requer uso de equipamento específico e demanda maior tempo para sua finalização. Entretanto, permite a manipulação de maior quantidade de embriões em menor tempo, e sobretudo permite a transferência direta do embrião descongelado, ou seja, o descongelamento é realizado diretamente pelo reaquecimento da palheta, sendo o embrião contido na palheta inovulado diretamente no útero da fêmea receptora (RIENZI *et al.*, 2017). Embora a congelação lenta tenha sido muito utilizada em embriões produzidos *in vivo*, ambas as técnicas podem ser igualmente utilizadas em embriões produzidos *in vivo* ou *in vitro*, conforme disponibilidade de equipamentos e técnicos treinados para a realização dos procedimentos (GÓMEZ *et al.*, 2020).

Em bovinos, a congelação lenta, ou clássica, é utilizada principalmente para a criopreservação de embriões produzidos *in vivo*, uma vez que estes embriões possuem menor concentração lipídica e maior massa celular interna (ABE *et al.*, 2002). Isto confere aos embriões uma maior crio-resistência. Na congelação clássica, os danos tóxicos e osmóticos aparentemente não são tão graves, uma vez que a concentração das soluções crioprotetoras utilizadas são baixas (VAJTA; NAGY, 2006). No entanto, não são concentrações baixas o suficiente a ponto de impedir totalmente a formação de cristais de gelo intracelular, o que, mesmo não sendo tão graves, ainda podem causar algumas lesões em membranas e organelas celulares que prejudicam a recuperação e a sobrevivência das células embrionárias (LOPATÁŘOVÁ *et al.*, 2002; MAZUR, 1984; PAPADOPOULOS *et al.*, 2002).

A congelação lenta envolve o equilíbrio dos embriões em uma ou duas soluções de desidratação, composta por soluções crioprotetoras em uma concentração de aproximadamente 1 a 2 mol/L, por um período de até 10 minutos. Posteriormente os embriões são envasados em palhetas de 0,25 mL, as quais são lacradas e colocadas em equipamento programável para congelação, por meio de uma curva de refrigeração e congelamento. O resfriamento ocorre com redução gradual de 0,3 a 0,5 °C/minuto, até atingir a temperatura de -5 a -8 °C, momento no qual é realizada a indução da cristalização (*seeding*) de forma manual. As etapas subsequentes são controladas pela máquina e as taxas de resfriamento variam entre 0,3 e 1°C/min até que temperatura atinja -32°C, momento no qual as palhetas são submergidas diretamente no nitrogênio líquido e a temperatura é reduzida para -196 °C, sendo em seguida armazenadas em botijões criogênicos (VAJTA; NAGY, 2006).

Por outro lado, a vitrificação é um método de criopreservação através do qual ocorre a solidificação da solução que contém o embrião para um estado vítreo, sem a formação de cristais de gelo intracelular. Isto ocorre devido a associação da rápida passagem pela zona crítica de resfriamento, assim como pelas altas concentrações de crioprotetores utilizados, formando uma solução viscosa, que durante o congelamento faz com que a água celular se solidifique em estado vítreo (VAJTA *et al.*, 1998; VAJTA, 2000; VAJTA; NAGY, 2006).

Devido à alta toxicidade dos crioprotetores, durante a vitrificação as células devem ser expostas a essa solução por um curto período de tempo e em um volume mínimo de solução (KUWAYAMA *et al.*, 2005). Inicialmente, a técnica de vitrificação de embriões era realizada em palhetas de 0,25 mL submergidas diretamente em nitrogênio líquido. Através dessa metodologia, alcançava-se taxas de resfriamento de aproximadamente 2500°C/min e a concentração de crioprotetores requerida era de 5 a 7 M (PALASZ; MAPLETOFT, 1996). Com

a evolução da técnica foi possível alcançar taxas de resfriamento mais rápidas, o que permitiu reduzir a concentração dos crioprotetores, tornando a vitrificação uma alternativa competitiva à congelação tradicional lenta (VAJTA; KUWAYAMA, 2006).

Para isto, umas das principais mudanças durante a evolução da técnica foi relacionado ao volume de meio utilizado. É sabido que a maneira mais eficiente para aumentar a taxa de resfriamento é a utilização do menor volume possível da solução crioprotetora que contém o embrião e estabelecer o contato direto dessa solução com o nitrogênio líquido (VAJTA; NAGY, 2006). Dessa forma, desde que a vitrificação foi desenvolvida, por Rall e Fahy (1985), diferentes protocolos e modelos foram testados, sempre objetivando a redução da concentração e do volume dos crioprotetores, assim como o aumento da velocidade da curva de resfriamento e congelação. Para isto, diferentes dispositivos de suporte foram desenvolvidos, permitindo o contato rápido com nitrogênio líquido, os quais incluem grades de cobre de microscopia eletrônica (MARTINO; SONGSASEN; LEIBO, 1996), palhetas do tipo open pulled straw – OPS (VAJTA *et al.*, 1998), CryoLoop (LANE *et al.*, 1999), micro-gotas (PAPIS; SHIMIZU; IZAIKE, 2000), superfície sólida (DINNYÉS *et al.*, 2000) e Cryotop (KUWAYAMA *et al.*, 2005).

Dentre as técnicas de vitrificação, a OPS desenvolvida por Vajta *et al.* (1998) provocou um grande impacto no uso desta tecnologia, sendo até 2010 a técnica mais utilizada para embriões PIVE de várias espécies de mamíferos. A OPS se baseou na ideia da utilização de palhetas de 0,25 mL com diâmetro reduzido (OPS) em uma de suas extremidades, permitindo que os embriões sejam armazenados por capilaridade em um volume de solução na ordem de 1 a 2 μ L. Com isto a velocidade de resfriamento alcançada foi cerca de -15.000 a -30.000°C/min, consequentemente, possibilitou redução de 30% na concentração dos crioprotetores (MASSIP, 2001; VAJTA *et al.*, 1998; VAJTA, 2000). Embora esta técnica exija um técnico treinado, ela pode ser realizada de forma simples, rápida e não requer uso de equipamento de alto valor (VAJTA *et al.*, 1998).

Outra técnica que obteve bastante destaque foi o “Cryotop” (KUWAYAMA *et al.*, 2005) que na última década recebeu especial atenção em várias espécies, principalmente em humanos (KUWAYAMA, 2007). Tal fato se deve por ser uma versão avançada das técnicas que abordam a utilização de “volume mínimo” de crioprotetor, oferecendo inúmeros benefícios relacionados ao aumento das taxas de resfriamento. Esse método consiste no uso de uma haste de polipropileno que possibilitou utilizar um volume ainda menor de crioprotetor (< 0,1 μ L) quando comparado ao método da OPS (MORATÓ *et al.*, 2008). Consequentemente,

possibilitou atingir taxas de resfriamento superiores a $-40.000^{\circ}\text{C}/\text{min}$, contribuindo efetivamente com melhor sobrevivência embrionária após a vitrificação (KUWAYAMA, 2007).

Apesar do avanço das inúmeras técnicas de vitrificação existentes, a não possibilidade da realização de transferência direta dos embriões permanece sendo o maior desafio encontrado para o uso comercial em larga escala da vitrificação. A desvitrificação/aquecimento requer passos importantes de reidratação e retirada da solução crioprotetora presentes em altas concentrações. Para isto é necessário auxílio de um estereomicroscópico e um técnico bem capacitado, para que, então, os embriões possam ser reenvazados e transferidos às fêmeas receptoras (VAJTA; KUWAYAMA, 2006).

Em relação à eficácia, apesar de ainda ser muito controverso, há evidências de que a vitrificação cause menores danos do que outros métodos de criopreservação (INABA *et al.*, 2011; KUWAYAMA, 2007; MARTINO; SONGSASEN; LEIBO, 1996; NICACIO *et al.*, 2012; STINSHOFF *et al.*, 2011; VAJTA *et al.*, 1998; VAJTA; KUWAYAMA, 2006; WHITTINGHAM; LEIBO; MAZUR, 1972).

De fato, apesar de alguns autores não encontrarem diferenças entre a vitrificação e o congelamento clássico quanto à taxa de eclosão pós-criopreservação em bovinos (BARCELÓ-FIMBRES; SEIDEL, 2007), diferentes estudos relatam boas taxas de eclosão para embriões bovinos PIVE criopreservados por vitrificação (PEREIRA; DODE; RUMPF, 2005), bem como quando comparada ao congelamento clássico (INABA *et al.*, 2011; MUCCI *et al.*, 2006).

Inaba *et al.* (2011) compararam embriões produzidos *in vivo* e *in vitro* criopreservados com congelamento clássico, vitrificação em palheta e por *Cryotop*, e observaram que a taxa de eclosão às 48 horas foi maior na técnica *Cryotop* do que nos outros dois métodos. Entretanto, nem o método nem a origem do embrião afetou a taxa de prenhez. Resultados semelhantes também foram relatados por Gómez *et al.* (2020) e Sanches *et al.* (2016), quando compararam os métodos de criopreservação em embriões PIVE.

No entanto, vale ressaltar que grande parte das crioinjúrias podem ser minimizadas por uma metodologia de criopreservação adequada e bem realizada, assegurando tempo e temperatura corretos de exposição em cada etapa do processo. Além disso, criopreservar embriões de melhor qualidade ajuda a diminuir os danos celulares, garantindo sinais evidentes de regeneração e reorganização das estruturas embrionárias, incluindo o reestabelecimento das ligações entre as células do trofoectoderma e retomada da morfologia mitocondrial (VAJTA *et al.*, 1998).

3 EFEITO DO PROCESSO DE CRIOPRESERVAÇÃO SOBRE O EMBRIÃO

Sabe-se que o embrião PIVE detém características distintas quando comparado ao produzido *in vivo*. Essas diferenças entre embriões envolvem aspectos morfológicos (PAPIS; SHIMIZU; IZAIKE, 2000) e moleculares que afetam a qualidade e o desenvolvimento embrionário, diminuindo a criotolerância e a taxa de prenhez após a criopreservação (ABE *et al.*, 2002). Todas essas características, analisadas em conjunto ou isoladas, podem elucidar a maior sensibilidade dos embriões PIVE à criopreservação.

É sabido que qualquer método de criopreservação pode afetar o perfil celular e molecular de embriões em diferentes espécies (FAIR *et al.*, 2001; VAJTA *et al.*, 1998). Muitos danos estruturais são relatados em embriões criopreservados, como: ruptura da membrana plasmática, cristas mitocondriais anormais, edema da matriz do retículo endoplasmático, baixo desenvolvimento dos desmossomos, redução do número de microvilos, desintegração das células de adesão entre as células do trofotoderma (FAIR *et al.*, 2001; VAJTA *et al.*, 1998). Dentre estes, foi relatado que os danos à membrana celular e fragmentação de DNA são as injúrias mais comumente causadas pela criopreservação (SUDANO *et al.*, 2012). Ambas estão associadas à redução do número total de células e ao desbalanço entre massa celular interna e trofoectoderma (GÓMEZ *et al.*, 2009; SUDANO *et al.*, 2012).

A regulação da expressão gênica de embriões bovinos permanece uma questão biológica não totalmente esclarecida e há evidências que embriões produzidos sob condições diferentes e/ou criopreservados apresentam alterações no perfil molecular (SUDANO *et al.*, 2014a). Aksu *et al.* (2012) compararam a expressão global de genes de embriões bovinos PIVE frescos e vitrificados e encontraram efeito da vitrificação sobre a expressão de genes. Da mesma forma, Sudano *et al.* (2014a) fizeram um estudo comparando embriões PIVE *Bos indicus* e *Bos taurus*, vitrificados e frescos e identificaram que o transcriptoma de ambas as subespécies foi afetado pela vitrificação.

Stinshoff *et al.* (2011) comparando a vitrificação utilizando um kit comercial (VetriStore Freeze®, Gynemed) com a criopreservação lenta, não encontraram efeito do método de criopreservação sobre as taxas de reexpansão, eclosão e número de células mortas. Entretanto, foi identificado que a criopreservação por ambos os métodos, causou alterações na expressão de alguns genes, quando comparados à expressão de genes de embriões não criopreservados. No entanto, expressão de IFNT2 foi afetada apenas pelo método tradicional de criopreservação,

levando os autores a concluir que a vitrificação parece ser o método mais favorável para a criopreservação de embriões produzidos *in vitro*.

Além disso, ao longo dos últimos anos, outro efeito que também tem sido relatado é que diferentes biotecnologias da reprodução, incluindo a criopreservação de gametas e embriões, podem modificar a correta reprogramação epigenética do embrião e seu desenvolvimento inicial (LUCIFERO *et al.*, 2004; NEWELL-PRICE; CLARK; KING, 2000).

Epigenética refere-se aos processos que regulam a atividade gênica, que não estão relacionados à sequência primária do DNA, mas podem ser herdáveis através de divisões celulares (LUCIFERO *et al.*, 2004). Em mamíferos, a correta reprogramação epigenética é essencial para o desenvolvimento embrionário, implantação do embrião (NEWELL-PRICE; CLARK; KING, 2000) e manutenção da gestação (LUCIFERO *et al.*, 2004). Dentre as modificações epigenéticas, pode-se citar modificações na metilação do DNA, modificações de histonas e ação de RNAs não codificadores (UYSAL; AKKOYUNLU; OZTURK, 2015). A metilação de DNA tem um papel chave na regulação transcricional de genes e importantes atividades celulares, que são estabelecidos através de atividades das DNA metiltransferases (UYSAL; AKKOYUNLU; OZTURK, 2015).

Na avaliação de blastocistos bovinos frescos e congelados, Maldonado *et al.* (2015) identificaram modificações na metilação das lisinas 4 (K4) e 27 (K27) tri-metiladas (m3) da histona H3. Níveis de H3K4m3 foram aproximadamente 20% inferiores, enquanto os níveis de H3K27m3 foram superiores em blastocistos bovinos congelados. Acredita-se que essas diferenças no processo de remodelação das histonas dos embriões PIVE frescos e congelados podem estar relacionados a alterações na expressão de genes, que por sua vez podem afetar o resultado de prenhez.

No entanto, em uma meta-análise publicada recentemente, Arshad *et al.* (2021), consideraram questões celulares, moleculares e epigenéticas, e identificaram que a vitrificação resultou em menor crioinjúrias, maior taxa de reexpansão, eclosão e sobrevivência embrionária *in vitro*, quando comparado a embriões submetidos à congelação lenta. No entanto, também observaram que a essa maior sobrevivência embrionária *in vitro* não refletiu em maior sobrevivência embrionária *in vivo*, após transferência dos embriões para fêmeas receptoras. Os autores sugerem que a vitrificação pode regular genes que aumentam a criotolerância, mas ao mesmo pode estar desregulando genes necessários à implantação e placentação. Além disso, a sobrevivência *in vivo* de embriões vitrificados pode ser exacerbada por mecanismos epigenéticos que regulam vias apoptóticas e necróticas no desenvolvimento fetal tardio. Por

outro lado, acreditam que embriões submetidos à congelação lenta podem revelar um perfil de transcritos diferente, com genes relacionados ao estresse celular sendo negativamente regulados, reduzindo a sobrevivência *in vitro*. Mas, com genes relacionados a implantação, placentação, esteroidogênese e diferenciação celular sendo positivamente regulados. Resultando em taxas de sobrevivência embrionária *in vivo* semelhantes após transferência dos embriões, independentemente do método de criopreservação utilizado. De um modo geral, os dados indicam que, independente, do método utilizado, embriões que sobrevivem à criopreservação, possuem capacidade semelhante de gerar uma prenhez.

4 FATORES QUE AFETAM A CRIOPRESERVAÇÃO

Todos os embriões sofrem consideráveis injúrias morfológicas e funcionais durante a criopreservação. Sendo que a extensão dos danos assim como as diferenças na sobrevivência e desenvolvimento após a criopreservação podem variar de acordo com diversos fatores, como por exemplo: método de congelamento, origem do embrião, estágio de desenvolvimento, ambiente de cultivo, entre outros.

4.1 ESTÁGIO DE DESENVOLVIMENTO E QUALIDADE DO EMBRIÃO

O estágio de desenvolvimento embrionário possui relação direta com a qualidade do embrião, sua capacidade de sobrevivência e estabelecimento da prenhez. Embriões PIVE frescos transferidos em D7, em estágios de blastocistos expandidos e em eclosão apresentaram maior índice de prenhez, quando comparados aos transferidos em estágios embrionários menos desenvolvidos como mórula, blastocisto inicial ou blastocisto. Além disso, blastocistos expandidos transferidos em D6 apresentaram taxas de prenhez superiores aos transferidos em D7. Esses resultados indicam que os embriões que se desenvolvem mais rapidamente são, possivelmente, de melhor qualidade e tem maior capacidade de estabelecer uma gestação (FLORENTINO *et al.*, 2013).

Em relação a embriões PIVE criopreservados, estágios de mórula inicial ou compacta resultaram em menores taxas de expansão e eclosão após o descongelamento, comparados aos estágios mais adiantados de desenvolvimento, como blastocistos (TOMINAGA, 2004) e blastocistos expandidos (FLORENTINO *et al.*, 2013).

Embora não exista um consenso geral sobre qual o melhor estágio de desenvolvimento embrionário para que os embriões sejam submetidos a criopreservação, resultados têm mostrado que os embriões de melhor qualidade, atingem estágio de desenvolvimento avançado mais rápido, apresentam maior número total de células, maior massa celular interna e, aparentemente, são mais propensos a sobreviver à criopreservação (CARROCERA *et al.*, 2016; GEORGE *et al.*, 2008; GRISART; MASSIP; DESSY, 1994; HOLM *et al.*, 1998; SAHA *et al.*, 1996).

Carvalho *et al.* (1996) avaliaram a taxa de sobrevivência de diferentes estágios de desenvolvimento de embriões produzidos *in vitro* e observaram que blastocistos expandidos (Bx) apresentaram maiores taxas de eclosão pós descongelação que blastocistos iniciais (Bi) e blastocistos (Bl). Sugerindo que o estágio de desenvolvimento destes embriões afetou o sucesso da congelação. Varago *et al.* (2006), semelhantemente, identificaram maior sobrevivência embrionária no cultivo pós desvitrificação de estruturas em estágios mais avançados. Neste estudo, os embriões Bx apresentaram maior taxa de sobrevivência quando comparados a Bl, produzidos *in vitro* (21,8% vs 4,7%; n = 64/grupo; respectivamente). Da mesma forma, Morató *et al.* (2010), avaliando a taxa de eclosão de embriões PIVE, nos estágios de blastocisto inicial, expandido e eclodido, após a vitrificação com *Cryotop*, observaram que os embriões mais avançados no desenvolvimento, apresentaram melhores taxas de eclosão em relação aos menos desenvolvidos.

No estudo de Abe *et al.* (1999) realizado com embriões ovinos produzidos *in vivo*, foi possível observar através da técnica de microscopia eletrônica que blastocistos possuíam menor número de gotas de lipídeos do que as mórulas, levando os autores a sugerir que esta característica possa ser a responsável pela menor criotolerância das mórulas.

Segundo Vajta (2000) a idade de embriões ovinos e bovinos vitrificados no estágio de blastocisto expandido é maior que no estágio de mórula devido a presença da blastocela conferir maior tolerância ao resfriamento. Além disso, alguns autores sugerem que a permeabilidade ao crioprotetor pode variar de acordo com o estágio de desenvolvimento embrionário. Sendo este, outro possível fator para explicar a diferente sensibilidade à congelação entre mórula e blastocisto (PEDRO *et al.*, 2005).

Esses resultados, em conjunto, indicam que a qualidade embrionária se refere não somente aos aspectos morfológicos e ao estágio de desenvolvimento, mas também à velocidade com que atinge determinado estágio. No entanto, de maneira geral, há um consenso entre diferentes estudos, de que os melhores resultados de taxas de prenhez em bovinos são

geralmente obtidos após a transferência de blastocistos expandidos em D7, sendo esses frescos ou criopreservados (SANCHES *et al.*, 2013).

4.2 SISTEMA *IN VITRO* DE CULTIVO EMBRIONÁRIO

Durante o desenvolvimento embrionário inicial, o ambiente tubárico fornece nutrientes, hormônios e fatores de crescimento até a chegada do embrião ao útero (HANNAN *et al.*, 2011). Esse cenário é muito diferente do ambiente de cultivo *in vitro*, uma vez que a concentração atmosférica de oxigênio usada (20%), a exposição excessiva dos gametas à luz, a ausência de enzimas antioxidantes do trato genital, a utilização de excessivos volumes de meios de cultivo, além da natureza estática do embrião durante o cultivo, promovem um acúmulo de ROS e toxinas no meio de cultivo, os quais afetam a qualidade e a criotolerância dos embriões produzidos *in vitro* (SMITH; MONTEIRO DA ROCHA, 2012). Além disso, o cultivo *in vitro* afeta o metabolismo embrionário induzindo uma mudança na quantidade, composição, tamanho e propriedade das gotas lipídicas. Acredita-se que esse acúmulo de lipídios pode ser devido a um aumento na síntese e/ou falha em usar os lipídios como fonte de energia pelas mitocôndrias (SUDANO *et al.*, 2014b).

Os efeitos do cultivo *in vitro* são evidenciados quando zigotos produzidos *in vitro* foram transferidos para a tuba uterina de uma receptora da espécie ovina, para serem cultivados *in vivo*. Esses embriões foram recuperados após 5 dias e, então, criopreservados. Os autores mostraram melhora na qualidade destes blastocistos quanto à criotolerância (taxas de sobrevivência e eclosão), comparados aos embriões produzidos e cultivados totalmente *in vitro* (RIZOS *et al.*, 2002b). Diversos estudos reforçam a hipótese de que as condições *in vitro*, nas quais os embriões são produzidos e cultivados, previamente à criopreservação, podem afetar a sobrevivência após o processo de criopreservação (NEDAMBALE *et al.*, 2004a; SANCHES *et al.*, 2016; SUDANO *et al.*, 2012).

Acredita-se que os embriões produzidos *in vitro* também possuam um perfil lipídico distinto, podendo ser este, mais um fator responsável por reduzir a criotolerância dos embriões *in vitro*. Foi proposto por Leão *et al.* (2015) que alteração no perfil lipídico pode aumentar a rigidez e reduzir a permeabilidade da membrana plasmática em embriões produzidos *in vitro*, tornando-os mais sensíveis à criopreservação. Por outro lado, também existem relatos na literatura documentando que as modificações da composição lipídica das membranas celulares podem melhorar a criopreservação (VIREQUE *et al.*, 2016). Isto sinaliza que, de fato, os

sistemas de cultivo *in vitro* podem influenciar o perfil lipídico e impactar na criotolerância embrionária.

Apesar de o conteúdo lipídico do embrião ter sido descrito como um componente celular importante que mantém a viabilidade celular durante o processo de criopreservação, é conhecido que o aumento desse conteúdo lipídico de forma mais acentuada na PIVE pode ser uma das razões para a baixa criotolerância (LÓPEZ-DAMIÁN *et al.*, 2018). O uso de soro fetal bovino como fonte proteica nos meios de cultivo embrionário *in vitro* tem sido indicado como um dos fatores responsáveis por esse aumento (ABE *et al.*, 2002; RIZOS *et al.*, 2003; SUDANO *et al.*, 2011). Outras fontes proteicas têm sido testadas em substituição ao soro fetal, na tentativa de se produzir embriões com melhor resistência a criopreservação (CAMARGO *et al.*, 2022).

O uso de soro fetal bovino nos meios de cultivo *in vitro* é bem estabelecido na literatura e apresenta resultados amplamente consistentes. Meios de cultivo utilizando soro fetal bovino proporcionam embriões que se desenvolvem mais rapidamente até o estágio de blastocistos e são, em sua maioria, considerados mais viáveis e com maior sobrevivência embrionária após a criopreservação (NEDAMBALE *et al.*, 2004b). No entanto, a eliminação ou redução de soro fetal bovino no meio de cultivo *in vitro* durante a fase inicial do desenvolvimento embrionário tem sido bastante investigada nos últimos anos e indicada como benéfica, possibilitando a produção de embriões com maior criotolerância e com bom potencial de desenvolvimento (SUDANO *et al.*, 2012). Os autores identificaram que embriões cultivados em meio utilizando o BSA como fonte de proteína, apresentaram maior taxa de sobrevivência após criopreservação, quando comparados aos cultivados em meio com soro fetal bovino. Resultados semelhantes também foram encontrados por Sanches *et al.* (2013), no qual embriões cultivados com soro apresentaram taxa de prenhez inferior, após vitrificação, comparados aos cultivados com BSA.

5 ESTRATÉGIAS PARA AUMENTAR A CRIOTOLERÂNCIA DOS EMBRIÕES PIVE

Diversas estratégias objetivando melhorar a qualidade dos embriões PIVE têm sido amplamente investigadas, a fim de alcançar processos de criopreservação bem-sucedidos. Uma das alternativas para solucionar os problemas da criotolerância de embriões PIVE, é a melhoria da qualidade do embrião. Neste aspecto, inclui-se modificações das condições de cultivo, que melhor mimetizem o microambiente *in vivo*, minimizando os efeitos do estresse oxidativo, tais como o cultivo sob atmosfera de baixa tensão de oxigênio, a adição de compostos antioxidantes

e outras moléculas regulatórias (NEDAMBALE *et al.*, 2006; PEREIRA; DODE; RUMPF, 2005).

É sabido que as elevadas quantidades de conteúdo lipídico e os altos índices de ROS produzidos durante o período de cultivo *in vitro* são alguns dos fatores mais danosos que determinam a ineficiência do embrião PIVE em termos de desenvolvimento e criotolerância (ABE *et al.*, 2002; BRADLEY; SWANN, 2019).

Para tanto, a adição de compostos antioxidantes no sistema *in vitro* de produção de embriões tem se tornado uma opção. Os antioxidantes podem ser compostos endógenos, tais como taurina, hipotaurina, L-carnitina, melatonina, ácido ascórbico, glutatona e cisteamina (SMITH; MONTEIRO DA ROCHA, 2012) ou ainda compostos naturais, obtidos de plantas medicinais, como os compostos fenólicos (YU *et al.*, 2014) e compostos antioxidantes, como cisteína, cisteamina, β -mercaptoetanol e cistina (FIDELIS *et al.*, 2020; TAKAHASHI *et al.*, 1993).

Estudos tem demonstrado que a adição de antioxidantes, como a melatonina, ao meio de maturação e cultivo melhora o desenvolvimento de embriões produzidos *in vitro* (LIANG; WANG; WANG, 2017; MARQUES *et al.*, 2021). A melatonina é um hormônio, que apresenta importante função agindo como um potente antioxidante (ZHANG; ZHANG, 2014). Além da sua ação direta na eliminação de radicais livres também atua aumentando a expressão gênica de enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase e glutatona (REMIÃO *et al.*, 2016). Desta forma, ao suplementar os meios de cultivo com melatonina, acredita-se ser possível melhorar a qualidade do blastocisto devido a redução da produção de ROS e supressão da apoptose celular durante o desenvolvimento embrionário (MARQUES *et al.*, 2018). Resultando em aumento da criotolerância e sobrevivência embrionária após desvitrificação/aquecimento.

Recentemente Marques *et al.* (2021) conseguiram aumentar a taxa de eclosão e a expressão do gene HSPA5, o qual está relacionado a uma proteína de choque térmico, ao associar duas estratégias: suplementação de melatonina no meio de cultivo e remoção do fluido da blastoclele previamente à vitrificação, realizada pelo método Cryotop. Além disso, vale ressaltar que os autores destacaram que os efeitos benéficos da melatonina estão ligados a melhoria da qualidade morfológica e viabilidade dos blastocistos no D7, bem como ao aumento da criotolerância e sobrevivência embrionária após aquecimento, independentemente da remoção do fluido da blastoclele.

Além dos antioxidantes, outras substâncias químicas podem ser utilizadas na tentativa de melhorar os resultados da criopreservação de embriões PIVE. Pode-se citar agentes

delipidantes ou lipolíticos, tais como Forskolin (PASCHOAL *et al.*, 2017; SANCHES *et al.*, 2013), L-carnitina (DIAS *et al.*, 2020; HELD-HOELKER *et al.*, 2017) e 10 α ,12c-CLA (PEREIRA *et al.*, 2007; TAKAHASHI *et al.*, 2013), os quais tem sido adotados no intuito de reduzir o conteúdo lipídico embrionário, e consequentemente melhorar a sobrevivência embrionária após a criopreservação.

Uma outra possível abordagem para melhorar a resistência de embriões PIVE à criopreservação é submetê-los a um estresse controlado e com isso aumentar mecanismos de defesa específicos. Isso foi testado, expondo-os a uma pressão hidrostática subletal (PRIBENSZKY *et al.*, 2005; SIQUEIRA FILHO *et al.*, 2011). Acredita-se que tal estratégia deva elevar atributos intrínsecos de competência de desenvolvimento a fim de superar estresses extrínsecos, tais como o processo de criopreservação.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Muitos estudos têm sido feitos em busca de melhorias nas taxas de sobrevivência de embriões PIVE à criopreservação. Muito foi alcançado, mas os resultados ainda estão muito aquém do ideal, são muito instáveis e difíceis de serem comparados devido à enorme variação que ocorre na PIVE, como por exemplo: meio de cultivo, suplementos, ambiente de cultivo, estágio de desenvolvimento, idade do embrião, tempo de cultivo pós-criopreservação. Além disso, outro grande desafio é que, na maioria dos estudos nesta área, o resultado é avaliado, principalmente, *in vitro* através das taxas de reexpansão e eclosão. No entanto, ainda não se sabe até que ponto esses parâmetros, avaliados *in vitro*, são eficientes em predizer a capacidade do embrião em estabelecer uma prenhez. Por outro lado, é sabido que estudos que avaliam a taxa de prenhez são onerosos e difíceis de serem executados a campo. Por essa razão, a busca por testes viáveis para uma avaliação mais precisa da qualidade do embrião tanto fresco, como também criopreservado, se faz essencial para a evolução das biotecnologias de PIVE e criopreservação. Além disso, pesquisas básicas ainda são extremamente necessárias para determinar: quais estruturas, quais vias metabólicas, quais mecanismos moleculares e epigenéticos são mais afetados pela criopreservação de embriões bovinos, independentemente do método de criopreservação utilizado.

7 REFERÊNCIAS

- ABE, H. *et al.* Accumulation of cytoplasmic lipid droplets in bovine embryos and cryotolerance of embryos developed in different culture systems using serum-free or serum-containing media. **Molecular Reproduction and Development**, v. 61, n. 1, p. 57–66, 2002.
- ABE, H. *et al.* Ultrastructure of bovine embryos developed from *in vitro*-matured and -fertilized oocytes: comparative morphological evaluation of embryos cultured either in serum-free medium or in serum-supplemented medium. **Molecular Reproduction and Development**, v. 53, n. 3, p. 325–335, 1999.
- AKSU, D. A. *et al.* Gene expression profiles of vitrified *in vitro*- and *in vivo*-derived bovine blastocysts: vitrified bovine embryo microarray analysis. **Molecular Reproduction and Development**, v. 79, n. 9, p. 613–625, 2012.
- ARSHAD, U. *et al.* Vitrification improves *in-vitro* embryonic survival in *Bos taurus* embryos without increasing pregnancy rate post embryo transfer when compared to slow-freezing: a systematic meta-analysis. **Cryobiology**, v. 101, p. 1–11, 2021.
- BARCELÓ-FIMBRES, M.; SEIDEL, G. E. Effects of fetal calf serum, phenazine ethosulfate and either glucose or fructose during *in vitro* culture of bovine embryos on embryonic development after cryopreservation. **Molecular Reproduction and Development**, v. 74, n. 11, p. 1395–1405, 2007.
- BRADLEY, J.; SWANN, K. Mitochondria and lipid metabolism in mammalian oocytes and early embryos. **The International Journal of Developmental Biology**, v. 63, n. 3–4–5, p. 93–103, 2019.
- CAMARGO, J. *et al.* Evaluation of a serum-free culture medium for the enhanced vitrification cryosurvival of bovine *in vitro*-derived embryos. **Livestock Science**, v. 260, p. 104922–10430, 2022.
- CARROCERA, S. *et al.* Developmental kinetics of *in vitro* –produced bovine embryos: an aid for making decisions. **Theriogenology**, v. 85, n. 5, p. 822–827, 2016.
- CARVALHO, R. V. *et al.* Survival rates and sex ratio of bovine IVE embryos frozen at different developmental stages on day 7. **Theriogenology**, v. 45, n. 2, p. 489–498, 1996.
- DATTENA, M. *et al.* Survival and viability of vitrified *in vitro* and *in vivo* produced ovine blastocysts. **Theriogenology**, v. 53, n. 8, p. 1511–1519, 2000.
- DIAS, L. R. O. *et al.* Effect of delipidant agents during *in vitro* culture on the development, lipid content, gene expression and cryotolerance of bovine embryos. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 55, n. 1, p. 11–20, 2020.
- DINNYÉS, A. *et al.* High developmental rates of vitrified bovine oocytes following parthenogenetic activation, *in vitro* fertilization, and somatic cell nuclear transfer¹. **Biology of Reproduction**, v. 63, n. 2, p. 513–518, 1 2000.

FAIR, T. *et al.* Ultrastructure of bovine blastocysts following cryopreservation: effect of method of blastocyst production. **Molecular Reproduction and Development**, v. 58, n. 2, p. 186–195, 2001.

FERRÉ, L. B. *et al.* Recent progress in bovine *in vitro*-derived embryo cryotolerance: Impact of *in vitro* culture systems, advances in cryopreservation and future considerations. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 55, n. 6, p. 659–676, 2020.

FIDELIS, A. A. G. *et al.* Ethanolic extract of dried leaves from the cerrado biome increases the cryotolerance of bovine embryos produced *in vitro*. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, p. 1–16, 22 2020.

FLORENTINO, C. *et al.* Pregnancy rates bovine recipients inovulated with in vitro produced IVP embryos in the Legal Amazon. *Journal of Animal Science Advances*, v. 3, n. 4, p. 1-9, 2013.

GEORGE, F. *et al.* Set up of a serum-free culture system for bovine embryos: embryo development and quality before and after transient transfer. **Theriogenology**, v. 69, n. 5, p. 612–623, 2008.

GÓMEZ, E. *et al.* Efficient one-step direct transfer to recipients of thawed bovine embryos cultured *in vitro* and frozen in chemically defined medium. **Theriogenology**, v. 146, p. 39–47, 2020.

GÓMEZ, E. *et al.* Vitrification of bovine blastocysts produced *in vitro* inflicts selective damage to the inner cell mass. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, n. 2, p. 194–199, 2009.

GRISART, B.; MASSIP, A.; DESSY, F. Cinematographic analysis of bovine embryo development in serum-free oviduct-conditioned medium. **Reproduction**, v. 101, n. 2, p. 257–264, 1994.

HANNAN, N. J. *et al.* Analysis of fertility-related soluble mediators in human uterine fluid identifies vegf as a key regulator of embryo implantation. **Endocrinology**, v. 152, n. 12, p. 4948–4956, 2011.

HELD-HOELKER, E. *et al.* Cryosurvival of *in vitro* produced bovine embryos supplemented with l -Carnitine and concurrent reduction of fatty acids. **Theriogenology**, v. 96, p. 145–152, 2017.

HOLM, P. *et al.* Developmental kinetics of the first cell cycles of bovine *in vitro* produced embryos in relation to their *in vitro* viability and sex. **Theriogenology**, v. 50, n. 8, p. 1285–1299, 1998.

INABA, Y. *et al.* In-straw cryoprotectant dilution for bovine embryos vitrified using cryotop. **Journal of Reproduction and Development**, v. 57, n. 4, p. 437–443, 2011.

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

- KUWAYAMA, M. Highly efficient vitrification for cryopreservation of human oocytes and embryos: the Cryotop method. **Theriogenology**, v. 67, n. 1, p. 73–80, 2007.
- LANE, M. *et al.* Vitrification of mouse and human blastocysts using a novel cryoloop container-less technique. **Fertility and Sterility**, v. 72, n. 6, p. 1073–1078, 1999.
- LEÃO, B. C. S. *et al.* Improved embryonic cryosurvival observed after *in vitro* supplementation with conjugated linoleic acid is related to changes in the membrane lipid profile. **Theriogenology**, v. 84, n. 1, p. 127–136, 2015.
- LIANG, J.; WANG, S.; WANG, Z. Role of microRNAs in embryo implantation. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 15, n. 1, p. 90–96, 2017.
- LOPATÁŘOVÁ, M. *et al.* Effect of vitrification in open pulled straws on survival of bovine embryos from superovulated cows. **Acta Veterinaria Brno**, v. 71, n. 1, p. 93–99, 2002.
- LÓPEZ-DAMIÁN, E. P. *et al.* Lipid droplets in clusters negatively affect *Bos indicus* embryos during cryopreservation. **Anatomia, Histologia, Embryologia**, v. 47, n. 5, p. 435–443, 2018.
- LUCIFERO, D. *et al.* Gene-specific timing and epigenetic memory in oocyte imprinting. **Human Molecular Genetics**, v. 13, n. 8, p. 839–849, 2004.
- MALDONADO, M. B. C. *et al.* Changes in tri-methylation profile of lysines 4 and 27 of histone H3 in bovine blastocysts after cryopreservation. **Cryobiology**, v. 71, n. 3, p. 481–485, 2015.
- MARQUES, T. C. *et al.* Blastocoel fluid removal and melatonin supplementation in the culture medium improve the viability of vitrified bovine embryos. **Theriogenology**, v. 160, p. 134–141, 2021.
- MARQUES, T. *et al.* Melatonin reduces apoptotic cells, SOD2 and HSPB1 and improves the *in vitro* production and quality of bovine blastocysts. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 53, n. 1, p. 226–236, 2018.
- MARTINO, A.; SONGSASEN, N.; LEIBO, S. P. Development into blastocysts of bovine oocytes cryopreserved by ultra-rapid cooling. **Biology of Reproduction**, v. 54, n. 5, p. 1059–1069, 1996.
- MASSIP, A. Cryopreservation of embryos of farm animals. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 36, n. 2, p. 49–55, 2001.
- MAZUR, P. Freezing of living cells: mechanisms and implications. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 247, n. 3, p. C125–C142, 1984.
- MORATÓ, R. *et al.* Cryotops versus open-pulled straws (OPS) as carriers for the cryopreservation of bovine oocytes: effects on spindle and chromosome configuration and embryo development. **Cryobiology**, v. 57, n. 2, p. 137–141, 2008.

- MORATÓ, R. *et al.* Survival and apoptosis rates after vitrification in cryotop devices of *in vitro*-produced calf and cow blastocysts at different developmental stages. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 22, n. 7, p. 1141–1148, 2010.
- MUCCI, N. *et al.* Effect of estrous cow serum during bovine embryo culture on blastocyst development and cryotolerance after slow freezing or vitrification. **Theriogenology**, v. 65, n. 8, p. 1551–1562, 2006.
- NEDAMBALE, T. L. *et al.* Bovine blastocyst development *in vitro*: timing, sex, and viability following vitrification1. **Biology of Reproduction**, v. 71, n. 5, p. 1671–1676, 2004b.
- NEDAMBALE, T. L. *et al.* Comparison on *in vitro* fertilized bovine embryos cultured in KSOM or SOF and cryopreserved by slow freezing or vitrification. **Theriogenology**, v. 62, n. 3–4, p. 437–449, 2004a.
- NEDAMBALE, T. L. *et al.* Higher survival rate of vitrified and thawed *in vitro* produced bovine blastocysts following culture in defined medium supplemented with β -mercaptoethanol. **Animal Reproduction Science**, v. 93, n. 1–2, p. 61–75, 2006.
- NEWELL-PRICE, J.; CLARK, A. J. L.; KING, P. DNA methylation and silencing of gene expression. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 11, n. 4, p. 142–148, 2000.
- NICACIO, A. C. *et al.* Effects of different cryopreservation methods on post-thaw culture conditions of *in vitro* produced bovine embryos. **Zygote**, v. 20, n. 2, p. 117–122, 2012.
- PALASZ, A. T.; MAPLETOFT, R. J. Cryopreservation of mammalian embryos and oocytes: recent advances. **Biotechnology Advances**, v. 14, n. 2, p. 127–149, 1996.
- PAPADOPOULOS, S. *et al.* Embryo survival and recipient pregnancy rates after transfer of fresh or vitrified, *in vivo* or *in vitro* produced ovine blastocysts. **Animal Reproduction Science**, v. 74, n. 1–2, p. 35–44, 2002.
- PAPIS, K.; SHIMIZU, M.; IZAIKE, Y. Factors affecting the survivability of bovine oocytes vitrified in droplets. **Theriogenology**, v. 54, n. 5, p. 651–658, 2000.
- PASCHOAL, D. M. *et al.* Cell apoptosis and lipid content of *in vitro*-produced, vitrified bovine embryos treated with forskolin. **Theriogenology**, v. 87, p. 108–114, 2017.
- PEDRO, P. B. *et al.* Permeability of mouse oocytes and embryos at various developmental stages to five cryoprotectants. **Journal of Reproduction and Development**, v. 51, n. 2, p. 235–246, 2005.
- PEREIRA, D. C.; DODE, M. A. N.; RUMPF, R. Evaluation of different culture systems on the *in vitro* production of bovine embryos. **Theriogenology**, v. 63, n. 4, p. 1131–1141, 2005.
- PEREIRA, R. M. *et al.* Cryosurvival of bovine blastocysts is enhanced by culture with trans-10 cis-12 conjugated linoleic acid (10t,12c CLA). **Animal Reproduction Science**, v. 98, n. 3–4, p. 293–301, 2007.

PRIBENSZKY, C. *et al.* Improving post-thaw survival of cryopreserved mouse blastocysts by hydrostatic pressure challenge. **Animal Reproduction Science**, v. 87, n. 1–2, p. 143–150, 2005.

RALL, W. F.; FAHY, G. M. Ice-free cryopreservation of mouse embryos at –196 °C by vitrification. **Nature**, v. 313, n. 6003, p. 573–575, 1985.

REMIÃO, M. H. *et al.* Melatonin delivery by nanocapsules during *in vitro* bovine oocyte maturation decreased the reactive oxygen species of oocytes and embryos. **Reproductive Toxicology**, v. 63, p. 70–81, 2016.

RIENZI, L. *et al.* Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. **Human Reproduction Update**, v. 23, p. 139–155, 2017.

RIZOS, D. *et al.* Analysis of differential messenger rna expression between bovine blastocysts produced in different culture systems: implications for blastocyst quality. **Biology of Reproduction**, v. 66, n. 3, p. 589–595, 2002b.

RIZOS, D. *et al.* Bovine embryo culture in the presence or absence of serum: implications for blastocyst development, cryotolerance, and messenger RNA expression1. **Biology of Reproduction**, v. 68, n. 1, p. 236–243, 2003.

RIZOS, D. *et al.* Consequences of bovine oocyte maturation, fertilization or early embryo development *in vitro* versus *in vivo*: Implications for blastocyst yield and blastocyst quality. **Molecular Reproduction and Development**, v. 61, n. 2, p. 234–248, 2002a.

SAHA, S. *et al.* Normal calves obtained after direct transfer of vitrified bovine embryos using ethylene glycol, trehalose, and polyvinylpyrrolidone. **Cryobiology**, v. 33, n. 3, p. 291–299, 1996.

SANCHES, B. V. *et al.* A new direct transfer protocol for cryopreserved IVF embryos. **Theriogenology**, v. 85, n. 6, p. 1147–1151, 2016.

SANCHES, B. V. *et al.* Cryosurvival and pregnancy rates after exposure of IVF-derived *Bos indicus* embryos to forskolin before vitrification. **Theriogenology**, v. 80, n. 4, p. 372–377, 2013.

SIQUEIRA FILHO, E. *et al.* Vitrification of bovine blastocysts pretreated with sublethal hydrostatic pressure stress: evaluation of post-thaw *in vitro* development and gene expression. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 23, n. 4, p. 585, 2011.

SMITH, G.; MONTEIRO DA ROCHA, A. Advances in embryo culture systems. **Seminars in Reproductive Medicine**, v. 30, n. 03, p. 214–221, 2012.

STINSHOFF, H. *et al.* Cryopreservation affects the quality of *in vitro* produced bovine embryos at the molecular level. **Theriogenology**, v. 76, n. 8, p. 1433–1441, 2011.

SUDANO, M. J. *et al.* Crucial surviving aspects for vitrified *in vitro* -produced bovine embryos. **Zygote**, v. 22, n. 2, p. 124–131, 2014b.

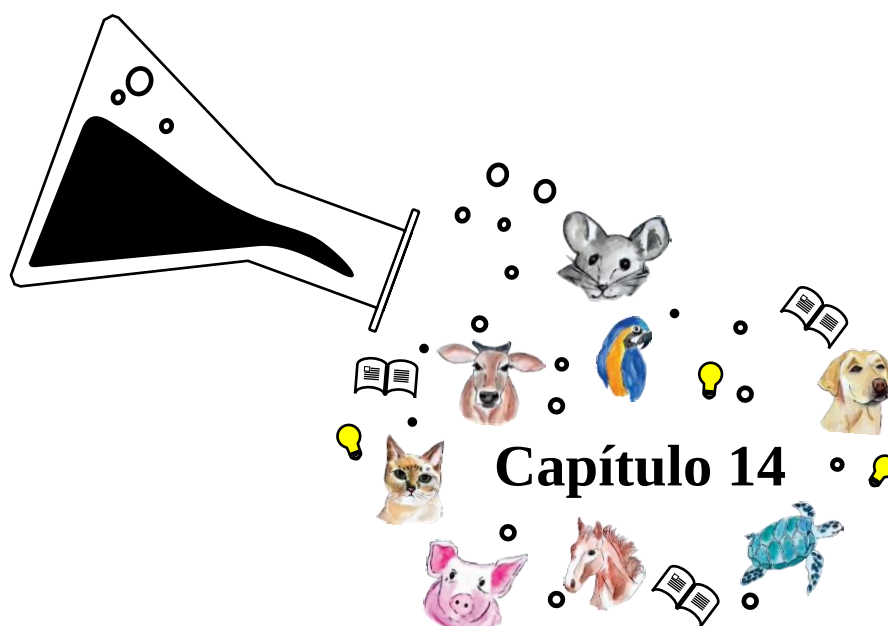
- SUDANO, M. J. *et al.* Cryotolerance and global gene-expression patterns of *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* *in vitro*- and *in vivo*-produced blastocysts. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 26, n. 8, p. 1129, 2014a.
- SUDANO, M. J. *et al.* Lipid content and apoptosis of *in vitro*-produced bovine embryos as determinants of susceptibility to vitrification. **Theriogenology**, v. 75, n. 7, p. 1211–1220, 2011.
- SUDANO, M. J. *et al.* Phosphatidylcholine and sphingomyelin profiles vary in *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* *in vitro*- and *in vivo*-produced blastocysts. **Biology of Reproduction**, v. 87, n. 6, p. 1-11, 2012.
- TAKAHASHI, M. *et al.* Effect of thiol compounds on *in vitro* development and intracellular glutathione content of bovine embryos. **Biology of Reproduction**, v. 49, n. 2, p. 228–232, 1993.
- TAKAHASHI, T. *et al.* Supplementation of culture medium with L-carnitine improves development and cryotolerance of bovine embryos produced *in vitro*. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 25, n. 4, p. 589, 2013.
- TOMINAGA, K. Cryopreservation and sexing of *in vivo*- and *in vitro*-produced bovine embryos for their practical use. **Journal of Reproduction and Development**, v. 50, n. 1, p. 29–38, 2004.
- UYSAL, F.; AKKOYUNLU, G.; OZTURK, S. Dynamic expression of DNA methyltransferases (DNMTs) in oocytes and early embryos. **Biochimie**, v. 116, p. 103–113, 2015.
- VAJTA, G. *et al.* Open pulled straw (OPS) vitrification: a new way to reduce cryoinjuries of bovine ova and embryos. **Molecular Reproduction and Development**, v. 51, n. 1, p. 53–58, 1998.
- VAJTA, G.; KUWAYAMA, M. Improving cryopreservation systems. **Theriogenology**, v. 65, n. 1, p. 236–244, 2006.
- VAJTA, G.; NAGY, Z. P. Are programmable freezers still needed in the embryo laboratory? Review on vitrification. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 12, n. 6, p. 779–796, 2006.
- VAJTA, G. Vitrification of the oocytes and embryos of domestic animals. **Animal Reproduction Science**, v. 60–61, p. 357–364, 2000.
- VARAGO, F. C. *et al.* Vitrification of *in vitro* produced Zebu embryos. **Animal Reproduction**, v.3, p. 353-358, 2006.
- VIANA, J. H. M. A pandemia e o mercado de embriões. **Jornal O Embrião**, v. 1, p. 12 - 18, 2021.
- VIREQUE, A. A. *et al.* Effects of n-6 and n-3 polyunsaturated acid-rich soybean phosphatidylcholine on membrane lipid profile and cryotolerance of human sperm. **Fertility and Sterility**, v. 106, n. 2, p. 273- 283, 2016.

WHITTINGHAM, D. G.; LEIBO, S. P.; MAZUR, P. Survival of mouse embryos frozen to -196° and -269°C. **Science**, v. 178, n. 4059, p. 411–414, 27, 1972.

WILMUT, I.; ROWSON, L.E. Experiments on the low-temperature preservation of cow embryos. **The Veterinary Record**, v. 92, p. 686- 690, 1973.

YU, S. *et al.* Protective effect of quercetin on the development of preimplantation mouse embryos against hydrogen peroxide-induced oxidative injury. **PLoS ONE**, v. 9, n. 2, p. 1–9, 2014.

ZHANG, H. M.; ZHANG, Y. Melatonin: a well-documented antioxidant with conditional pro-oxidant actions. **Journal of Pineal Research**, v. 57, n. 2, p. 131–146, 2014.



Lesões não neoplásicas em olhos de aves: enfoque nos sinais clínicos e na histopatologia

Márcio Phillip Andrade Correia ¹
Thaís Gonçalves Tavares ²
Matheus Joaquim dos Santos Candido ³
Amanda Azevedo Assis ⁴
Débora Cantarin Neiva ⁵
Emerson Alex Oliveira Souza ⁶
Henrique Jordem Venial ⁷
Maria Aparecida da Silva ⁸
Jankerle Neves Boeloni ⁹

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: phillipandreadec@outlook.com

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

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mcandido0352@gmail.com

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

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: deboranei97@gmail.com

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

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

⁸ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mvmariaaparecida@gmail.com

⁹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: jarkerle@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

A produção avícola é um dos segmentos da pecuária que possui grande representatividade no cenário nacional e internacional, sendo que o Brasil se destaca no *ranking* mundial de carne de frango como maior exportador e terceiro maior produtor, além de se destacar na produção de ovos estando entre os dez primeiros colocados. Ainda, o consumo *per capita* dos produtos oriundos da avicultura, supera os valores registrados dos demais produtos de origem animal. A coturnicultura no Brasil, especialmente, a produção de ovos, tem crescido ao longo dos anos e garantindo também, sua importância no impacto socioeconômico das regiões (ABPA, 2022; FAO, 2020; IBGE, 2020).

É notável que os galináceos indiscutivelmente possuem o maior efetivo entre os rebanhos de animais no país, totalizando mais de 1 bilhão de cabeças (IBGE, 2020). Devido a esta característica de alta densidade nas regiões produtivas e nos aviários, a susceptibilidade à disseminação de enfermidades entre as aves, torna-se um fato, e metodologias de diagnóstico, são cruciais para controle e manutenção dos excelentes índices produtivos. Baseado nas repercussões sistêmicas que as doenças podem causar, o estudo das alterações oculares é uma ferramenta engenhosa para estabelecer a patogenia do microrganismo e futuras metodologias de controle (EMBRAPA, 2004).

O bulbo ocular, compõe o sistema visual e exerce função primordial na captação de luminosidade, conversão de imagem em estímulos nervosos, análise das características do ambiente e intercomunicação com outros sistemas orgânicos para estímulo de atividades, como o endócrino, essencial para o desenvolvimento e manutenção dos aspectos reprodutivos (UEMURA, 2017). Somado a importância fisiológica deste órgão para as aves, a avaliação anatomopatológica dos olhos, é um recurso útil para determinar lesões primárias, como neoplasias ou repercussões de outras enfermidades, como distúrbios metabólicos/irritativos, doença de Newcastle, metapneumovírus, laringotraqueíte infecciosa, encefalomielite, salmonelose, colibacilose, pasteurelose, aspergilose, além de neoplasia secundária causada pelo vírus da doença de Marek (BORDIN, 2020).

Outro aspecto relevante é que esse sentido das aves, é muito bem desenvolvido e vital à sua sobrevivência, uma vez que implica até mesmo na obtenção de alimento, direcionamento do voo, observação de predadores e evasão de traumas. Pequenas alterações neste órgão, podem, portanto, levar a repercussão drástica na saúde e bem-estar desse animal, culminando

até mesmo com improdutividade, para os animais de produção, e óbito (PIÑEIRO; BERT, 2011).

Devido à grande relevância da criação e comercialização avícola e controle/diagnóstico das doenças em aves, bem como os órgãos afetados durante o curso de uma doença, objetiva-se com este trabalho, descrever as lesões não neoplásicas em olhos de aves, com enfoque nos sinais clínicos e na histopatologia.

2 ASPECTOS ESPECIAIS DA VISÃO DAS AVES

A capacidade de visão das aves excede em muito a dos mamíferos, podendo ter visão mais distante, aguda de duas a oito vezes maior que a do homem normal com potencial de detecção de movimento de 10 a 15 vezes maior, podendo também apreciar cores que são vetadas para os olhos humanos. Em seres humanos, o peso médio do bulbo ocular é de 1% em relação ao peso total do crânio, enquanto em aves essa proporção é muito maior para algumas aves como o avestruz, chegando a 7 a 12% (SISINNO; OLIVEIRA-FILHO, 2021).

Assim como em outras espécies, as aves possuem a terceira pálpebra ou membrana nictitante, porém, diferente de outras espécies, elas não possuem a glândula de meibômio (GARGIULO, 2015). Ainda sobre as pálpebras, outra diferença importante são as filoplumas presentes nelas e são cílios modificados responsáveis pela função tátil e de proteção do olho (RODARTE-ALMEIDA *et al.*, 2013).

A retina é a camada mais interna do bulbo ocular e na maior parte tem função de fotorreceptor. Nas aves o *tapetum lucidum* não é tão bem desenvolvido, com exceção da ave *Caprimulgus europaeus* (CANDIOTO, 2011). A retina é avascular, permanentemente nutrida pela membrana corioide. Na corioide estão presentes células especializadas para a recepção da luz, estas são classificadas por sua forma em bastonetes e cones, sendo a presença dessas células variável em quantidade conforme os hábitos de vida da ave (MORIJO; OLIVEIRA; MANSANO, 2020). As aves possuem ainda o pecten que é uma membrana vascularizada fixa ao nervo óptico para o qual ainda não se sabe a função (BACHA JÚNIOR; BACHA, 2003).

O bulbo ocular das aves tem formato cônico e apresenta como particularidade ser mantido pela cartilagem hialina que se localiza na esclera e por ossículos esclerais que variam em quantidade de 10 a 18 ossículos formando o anel esclerótico (GARGIULO, 2015; RODARTE-ALMEIDA, 2013).

3 HISTOLOGIA DOS OLHOS DE AVES

A córnea possui papel fundamental na manutenção das funções de outras estruturas oculares, dentre algumas, encontram-se a manutenção da geometria do olho, pressão intraocular e refração da luminosidade. Sua atividade é intrinsecamente relacionada a sua transparência, que por sua vez, é dependente da relativa acelularidade, arranjo de fibrilas de colágenos estromais, matriz extracelular e ausência de vasos sanguíneos (GUM; MACKAY, 2013; OFRI, 2013a). O tecido corneal compõe uma das três camadas concêntricas do olho, a túnica fibrosa, e é a porção mais externa do bulbo ocular, sendo a camada de maior contato com o ambiente externo. Apresenta-se levemente curvada, sendo dividida histologicamente em cinco regiões: epitélio anterior (porção em contato com o filme lacrimal), membrana de Bowman, estroma, membrana de Descemet e epitélio posterior/endotélio (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017; UEMURA, 2017).

O epitélio anterior, possui de cinco a seis camadas de células epiteliais e é dotado de inúmeras terminações nervosas, resultando em alta sensibilidade da região, podendo também ser observado em corte histológico, mitoses na camada basal, o que representa alta capacidade de regeneração (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017). A membrana de Bowman, por sua vez, possui fundamental contribuição na garantia da resistência da córnea, devido à sua constituição de fibras colágenas delgadas cruzadas em todos os sentidos, além de caracterizar-se, por sua homogeneidade, transparência e acelularidade. O estroma, possui fibroblastos imersos entre variadas fibras de colágeno e substância fundamental, contendo glicoproteínas e sulfato de condroitina, podendo ser observado linfócitos, além disso, essa porção do estroma é a de maior espessura na córnea. A membrana de Descemet, localizada entre o estroma e o endotélio, contém fibrilas colágenas organizadas como uma rede tridimensional. Posteriormente, em contato com a câmara anterior, encontra-se o epitélio posterior (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

O cristalino ou lente é uma estrutura sólida, biconvexa e de coloração transparente, que apresenta grande elasticidade, por ser constituído basicamente de colágeno disposto de maneira lamelar, mas que diminui progressivamente de acordo com a idade. Ele se encontra fixado e suspenso no meio das câmaras anterior e posterior do bulbo ocular por um sistema de ligamentos suspensores (ligamentos zonulares) ao corpo ciliar. Caracteriza-se ainda pela ausência de vascularização/inervação e através do humor aquoso e do humor vítreo que obtém nutrição e elimina resíduos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017; MYRNA, 2019). O cristalino

é dividido nas aves em coxim anular e corpo lenticular, o coxim anular forma um anel externo com fibras lenticulares dispostas de forma radial ao redor do equador do corpo lenticular. Ainda sobre o coxim, ele é formado por fibras lenticulares dispostas radialmente com núcleos na periferia. No corpo lenticular, as fibras lenticulares se orientam de forma paralela ao nervo óptico e encontram-se alguns núcleos localizados próximos ao coxim anular (BACHA JÚNIOR; BACHA, 2003).

Na avaliação histológica da coroide, que é um revestimento vascularizado espesso, é possível observar pigmento abundante em aves diurnas e ausência ou pouco pigmento em aves noturnas. Essa estrutura pode apresentar diferenças entre as espécies aviárias, como ter aderência maior ou menor à área interna da esclera e possuir o *tapetum* mais ou menos desenvolvido (CANDIOTO, 2011).

As aves também possuem corpo ciliar e sua íris é mais espessa acima de sua base e vai afunilando em direção à margem pupilar, mas no geral é semelhante à dos mamíferos, bem como o estroma. No entanto, a íris das aves é constituída por fibras musculares estriadas e lisas, diferente dos mamíferos que são constituídas apenas por fibras musculares lisas. Essa característica histológica torna difícil a avaliação do reflexo pupilar nesses animais, pois permite o controle voluntário da íris (BARRON *et al.*, 2018).

A retina, apesar de também ter dez camadas e ser avascular, as células pigmentares são muito diferentes das dos mamíferos, uma vez que são altas e estreitas ao invés de cuboides (BACHA JÚNIOR; BACHA, 2003).

Sendo formado a partir do disco óptico para o interior do bulbo ocular em direção ao corpo vítreo há o pécten, uma projeção tecidual encontrada em quase todas as aves, que é extremamente vascularizada e possui grande quantidade de pigmento (GARGIULO, 2015). O ângulo de filtragem das aves também possui diferenças histológicas dos mamíferos, isso porque existe uma rede de trabéculas originadas a partir do ligamento pectinado e rede trabecular escleral. A membrana nictitante das aves é bem desenvolvida. Sobre as glândulas, a lacrimal é tubular e pequena, se localiza na região caudal da pálpebra inferior e produz secreção mucosa. Outra glândula que merece ser mencionada é a de Harder, que é maior e se localiza na região superior dorsal do olho e tem como característica grande quantidade de plasmócitos ao redor das unidades secretoras tubulares (BACHA JÚNIOR; BACHA, 2003).

Visando demonstrar de forma mais didática a histologia dos olhos das aves, foi elaborado a Figura 1. que ilustra as estruturas anatômicas dos olhos desses animais.

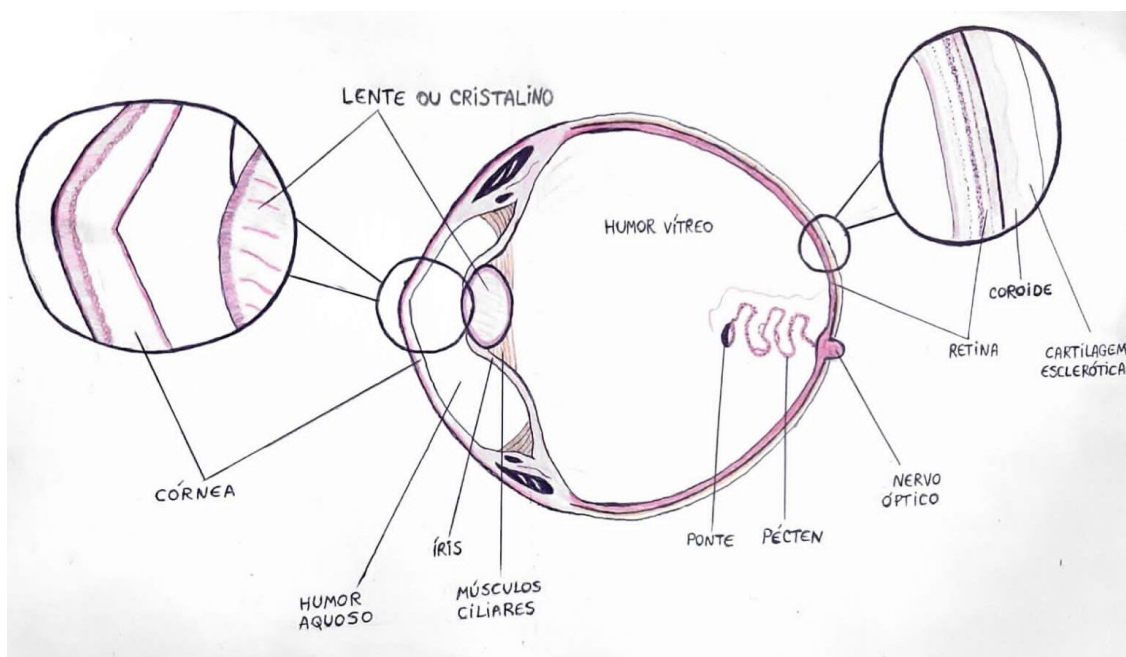


Figura 1 – Desenho esquemático representando as estruturas anatômicas dos olhos das aves.
Fonte: Os autores.

4 DOENÇAS QUE ACOMETEM OS OLHOS DE AVES

4.1 PÁLPEBRA E CONJUNTIVA

A região da pálpebra e conjuntiva podem ser acometidas por diversas enfermidades e dentre elas, uma das mais comuns é a blefarite. Essa alteração é a inflamação da pálpebra que normalmente apresenta como sinais clínicos edema periocular local ou difuso associado a hiperemia. A etiologia dessa doença pode ser variável, podendo ser de origem traumática, como causada por choque agudo ou pela presença de algum corpo estranho irritante, ou pode ser de origem infecciosa, causada pela bactéria *Staphylococcus aureus*, que normalmente é acompanhada de secreção local (COSTA, 2021; DIAS *et al.*, 2019). Aves de rapina silvestres, como gaviões, são alguns exemplos de aves relatadas na literatura acometidas por esta enfermidade (COSTA, 2021). Segundo Bernardes Filho *et al.* (2013), a histopatologia da blefarite é apresentada por infiltrado linfo-histiocitário perivascular e intersticial, acantose, ectasia de vênulas e capilares na derme papilar e média.

A conjuntiva é a película presente no espaço entre a superfície interna das pálpebras e a anterior do bulbo ocular (FARIAS *et al.*, 2019). É uma das regiões oculares nas aves onde mais acontecem enfermidades, isso porque seu epitélio é altamente vascularizado, o que o torna sensível a agentes etiológicos e mais propício a responder aos traumas, que são comuns nessa

região (COSTA, 2021; PIÑEIRO; BERT, 2011). Os sinais clínicos que as aves normalmente apresentam nessas situações de traumas são quemose, secreção ocular serosa ou mucopurulenta, hiperemia conjuntival e blefarospasmo (WILLIAMS, 2012).

A inflamação da conjuntiva é denominada conjuntivite. A conjuntivite pode ter origem traumática, normalmente associada com contusão, objetos afiados, garras, corpo estranho provocando traumatismo abrasivo, como praganas, e por fim, pode ser originada por substâncias irritantes presentes no ambiente ou ainda por extensão de outras lesões como catarata e uveíte (COSTA, 2021).

Além da etiologia traumática, infecções de diversas origens, como virais, bacterianas, parasitárias e fúngicas podem causar conjuntivite nas aves (CARDOSO; TESSARI, 2015).

Uma dessas doenças é a aspergilose aviária causada pelo fungo do gênero *Aspergillus* que pode ser contraída por meio da presença de esporos fúngicos no meio ambiente, durante a fase de incubatório ou no período de produção (CARDOSO; TESSARI, 2015; PIÑEIRO; BERT, 2011). Nesse caso, ocorre a conjuntivite com o acúmulo de exsudato caseoso na região orbital. As principais fontes de contaminação da aspergilose são a ração, a cama e as instalações úmidas e com mofo, acometendo diversos grupos de aves como aves silvestres, galinhas, pinguins, perus, gansos, patos (FISCHER; SOUZA; BERSELLI, 2012).

Das enfermidades bacterianas, uma que pode causar conjuntivite é a micoplasmose aviária, conhecida como “doença crônica respiratória” que é causada pela bactéria *Mycoplasma gallisepticum* e tem grande importância na veterinária, afetando principalmente galinhas e frangos (CARDOSO; TESSARI, 2015; JAENISCH, 2022). Essa doença pode ser transmitida tanto da matriz para a progênie, quanto entre aves de diferentes idades. Os sinais clínicos na fase inicial desta enfermidade são: conjuntivite com presença de exsudato, muco catarral, espirros, dificuldade respiratória, entre outros sintomas (CARDOSO; TESSARI, 2015). A adoção de medidas rígidas de biossegurança e a aquisição de aves livres desta doença estão entre as formas de profilaxia que devem ser adotadas (JAENISCH, 2022).

Outra enfermidade de origem bacteriana relatada como causadora de conjuntivite é a coriza infecciosa. Trata-se de doença respiratória altamente contagiosa, aguda, subaguda ou crônica, que acomete o trato respiratório superior das aves de diferentes idades e tem como agente etiológico *Avibacterium paragallinarium* (*Haemophilus paragallinarum*) (CARDOSO; TESSARI, 2015; JAENISCH, 2022; PIÑEIRO; BERT, 2011). Esta doença afeta aves domésticas, principalmente aves poedeiras comerciais localizadas em plantéis com condições de higiene e biossegurança inadequadas. Os principais sinais clínicos desta patologia são

edema facial, conjuntivite catarral, corrimento nasal, espirros e barbelas inchadas, além da drástica diminuição de produção de ovos, causando grande impacto econômico para o produtor (CARDOSO; TESSARI, 2015; JAENISCH, 2022). A conjuntivite é uma lesão comumente associada às enfermidades do sistema respiratório em aves (JAENISCH, 2022).

A respeito das doenças de origem viral, elas podem ocorrer de forma direta ou indireta no sistema visual, trazendo complicações para a ave principalmente na busca de alimentos. As enfermidades virais mais comuns em aves que causam conjuntivite são a varíola, causada pelo patógeno do gênero *Ortopoxvírus*, doença de Newcastle e a doença de Marek (PIÑEIRO; BERT, 2011). A doença de Newcastle é causada por um grupo de vírus pertencentes à família Paramyxoviridae, é altamente contagiosa e acomete aves de todas as idades. Além da conjuntivite, outros sinais clínicos são espirros, dificuldade em respirar, inchaço na cabeça, diminuição na produção de ovos, diarreia com presença de sangue, morte súbita, paralisia de penas e asas, incoordenação e torcicolo (CARDOSO; TESSARI, 2015). Vacinas são recomendáveis para a prevenção desta doença que pode acometer quase todas as aves, contudo as aves comerciais e domésticas são as mais susceptíveis (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

Com relação às doenças parasitárias, alguns agentes apresentam parte do seu ciclo de vida na mucosa conjuntival da ave, e podem se locomover nas lágrimas produzidas, causando assim grande irritação nessa região, levando à conjuntivite. Alguns exemplos de parasitos que migram para a conjuntiva são os nematodos *Oxyspirura mansonii*, *Philophthalmus* sp., *Ceratospira inglisi* e *Thelazia* sp. (PIÑEIRO; BERT, 2011). Foi registrado blefaroconjuntivite nos dois olhos de uma ave, causada pelo parasito *Trichomonas* sp. (COSTA, 2021). Ademais, o protozoário do gênero *Cryptosporidium* que causa a criptosporidiose também acomete a conjuntiva de diversas aves, causando conjuntivite (TAYLOR; COOP; WALL, 2016). A blefarite e a conjuntivite podem ocorrer conjuntamente, sendo inclusive a apresentação clínica mais comum, nesse caso, a patologia é chamada de blefaroconjuntivite (BAYÓN, 2016; PIÑEIRO; BERT, 2011).

4.2 BULBO OCULAR

Dentre as doenças que podem acometer o bulbo ocular tem-se a proptose, também chamada de exoftalmia, que consiste na protrusão do bulbo ocular para fora da órbita ocular, levando ao encarceramento do olho e suas estruturas, pelas pálpebras. Essa alteração tem como causas: infecções primárias, traumas (PESSOA; NORBERTO, 2016) e infecções secundárias,

como em casos de sinusite, devido à proximidade da órbita ocular com o seio infraorbital das aves (WILLIAMS, 2012).

As aves com proptose podem apresentar sinais clínicos como edema, dor, irritação e inquietação. O tratamento imediato, quando não há comprometimento das estruturas oculares e quando é possível agir rapidamente, consiste em reposição do bulbo ocular no seu local anatômico, preservando assim a visão do paciente. Entretanto, quando há comprometimento dessas estruturas, é necessária intervenção cirúrgica, para realizar a enucleação, promovendo assim o bem-estar animal (PESSOA; NORBERTO, 2016). Todavia, em aves a enucleação deve ser bem analisada, pois na maioria das aves os bulbos oculares ocupam grande parte do crânio, uma vez realizada a remoção de um olho, pode levar ao desequilíbrio do paciente. Além disso, a técnica de enucleação nesses animais é mais difícil, em decorrência da característica anatômica, que são os ossículos esclerais, que estão localizados atrás do limbo, que possuem a função de sustentação do bulbo ocular e melhor acomodação dos músculos (WILLIAMS, 2012).

4.3 CÓRNEA

As afecções observadas na córnea de aves domésticas, possuem origem principalmente viral, bacteriana, fúngica e parasitária, que isoladamente ou concomitantemente, tem promovido alterações importantes nessa estrutura ocular (DALTON; AINSWORTH, 2011; DUNHAM *et al.*, 2016; OKWOR; EZE; CHAH, 2014; YAMAMOTO *et al.*, 2016).

A infecção por *Avipoxvirus*, agente causador da boubia aviária, além de sinais clínicos sistêmicos, são verificadas na forma cutânea e/ou diftérica da doença, aves com cegueira uni ou bilateral devido a blefarite, descarga ocular/conjuntivite e opacidade de córnea devido a ceratite. Na microscopia, infiltrado inflamatório predominantemente heterofílico em câmara anterior e limbo corneano, que se estende ao epitélio conjuntival, é o principal achado (GÜLBAHAR; ÇABALAR; BOYNUKARA, 2005; OKWOR; EZE; CHAH, 2014). Em infecções mistas causadas pelo *Avipoxvirus*, *Staphylococcus* spp. e *Escherichia coli*, observa-se também deposição de material caseoso na superfície da córnea (OKWOR; EZE; CHAH, 2014).

Apesar da influenza aviária nunca ter sido registrada no Brasil, estudos estrangeiros, com destaque para a região do sudoeste asiático têm demonstrado lesões ocasionadas pelo vírus, principalmente opacidade uni e/ou bilateral da córnea e mais raramente exoftalmia bilateral e

ulceração corneana (YAMAMOTO *et al.*, 2016). A opacidade de córnea demonstrou ser proporcional a doses mais altas de inoculação do vírus e a origem desta alteração, pode ter relação com a alta produção de anticorpos contra a enfermidade, pois no estudo de Yamamoto *et al.* (2016), aves que não desenvolveram opacidade corneana, não tiveram o registro de produção de anticorpos. A histopatologia de patos infectados, revelou perda do endotélio corneano, subsequente infiltrado inflamatório heterofílico e edema no estroma corneano. Com o curso da enfermidade, verificou-se alternância do padrão celular da inflamação, predominando células plasmáticas, linfócitos e macrófagos, acompanhado de hipertrofia de células estromais da córnea e restos celulares. Também foi observado acima da membrana de Descemet, fibroblastos, considerados ceratócitos ativados, relacionando-o à perda do endotélio corneano. Na forma mais avançada da doença, pode ainda ser observado, vacuolização e hiperplasia epitelial, necrose focal a difusa da córnea, calcificação da membrana de Bowman e infiltrado heterofílico no estroma (YAMAMOTO *et al.*, 2016).

Infecção ocular compatível com fungo do gênero *Aspergillus* foi reportado em perdizes por Dalton e Ainsworth (2011). Essas aves apresentavam aumento de volume facial, especialmente ao redor dos olhos e sinais de epífora, com consequente redução intensa da fissura orbital e letargia. Durante o exame necroscópico, a partir da secção das pálpebras, foi evidente a presença de material caseoso aderido à córnea. Além da presença do fungo, confirmou-se pelo exame microbiológico a presença de *E. coli* não hemolítica. Entre a pálpebra e córnea, foi observado na histopatologia, acúmulo de fibrina e granulócitos, com presença de hifas fúngicas ramificadas e septadas e grumos bacterianos. Além disto, nas bordas externas da inflamação, havia células multinucleadas. No limbo corneano evidenciou-se ceratite com células inflamatórias degeneradas, que se espalhavam até o centro da córnea (DALTON; AINSWORTH, 2011).

Dentre as causas de injúrias oculares causadas por parasitos, destacam-se infecções por *Oxyspirura petrowi* em codornas. Além do desenvolvimento de lesões na glândula de Harder, somente a presença do helminto na glândula lacrimal, de Harder, membrana nictitante, conjuntiva bulbar, fórnice da conjuntiva e ducto nasolacrimal, foi capaz de causar opacidade de córnea, erosões epiteliais e edema corneano (DUNHAM *et al.*, 2016).

4.4 ÚVEA

A úvea, conhecida também como túnica vascular, é responsável por fornecer oxigênio e suporte nutricional para a retina (DYCE; SACK; WENSING, 2010). Em relação as lesões, a úvea, a córnea e a lente são as principais estruturas afetadas em olhos de aves. Sendo a uveíte a doença mais comumente encontrada, tendo como causas: traumas, causas desconhecidas, doenças sistêmicas, parasitárias, bacterianas, neoplásicas, virais e autoimunes e secundárias a doenças que acometem o cristalino (HVENEGAARD *et al.*, 2009). Os sinais clínicos vão variar de acordo com a causa e intensidade da inflamação, variando de graus mais brandos até graus mais graves, como acúmulo de exsudato purulento e/ou hemorrágico (WILLIAMS, 2012). A uveíte também pode predispor ao desenvolvimento de glaucoma em aves (DAVIS *et al.*, 2015).

O desenvolvimento primário de glaucoma nesses animais é raro, embora o humor aquoso seja mais viscoso nessa espécie, a angulação do ângulo iridocorneano pode ajudar a prevenir o desenvolvimento dessa doença nesses animais (DAVIS *et al.*, 2015). Dentre os sinais clínicos que as aves com glaucomas podem apresentar, destaca-se midríase, buftalmia, congestão difusa episcleral e pressão intraocular acima de 7,1 mmHg. No histopatológico do glaucoma primário em aves é possível observar alteração no ângulo iridocorneano, displasia de área trabecular com fibras longas, pigmentação da retina e diminuição no número de fotorreceptores (RAYMENT; WILLIAMS, 1997). Embora os relatos em aves sejam raros, foi observado em aves de rapina, galinhas de criação e em um exemplar de canário num estudo que avaliou parâmetros clínicos oftalmológicos em aves. Essa patologia ocorre mais comumente de forma secundária à inflamação crônica associada a sinéquia ou deslocamento do cristalino (PIÑEIRO; BERT, 2011).

Entre as alterações de íris de aves estão as sinéquia anterior (aderência da íris a córnea) e sinéquia posterior (aderência da íris ao cristalino), comprometendo a capacidade de miose e midríase nesses animais (GARGIULO, 2015). As causas de sinéquias em aves podem ser traumatismos oculares e/ou uveítes (SERUCA *et al.*, 2012).

4.5 CRISTALINO

Em aves existem diversas lesões oculares que podem acometer o cristalino como: luxação, subluxação, esclerose e catarata. No geral, as doenças oculares que acometem o cristalino possuem inúmeras causas, sendo algumas delas traumáticas, infecções virais, bacterianas, micóticas, parasitárias, deficiências nutricionais e afecções congênitas (COSTA,

2021). A luxação acontece quando se tem a ruptura total das fibras zonulares que fazem a sustentação do cristalino e a subluxação ocorre quando apenas algumas dessas fibras se rompem, isso leva ao deslocamento total ou parcial da lente, respectivamente. Essa luxação pode ser tanto anterior quanto posterior dependendo para qual câmara a lente irá se deslocar. A principal causa tanto de luxação quanto de subluxação são os traumatismos oculares, mas pode ser também secundária a outras doenças, como uveíte, catarata, glaucoma e tumores intraoculares. Clinicamente, caso a luxação seja para câmara anterior, observa-se fibrilas vítreas, alterações na profundidade da câmara anterior e na curvatura da íris, e iridodonesse, que é a ondulação da íris por falta de apoio no cristalino. Além disso, gera bastante dor e tem a possibilidade de desenvolver outras doenças oculares, como descolamento de retina (caso ocorra deslocamento anterior do corpo vítreo), edema de córnea permanente, glaucoma e uveíte. Se a luxação for para a câmara posterior ocorre danificação do corpo vítreo causando liquefação (sinérese) (OFRI, 2013a).

A esclerose nuclear também conhecida como esclerose lenticular é uma condição relacionada ao avanço da idade do animal, e caracteriza-se pelo enrijecimento do núcleo da lente. Nos casos de esclerose observa-se borda nuclear de periferia clara e o núcleo com aparência branco-azulada ou cinza (SILVA, 2017). Pode ser confundida com a catarata, que é um dos achados mais frequentes das alterações oculares em aves no geral e que pode ser causada por diversos fatores (HVENEGAARD *et al.*, 2009).

A catarata caracteriza-se pela degeneração e perda progressiva da transparência da lente ou da sua cápsula e pode ser classificada de acordo com inúmeros aspectos como: etiologia, localização da opacidade inicial (capsular, cortical e nuclear), idade e, clinicamente, pelo estado de maturação (WILLS *et al.*, 2016). As etiologias da catarata podem ser diversas, como traumatismo e até mesmo idade do animal, sendo diagnosticadas em aves domésticas, selvagens e em aves de cativeiro (WILLS *et al.*, 2016).

Segundo o estado de maturação podem ser categorizadas em incipientes, imaturas, maduras e hiper maduras. As incipientes e imaturas constituem estádios iniciais da catarata, não existindo completo envolvimento da lente e, na primeira, apenas fibras ou uma pequena área está afetada. O efeito destes estádios na visão é limitado ou inexistente e continua a ser possível realizar exame indireto ao fundo do olho. Na catarata madura a lente está totalmente afetada e torna-se opaca, podendo surgir acumulação de fluidos provocando intumescência; a partir deste estádio existe perda de visão do olho afetado. Na catarata hiper madura poderá ocorrer separação da lente, devido à acumulação de fluidos, bem como proteólise e liquefação das proteínas da

lente (reabsorção da lente), conduzindo ao esvaziamento destas através da cápsula para a úvea, o que por sua vez origina uveíte por reação de corpo estranho mediada pelo sistema imunitário. Esta perda de conteúdo e consequente redução de volume provoca afundamento da câmara anterior e aplanamento da íris. Observa-se nesta fase, congestão episcleral, baixa pressão intraocular e escurecimento da íris. É comum existir luxação ou subluxação do cristalino concomitante, de forma primária ou secundária (OFRI, 2013a; PETERSEN-JONES; CRISPIN, 2002).

Diante disso, foi realizada uma pesquisa de investigação retrospectiva do manejo de catarata em espécies aviárias em uma coleção zoológica do Bronx da Wildlife Conservation Society entre 1992-2011. O total de 90 cataratas foram identificadas em 54 aves de 42 espécies, sendo que os papagaios-do-mar (*Fratercula cirrhata*) e andorinhas-do-mar Inca (*Larosterna inca*) da ordem Charadriiformes tiveram o maior número de indivíduos com catarata. Os resultados dessa revisão ajudarão os médicos veterinários a identificar estágios comuns de catarata, determinar a elegibilidade para cirurgia de cataratas e gerenciar complicações pós-operatórias em pacientes aviários (RAINWATER; SYKES; SAPIENZA, 2015).

4.6 RETINA E NERVO ÓPTICO

Lesões traumáticas são comuns na retina. Em alguns casos nas aves, principalmente as aves de rapina e naquelas de vida livre ou com grande espaço de voo, o impacto da ave em alta velocidade contra superfícies planas, como vidro, pode causar descolamento de áreas da retina e hemorragias retinianas, afetando muitas vezes o pecten. Na histopatologia o que se observa é a perda da junção celular entre a neuroretina e sua camada mais externa que fica intimamente ligada a coroide, que pode ser acompanhado de hemorragia e células inflamatórias dependendo da etiologia (COSTA, 2021; OFRI, 2013b). Como consequência, os sinais clínicos apresentados pela ave muitas vezes são graves, cursando até mesmo cegueira, principalmente em casos de descolamento completo, podendo ser irreversíveis. Os sinais mais comuns são midríase, pupila irresponsiva e pode apresentar diversas alterações no exame de fundo de olho (COSTA, 2021). Cabe destacar que outros fatores podem ser a origem do descolamento retiniano como condições congênitas, derrame de fluidos subretinianos (normalmente associado a hemorragia e exsudações), tração decorrentes de uveíte, luxação de cristalino e liquefação degenerativa do corpo vítreo (OFRI, 2013b).

A degeneração de retina é uma alteração pós-natal caracterizada pela degeneração das células da retina, frequentemente os fotorreceptores, que pode progredir para atrofia progressiva da retina (GOMES *et al.*, 2013). Em galinhas a principal causa de degeneração de retina é hereditária, sendo que quando ocorre precocemente, no nascimento a ave apresenta diminuição da visão, devido a displasia de fotorreceptores. Entretanto, quando o animal tem o início tardio da lesão, o animal nasce com a retina normal até o acometimento dos bastonetes e cones da retina levando a degeneração dos fotorreceptores, evoluindo até a cegueira (MOREIRA, 2016).

A displasia de retina é uma alteração ocular decorrente da diferenciação anormal da retina em sua embriogênese. Trata-se da proliferação desordenada da retina neurosensorial levando à formação de dobras, descolamento parcial ou total deste tecido. Em aves a displasia de retina foi descrita em galinhas da linhagem *Rhode Island Red* e em linhagens híbridas de frangos de corte. Diagnósticos diferenciais incluem alterações específicas de degeneração de fotorreceptores e degeneração de toda a retina (WILCOCK; NJAA; 2016).

Os animais com degeneração de retina podem apresentar no exame clínico midríase constante, diminuição ou ausência do reflexo pupilar e epífora. Ao exame de fundo de olho pode se observar deslocamento multifocal da retina e hiperpigmentação da retina (DUBIELZIG *et al.*, 2010; MOREIRA, 2016).

Histologicamente não foi encontrada na literatura descrição dessa alteração em aves, porém, em outras espécies é relatado que a primeira mudança que é identificada é o aparecimento de vesículas na porção externa dos fotorreceptores. Posteriormente, observa-se que o segmento externo dos bastonetes apresenta lamelas desorganizadas e desordenadas. Ocorre ainda, perda focal com reorganização da membrana limitante externa e invasão do epitélio pigmentado da retina por macrófagos (GOMES *et al.*, 2013).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De forma geral, a histologia dos olhos de aves é estudada em poucas espécies e a histopatologia é ainda mais restrita. Sendo assim, a maior parte dos estudos encontrados abordam doenças de forma pontual como relatos de casos em uma espécie específica. Diante desse cenário é necessário que pesquisas sejam desenvolvidas para se formar uma base de dados ainda mais fidedigna sobre as alterações oftálmicas em aves, bem como sua repercussão sistêmica e epidemiologia.

Das doenças que podem acometer o bulbo a proptose é a mais comum, contudo não foram encontrados relatos de avaliações histopatológicas desse bulbo após enucleação ou necropsia, dificultando o entendimento sobre quais outras doenças podem estar associadas a essa enfermidade. Contudo, para as doenças que acontecem na pálpebra e conjuntiva há diversidade maior com diferentes etiologias, com destaque para blefarite e conjuntivite de origem infecciosa. Similar à pálpebra e conjuntiva, na córnea também a ceratite de origem infecciosa teve destaque, mas também há relatos de lesões de outras etiologias como traumática.

A uveíte foi uma doença bem relatada. Porém, diferentemente dos mamíferos, o glaucoma é muito mais raro nas aves, o que se deve principalmente às suas conformações anatômicas do aparelho ocular dificultando a obstrução. No cristalino a catarata é bem relatada, entretanto, os estudos que focam na histopatologia ou na classificação clínica dessa doença em aves ainda são escassos, fazendo com que o tratamento e a determinação do prognóstico sejam complexos. Na retina das aves as principais alterações são o descolamento de retina traumático e a degeneração que acontece de forma hereditária, mas não se sabe ainda sobre tratamento, evolução e epidemiologia detalhadamente dessa enfermidade.

Por fim, os estudos com avaliação dos olhos de aves são escassos o que dificulta o diagnóstico, tratamento, avaliação histopatológica e, conseqüentemente, impacta em menor poder de resolução das doenças para os clínicos de aves e de diagnóstico para o patologista. Assim, é necessário que pesquisas sejam desenvolvidas para suprir as lacunas de conhecimento dessa área que cada vez tem maior importância.

6 REFERÊNCIAS

ABPA (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL). **Relatório anual**. São Paulo: Associação Brasileira de Proteína Animal, 2022. Disponível em: <<https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2022/05/Relatorio-Anual-ABPA-2022-1.pdf>>. Acesso em: 14 mai. 2022.

BACHA JÚNIOR, W. J.; BACHA, L. M. Olho. In: _____. **Atlas colorido de histologia veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2003. p. 391-414.

BARRON, H. W. *et al.* Trauma-induced uveitis and free air in the anterior chamber of three eastern screech owls (*Megascops asio*). **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 32, n. 4, p. 314-321, 2018.

BAYÓN, A. The clinical examination. The eye and eyelids. In: SAMOUR, J. **Avian medicine**. 3. ed. USA: Elsevier, 2016. p. 49-68.

BERNARDES FILHO, F. *et al.* Rosácea ocular: blefarite incomum na criança. **Revista da Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venereologia**, v. 71, n. 1, p. 127-130, 2013.

BORDIN, L. C. Patologia especial dos olhos. In: ANDREATTI FILHO, R. L. *et al.* **Doenças das aves**. 3. ed. Campinas: Facta, 2020. p. 78-95.

CANDIOTO, C. G. **Histomorfometria do bulbo do olho de peneireiro-de-dorso-malhado (*Falco tinnunculus* – Linnaeus, 1758)**. 2011. 57 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2011.

CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C. **Principais doenças que acometem as aves**. São Paulo: Instituto Biológico, 2015. (Comunicado Técnico, 213). Disponível em: <<http://repositoriobiologico.com.br/jspui/handle/123456789/219>>. Acesso em: 18 mai. 2022.

COSTA, I. M. V. A. **Lesões oculares na prática clínica de aves de rapina silvestres**. 2021. 86 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, Évora, 2021.

DALTON, J. R.; AINSWORTH, H. Mycotic keratoconjunctivitis in 12-day-old red-legged partridges (*Alectoris rufa*). **Veterinary Record**, v. 168, n. 22, p. 590-593, 2011.

DAVIS, K. *et al.* Comparative evaluation of aqueous humor viscosity. **Veterinary Ophthalmology**, v. 18, n. 1, p. 50-58, 2015.

DIAS, M. R. *et al.* Blefarite: epidemiologia, etiologia, apresentações clínicas, tratamento e evolução de nossos pacientes. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 78, n. 5, p. 300-303, 2019.

DUBIELZIG, R. R. *et al.* **Veterinary ocular pathology: a comparative review**. 1. ed. Philadelphia: Elsevier, 2010. 456p.

DUNHAM, N. R. *et al.* *Oxyspirura petrowi* infection leads to pathological consequences in Northern bobwhite (*Colinus virginianus*). **International Journal for Parasitology**, v. 5, n. 3, p. 273-276, 2016.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. Os órgãos dos sentidos. In: _____. **Tratado de anatomia veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p. 657-685.

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA). **Manual de segurança e qualidade para avicultura de postura**. Brasília: Embrapa/Sede, 2004.

Disponível em:

<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/18216/1/MANUALSEGURANCAQUALIDADEaviculturadepostura.pdf>>. Acesso em: 14 mai. 2022.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION). **Faostat: compare data**. Roma: Food and Agriculture Organization, 2020. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#compare>>. Acesso em: 14 mai. 2022.

- FARIAS, L. M. S. *et al.* Histopatologia da conjuntivite bacteriana. *In: SEMANA DE PESQUISA DA UNIT.* 7, 2019. Maceió. **Anais...** Maceió, Alagoas: Centro Universitário Tiradentes. 2019. v. 7, p. 1-3.
- FISCHER, P. F.; SOUZA, J.; BERSELLI, M. Aspergilose aviária - revisão bibliográfica. *In: XVII SEMINÁRIO INTERINSTITUCIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO*, 17, 2012, Cruz Alta. **Anais do XVII Seminário - 2012.** Cruz Alta: Universidade de Cruz Alta, 2012. v. 17, p. 1-4.
- GARGIULO, F. C. D. **Particularidades oftálmicas em aves.** 2015. 27 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2015.
- GOMES, D. *et al.* Atrofia progressiva generalizada da retina em cães da raça ocker spaniel. **Ciência Rural**, v. 43, n. 8, p. 1405-1414, 2013.
- GÜLBAHAR, M. Y.; ÇABALAR, M.; BOYNUKARA, B. *Avipoxivirus* infection in quails. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 29, n. 2, p. 449-454, 2005.
- GUM, G. G.; MACKAY, E. O. Physiology of the eye. *In: GELATT, K. N.; GILGER, B. C.; KERN, T. J. Veterinary ophthalmology.* 5. ed. Nova Jersey: Wiley Blackwell, 2013. p. 171-207.
- HVENEGAARD, A. P. *et al.* Retrospective study of ocular disorders in Amazon parrots. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 12, p. 979-984, 2009.
- IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Produção da pecuária municipal.** Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, v. 48, p. 1-12, 2020. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2020_v48_br_informativo.pdf>. Acesso em: 15 mai. 2022.
- JAENISCH, F. R. F. **Árvore do conhecimento frango de corte: bacterianas.** AGEITEC Brasília – Agência embrapa de informação tecnológica de Brasília. 2022. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/criacoes/frango-de-corte/producao/sanidade/doencas/infecciosas/bacterianas>>. Acesso em: 22 mai. 2022.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica: texto e atlas.** 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 568p.
- MOREIRA, M. V. L. **Frequência e aspectos patológicos das doenças oculares em animais.** 2016. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós-graduação em Ciência Animal. Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.
- MORIJO, D. K. S.; OLIVEIRA, V. M. de; MANSANO, N. S. Daltonismo e as diferentes percepções de cores. **Revista Eletrônica de Graduação do UNIVEM**, v. 10, n. 1, p. 433-439, 2020.

MYRNA, K. Lens. In: PICKETT, J. P. *et al.* **Ophthalmic disease in veterinary medicine**. 2. ed. Londres: Manson Publishing, 2019. p. 531-537.

OFRI, R. Lens. In: MAGGS, D. J., MILLER, P. E., OFRI, R. **Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology**. 5. ed. USA: Elsevier Inc. 2013a. p. 276-278, 287-290.

OFRI, R. Retina. In: MAGGS, D. J., MILLER, P. E., OFRI, R. **Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology**. 5. ed. Berkeley: Elsevier Ltd., 2013b. p. 299-314, 327-333.

OKWOR, E. C.; EZE, D. C.; CHAH, K. F. Recurring outbreaks of fowl pox in a poultry farm in Nsukka, Southeast Nigeria. **Journal of Agriculture and Veterinary Science**, v. 7, n. 4, p. 104-108, 2014.

OLIVEIRA, J. G. *et al.* Vírus da doença de Newcastle em aves não vacinadas no Estado do Rio de Janeiro. **Ciência Rural**, v. 33, n. 2, p. 381-383, 2003.

PESSOA, L. M. B.; NORBERTO, G. O. Proptose ocular em olho de ema (*Rhea americana*) mantida em cativeiro: relato de caso. **Veterinária e Zootecnia**, v. 23, n. 2, p. 215-219, 2016.

PETERSEN-JONES, S. M.; CRISPIN, S. M. The orbit and globe. In: _____. **BSAVA manual of small animal ophthalmology**. 2. ed. British: Small Animal Veterinary Association, 2002. p. 208-216.

PIÑEIRO, C. I. S.; BERT, E. Valoración de las afectaciones al sistema visual de las aves. **Revista Electronica de Veterinária**, v. 12, n. 1, p. 1-41, 2011.

RAINWATER, K. L.; SYKES, J. M.; SAPIENZA, J. S. Retrospective investigation of cataract management in avian species in a zoologic collection. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 46, n. 4, p. 858-869, 2015.

RAYMENT, L. J.; WILLIAMS, D. Glaucoma in a captive-bred great horned owl (*Bubo virginianus virginianus*). **Veterinary Record**, v. 140, n. 18, p. 481-483, 1997.

RODARTE-ALMEIDA, A. C. V. *et al.* O olho da coruja-orelhuda: observações morfológicas, biométricas e valores de referência para testes de diagnóstico oftálmico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 10, p. 1275-1289, 2013.

SERUCA, C. *et al.* Ocular consequences of blunt trauma in two species of nocturnal raptors (*Athene noctua* and *Otus scops*). **Veterinary Ophthalmology**, v. 15, n. 4, p. 236-244, 2012.

SILVA, A. C. E. da. **Oftalmologia veterinária**. 1. ed. Londrina: Editora e Distribuidora Educacional S.A., 2017. 200p.

SISINNO, C. L. S.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. **Princípios de toxicologia ambiental**. 1. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2021. 218p.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Veterinary parasitology**. 4. ed. Chichester: Wiley Blackwell, 2016. 979p.

UEMURA, E. E. Sistema visual. *In*: REECE, W. O. *et al.* **Dukes**: fisiologia dos animais domésticos. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. p. 146-168.

WILCOCK, B. P.; NJAA, B. L. Special senses. *In*: MAXIE, M. G. **Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals**. 6. ed. Missouri: Elsevier, 2016. p. 407-508.

WILLIAMS, D. L. The avian eye. *In*:_____. **Ophthalmology of exotic pets**. 1. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2012. p. 158-173.

WILLS, S. *et al.* Ophthalmic reference values and lesions in two captive populations of northern owls: great grey owls (*Strix nebulosa*) and snowy owls (*Bubo scandiacus*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 47, n. 1, p. 244-255, 2016.

YAMAMOTO, Y. *et al.* Corneal opacity in domestic ducks experimentally infected with H5N1 highly pathogenic avian influenza virus. **Veterinary Pathology**, v. 53, n. 1, p. 65-76, 2016.



Principais enfermidades parasitárias, fúngicas e metabólicas observadas em codornas

Matheus Joaquim dos Santos Candido¹
Débora Cantarin Neiva²
Márcio Phillip Andrade Correia³
Amanda Azevedo Assis⁴
Thalia Cipriano da Silva⁵
Jorge Luiz Rizzo Gervais⁶
Lukas Souza Felisberto⁷
Maria Aparecida da Silva⁸
Isabella Vilhena Freire Martins⁹
Jankerle Neves Boeloni¹⁰

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mcandido0352@gmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: deboranei97@gmail.com

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: phillipandreadec@outlook.com

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

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: thalia.cipriano.16@outlook.com

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: jorluiz1998@gmail.com

⁷ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: lukas.souza07@hormail.com

⁸ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mvmariaaparecida@gmail.com

⁹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: isabella.martins@ufes.br

¹⁰ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: jankerle@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

A produção de codornas tem se destacado na atualidade devido à perspectiva de rápido retorno financeiro, sobretudo na produção de ovos de alto valor nutricional, e carne de qualidade. A codorna doméstica (*Coturnix coturnix japonica*), por exemplo, apresenta precocidade sexual, ciclo de reprodução curto, ótima fertilidade e taxa de postura, sendo fatores que contribuem zootecnicamente para maior produção e melhor produtividade (GERON *et al.*, 2014; NASCIMENTO *et al.*, 2021).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no ano de 2020 o Brasil possuía um rebanho em torno de 16,5 milhões de codornas, sendo o município de Santa Maria de Jetibá, no Espírito Santo, o maior produtor de ovos. Diante do avanço da coturnicultura e aumento da densidade nos aviários, surgiram obstáculos comuns, como a maior susceptibilidade a infecções, micotoxinas e doenças metabólicas, os quais são prejudiciais à criação e desempenho destas aves (IBGE, 2020). Vale ressaltar que o parasitismo pode aumentar a suscetibilidades de doenças secundárias, ocasionando prejuízos econômicos tanto para o setor interno quanto para exportação (LOPES *et al.*, 2021; VASCONCELOS, 2000). Nesse sentido, objetivou-se no presente trabalho pontuar as principais enfermidades parasitárias, fúngicas e metabólicas observadas em codornas, bem como, suas etiologias, sinais clínicos e principais lesões.

2 ENFERMIDADES PARASITÁRIAS

Os parasitos gastrointestinais observados em codornas, comumente pertencem às classes Nematoda e Protozoa, causando diferentes tipos de lesões, com distintos sintomas e formas de transmissão (MONTE; CAVALCANTE; OLIVEIRA, 2018). Os ectoparasitos encontrados em codornas são agrupados, especialmente, na classe Insecta, ordem Phthiraptera, subordem Mallophaga, conhecidos como piolhos mastigadores (AHID; SUASSUNA; FILGUEIRA, 2009; QUEIROZ, 2015).

2.1 ECTOPARASITOSE

Os artrópodes que causam doenças parasitárias em codornas domésticas (*Coturnix coturnix*) são da ordem Phthiraptera, e às subordens: Amblycera (*Menacanthus coturnus*;

Menacanthus abdominalis) e Ischnocera (*Lipeurus caponis*; *Cuclotogaster cinereus*) (SERRA-FREIRE; MELLO, 2006; SHAIKH; NAZ; BIRMANI, 2019). São importantes parasitos de aves, porém, pouco estudados no Brasil (AMARAL *et al.*, 2007).

A taxa de infestação de piolhos parasitando aves é maior quando são criadas em ambientes com higiene precária (SHAIKH; NAZ; BIRMANI, 2019). Diversos processos patológicos são ocasionados e variam de acordo com o grau de infestação, podendo ocorrer desde alterações comportamentais, como incômodos devido ao prurido, inquietação, automutilação e perda do apetite, até escoriações, lesões como vermelhidão e inchaço na pele, perda de penas, perda de peso, queda de desempenho produtivo e anemia de nível grave (ALBUQUERQUE, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Estes parasitos são obrigatórios e consideravelmente específicos, vivendo entre as penas de seus hospedeiros se alimentando de descamação de pele, parte das penas, secreções sebáceas e sangue (TAYLOR; COOP; WALL, 2016) e sua transmissão ocorre de forma oportunista pelas penugens através do contato íntimo entre indivíduos da mesma espécie, e através do contato com pessoas que trabalham nos estabelecimentos onde as aves residem, considerando-se vetor mecânico (SERRA-FREIRE; MELLO, 2006; SHAIKH; NAZ; BIRMANI, 2019).

2.2 HELMINTOSES

Muitos parasitos gastrointestinais da ordem Ascaridida, como *Ascaridia galli*, *Heterakis gallinarum*, *Heterakis alata* e *Odontoterakis multidentata* (MONTE; CAVALCANTE; OLIVEIRA, 2018) infectam codornas domésticas (*Coturnix japonica*), e *H. spiculatus* acomete codornas selvagens (*Nothura maculosa*) e causam a ascaridíase. Frequentemente estes parasitos podem ser encontrados em necropsias, causando infecções mistas (MACHADO *et al.*, 2007). No geral, os gêneros da família Heterakidae estão restritos ao ceco do hospedeiro (MONTE; CAVALCANTE; OLIVEIRA, 2018). Além disto, o parasito *Heterakis gallinarum* também é conhecido por transmitir o protozoário *Histomonas meleagridis* para aves e humanos, causando a histomoníase (SILVA *et al.*, 2014).

Ascaridia galli, por sua vez, acomete preferencialmente o proventrículo, duodeno e jejuno do hospedeiro e as larvas habitam o oviduto, intestino e pulmões (MELO *et al.*, 2019; TAYLOR; COOP; WALL, 2016). A ascaridíase causa sinais como diminuição do desempenho e desenvolvimento das aves acometidas, intensa fraqueza, diarreia, perda de peso, baixa taxa de oviposição e enterite. Em alguns casos, as aves manifestam alguns ou nenhum dos sintomas

descritos, mesmo estando parasitadas (LIMA *et al.*, 2014) e em casos de infecção maciça, pode causar enterite hemorrágica e obstrução intestinal (URQUHART *et al.*, 1996). A gravidade desta doença depende da idade, estado físico e nutricional. Aves mais jovens geralmente são as mais susceptíveis a esta doença (BRITO *et al.*, 2009; MACHADO *et al.*, 2007).

A transmissão ocorre quando a ave ingere o ovo no ambiente por meio das fezes, alimentos ou água contaminados, bem como a ingestão de minhocas, que atuam como hospedeiros intermediários (TAYLOR; COOP; WALL, 2016). O ovo torna-se infectante em temperaturas ideais em um mínimo de três semanas, e os helmintos vivem aproximadamente um ano (TAYLOR; COOP; WALL, 2016; URQUHART *et al.*, 1996).

Existem outros parasitos que acometem as codornas, porém não há muitos estudos específicos sobre os nomes das doenças causadas e formas de transmissão. Um deles pertence à classe Cestoda, *Choanotaenia infundibulum*, que promove a enterite catarral (MONTE; CAVALCANTE; OLIVEIRA, 2018). Ainda, um parasito da classe Trematoda, *Tanaisia inopina* foi relatado por Pinto *et al.* (2005), neste caso, sendo encontrado em um dos lobos renais das codornas, contudo sua ocorrência não teria causado sinais clínicos, tampouco lesões macro e microscópicas, segundo o estudo.

2.3 PROTOZOOSSES

2.3.1 Coccidiose

A coccidiose aviária é causada por organismos do filo Protozoa, subfilo Apicomplexa, ordem Eucoccidiorida, sendo *Eimeria* spp. o gênero de coccídio de maior importância veterinária na infecção de codornas (MONTE *et al.*, 2015; TAYLOR; COOP; WALL, 2016). Existem quatro principais espécies de *Eimeria* spp. que podem ser encontradas parasitando codornas da espécie *Coturnix japonica*: *E. tsunodai*, *E. uzura*, *E. bateri*, *E. fluminensis* (TEIXEIRA; TEIXEIRA-FILHO; LOPES, 2004). A diferenciação específica é feita baseada no local preferencial de infecção de cada espécie. *E. tsunodai* possui restrição a infecção no ceco das aves (GESEK *et al.*, 2014), enquanto que *E. bateri*, e *E. uzura* habitam preferencialmente as porções do duodeno e do jejuno, respectivamente (GESEK *et al.*, 2014; TEIXEIRA; TEIXEIRA-FILHO; LOPES, 2004).

A coccidiose é uma das enfermidades que mais afetam as aves, provocando diarreia, penas arrepiadas, caquexia, perda de peso, altas taxas de conversão alimentar, problemas reprodutivos e de desenvolvimento, e alta taxa de mortalidade (CARNEIRO; CALAIS

JÚNIOR; MARTINS, 2011; MARIETTO-GONÇALVES *et al.*, 2009). Apesar desta parasitose causar alterações clínicas nas aves, em alguns casos, as aves não apresentam sinais facilmente visíveis, apresentando alterações inespecíficas, como diarreia, anemia, sonolência, perda de peso, apatia, entre outros, requerendo desta forma, exames parasitológicos e necroscópicos visando identificar a presença dos ovos, do espécime, o local de infecção e as alterações patológicas causadas pelos coccídios nas aves (OLIVEIRA *et al.*, 2017; ROSA *et al.*, 2017). No exame macroscópico de codornas infectadas por *Eimeria* spp., podem ser observadas hiperemia em mucosa intestinal e/ou do ceco, congestão, além da expansão cecal devido ao acúmulo de gases. Na histopatologia, observa-se formas evolutivas intracelulares, como, merontes, micro e macrogametócitos, podendo também ser verificadas oocistos no lúmen intestinal (GESEK *et al.*, 2014; TEIXEIRA; TEIXEIRA-FILHO; LOPES, 2004).

A transmissão dos coccídios está associada ao seu ciclo evolutivo, que compreende as seguintes fases: esporulação; infecção e merogonia; gametogonia e formação de oocistos. Os oocistos formados não esporulados são excretados nas fezes do hospedeiro, levando a contaminação dos alimentos, da água e do meio em que as aves se encontram, seja em gaiolas ou em recintos, ocasionando a sua transmissão. Quando o ambiente não é limpo frequentemente, tampouco a água para consumo é trocada diariamente e tratada com hipoclorito de sódio na concentração 2 a 4 ppm, por exemplo, ocorre a esporulação dos oocistos, que em condições apropriadas de oxigenação, umidade e temperatura, a duração é de 2 a 4 dias, atingindo enfim o estágio infectante. A infecção é findada quando o hospedeiro ingere o oocisto esporulado acidentalmente, junto com os alimentos, ou nas fezes que permanecem no ambiente (TAYLOR; COOP; WALL, 2016).

2.3.2 Criptosporidiose

Outro protozoário intestinal relatado em codornas são os do subfilo Apicomplexa, ordem Eucoccidiorida, gênero *Cryptosporidium*, causando a criptosporidiose (TAYLOR; COOP; WALL, 2016), relatado em alta frequência em criações comerciais de codornas (*Coturnix japonica*) na China (WANG *et al.*, 2012). O protozoário *Cryptosporidium* sp. acomete principalmente os aparelhos digestivo e respiratório de diversas espécies aviárias, incluindo codornas (JACOBSEN *et al.*, 2006).

A única espécie de *Cryptosporidium* spp. reportada em codornas, denomina-se *C. baileyi* acometendo o intestino delgado e grosso, cloaca, bursa de Fabricius, nasofaringe, seios

da face e a conjuntiva dessas aves (TAYLOR; COOP; WALL, 2016). A criptosporidiose é considerada zoonose e afeta principalmente pessoas imunossuprimidas (QUEIROZ, 2015). Contudo, os sintomas causados por esta enfermidade nas aves não estão claramente definidos quando os parasitos estão alojados na bursa de Fabricius, cloaca e intestinos. Quando a infecção ocorre na via respiratória, cerca de 50% do lote de aves podem manifestar sinais clínicos, como tosses, espirros e extensão de cabeça, e a mortalidade raramente passa dos 10%. Além disso, tem sido reportado sintomas como, conjuntivite em diversas espécies de aves (TAYLOR; COOP; WALL, 2016).

As alterações patológicas encontradas são: atrofia das vilosidades, encurtamento de microvilosidades e descolamento de enterócitos. No aparelho respiratório, as lesões são devido ao excesso de muco na traqueia e congestão da mucosa nasal. Em casos graves, pode ser observado atrofia da bursa de Fabricius e broncopneumonia (TAYLOR; COOP; WALL, 2016).

A transmissão é semelhante à da *Eimeria* spp., por via fecal, alimentos e água contaminados. Após a ingestão dos oocistos de *Cryptosporidium* sp., os esporozoítos invadem a borda do proventrículo, intestinos e pulmões e os trofozoítos rapidamente se diferenciam para formar merontes com quatro a oito merozoítos. Dois tipos de oocistos são produzidos, o mais espesso que é liberado nas fezes, e o mais fino que continua no organismo do hospedeiro para esporulação e autoinfecção (TAYLOR; COOP; WALL, 2016).

2.3.3 Blastocistose

Blastocystis sp. é outro endoparasito que acomete codornas, sendo pertencente ao filo Protozoa. Este parasito é considerado de alta relevância para a saúde pública, visto que alguns genótipos são zoonóticos, causando a blastocistose em pacientes imunocomprometidos (MONTE; CAVALCANTE; OLIVEIRA, 2018).

A blastocistose pode causar gastroenterite, que macroscopicamente observa-se espessamento da parede do estômago e intestino, hiperemia e hemorragia de mucosa (ARAÚJO *et al.*, 1999). Além da gastroenterite, esta enfermidade causa diarreia abundante, acarretando sintomas como perda de peso, cólicas intestinais, flatulência e febre (KULIK *et al.*, 2008). Alguns exames parasitológicos geralmente são limitados na detecção deste protozoário, devido às suas características morfológicas altamente variáveis e frágeis, necessitando de necropsias em aves parasitadas, a fim de associar com as lesões encontradas (TAN, 2004). Sabe-se pouco

sobre transmissão desta doença, porém, considera-se que seja por via fecal-oral pela ingestão de formas císticas, sendo eliminada de forma intermitente (TAN, 2008).

2.4 HEMOPARASITOSE

Existem poucos relatos de hemoparasitos que afetam as codornas, um deles é o estudo feito por Bradley, Fedynich e Lerich (2004), que registraram pela primeira vez microfilárias em codornas da espécie *Callipepla squamata*, no Texas (EUA). Outro hemoparasita encontrado nos eritrócitos de codornas é o protozoário do filo Apicomplexa, gênero *Haemoproteus* (KELLY *et al.*, 2018).

O hemoparasito *Haemoproteus* sp. geralmente possui como vetor o mosquito *Culicoides* sp. e causa alterações comportamentais nas aves como depressão, pele ressecada e dificuldade para se locomover (CYR *et al.*, 2006). Macroscopicamente, causa palidez e hemorragia multifocal no músculo esquelético, além de petéquias nos sacos aéreos e nas superfícies serosas da maioria dos órgãos (KELLY *et al.*, 2018).

No Brasil, foi registrado no Espírito Santo, de forma inédita, *Plasmodium* spp. em codornas de postura de alta produção. Porém, não foi possível relatar de forma precisa o impacto desse agente para as aves, uma vez que elas também estavam infectadas com *Escherichia coli*. Acredita-se que o agente em questão tenha possibilitado a exacerbação dos parâmetros clínicos, pois houve redução do hematócrito, hemoglobina e contagem de hemácias, configurando quadro de anemia que compromete a oxigenação dos tecidos e sobrecarrega ainda mais o sistema imune dessas aves (CANDIDO *et al.*, 2022).

No geral, para a profilaxia das doenças parasitárias, é recomendado a vermifugação das aves, manutenção do manejo sanitário das criações das codornas realizando limpeza frequente dos aviários, especialmente no vazio, realização de exames parasitológicos preventivos e quarentena das aves recém-chegadas na criação ou recinto (BRUNO; ALBUQUERQUE, 2008; MELO *et al.*, 2019).

Como são poucos os relatos dos hemoparasitos em codornas no país, a prevenção é baseada no extrapolação de meios utilizados para outras espécies de aves, focando muitas vezes no controle dos vetores. De forma geral se recomenda que os drenos de esgoto e águas sejam cobertos com malha contra insetos (1mm), podendo ser utilizado ainda cloreto de sódio (sal de cozinha), de forma regular em concentração mínima de 20 g/l para controlar a população de larvas dos vetores (DERRAIK, 2005).

Além dessas medidas, a telagem de todo o local de criação das aves pode ser aplicada. É comum o uso de repelentes e dispositivos eletrocutores, mas é comprovado que essa medida é ineficaz. Outra medida que é popular é o uso de dispositivos eletrônicos visando eliminar os vetores em fase adulta, porém, ainda não há estudos que comprovem sua eficiência (DERRAIK, 2005). Alguns trabalhos, utilizaram armadilhas luminosas como forma de captura dos mosquitos para fins de obtenção de amostra para o estudo, porém não se sabe se essa medida seria passível de aplicação nos galpões de produção e se seriam eficazes (CHAGAS, 2016). Em zoológicos há na literatura a utilização de peixes como *Gambusia* sp. e microrganismos como *Bacillus thuringiensis* var. *israelenses* (Bti) ou *Bacillus sphaericus* nas águas dos locais onde os parasitos vivem com finalidade de reduzir o número de larvas e consequentemente dos vetores adultos (CHAGAS, 2016). Isso poderia ser aplicado caso haja na proximidade dos galpões de criação áreas alagadas, mas também não se sabe ao certo a eficácia.

3 ENFERMIDADES FÚNGICAS

3.1 ASPERGILOSE

Existem diversas espécies agrupadas no gênero *Aspergillus*, mas um pequeno número tem sido associado a infecções nos animais, como *A. fumigatus*; *A. flavus*; *A. deflexus*; *A. flavipes*; *A. terreus* e *A. nidulans* (QUINN *et al.*, 2007).

Grande parte das espécies estão classificadas no filo *Fungi Imperfect* (deuteromicetos), enquanto outras fazem parte do filo *Ascomycota* (ascomicetos), ambas distinguidas a partir de suas formas sexuais. A estrutura destes fungos, são caracterizadas por: hifas septadas, hialina, com até 8 µm de diâmetro, vesícula, fiálides, métulas (em algumas espécies ausente) e conídios. Além disso, de algumas hifas contendo células basais especializadas, emergem conidióforos em ângulo reto e sua região apical é constituída por uma vesícula, coberta por fiálides e/ou métulas e conídios unisseriados ou bisseriados. Este grupo exige ambiente aeróbico com temperatura de 37 °C, exceto *Aspergillus fumigatus*, que são termotolerantes e sobrevivem entre 20-50 °C. Nestas condições, o tempo de incubação varia de 1-4 dias, podendo ser observadas dependendo da espécie e cultura, colônias de coloração avermelhada, preta, amarronzada, amarelada ou verde-azulada (QUINN *et al.*, 2007).

O gênero *Aspergillus*, comumente está presente na forma de esporos, no solo e/ou matéria orgânica em decomposição, além do ar e poeira. Especificamente na produção avícola,

a forma infectante pode estar envolvida no ar das incubadoras e nascedouros ou na cama, determinando como principal via de infecção em aves, a inalatória (ABREU; OLIVEIRA, 2020; QUINN *et al.*, 2007).

A susceptibilidade das codornas ao desenvolvimento das alterações clínicas, tem sido relacionada a falhas na defesa imunológica, especialmente em aves jovens ou secundária ao tratamento prolongado com antibióticos e condições sanitárias inadequadas (ABREU; OLIVEIRA, 2020; QUINN *et al.*, 2007). Após a infecção, o fungo pode desencadear uma série de eventos que danificam ou pioram a proteção do trato respiratório, como a redução da frequência dos batimentos ciliares, movimentos não coordenados dos cílios e danificação da integridade epitelial, principalmente causada pelo *A. fumigatus* verificada no estudo *in vitro* com epitélio respiratório de humanos (AMITANI *et al.*, 1995).

A virulência dos agentes causadores da aspergilose, estão associadas a produção de protease e de elastase. A gliotoxina, um produto originado do *A. fumigatus*, tem a capacidade de inibir a função dos cílios e capacidade fagocítica dos macrófagos (QUINN *et al.*, 2007). Além do acometimento do trato respiratório, dependendo da intensidade da infecção, os vasos sanguíneos podem ser acometidos, desenvolvendo vasculites. Nódulos e/ou placas amareladas multifocais comumente são observadas no pulmão e sacos aéreos, podendo afetar outros órgãos, como cérebro, olhos e siringe (ABREU; OLIVEIRA, 2020; QUINN *et al.*, 2007).

Um estudo comparativo da susceptibilidade de galinhas de diferentes linhagens, perus e codornas a aspergilose, demonstrou numericamente que apesar das lesões não serem mais pronunciadas nas codornas, como observado em perus, revelou que em todos os tratamentos houve maior mortalidade de codornizes em relação às outras aves avaliadas (GHORI; EDGAR, 1973).

O primeiro relato de infecção pelo gênero *Aspergillus* em codornas japonesas, foi descrito na Columbia (EUA), após observação de duas epizootias na mesma granja de codornizes. Neste caso, no primeiro evento, morreram dezenas de codornas com idade de duas semanas e no segundo episódio o mesmo quantitativo de óbitos foi observado em aves com idade de três semanas. A primeira observação, foi mortes de aves em diversas gaiolas, seguida pelo aparecimento de outros sinais clínicos, como inapetência, respiração acelerada, depressão e ataxia (OLSON, 1969).

Em codornas de dois meses de idade oriundas de granja comercial infectada por *Aspergillus* sp., foi observado apatia, depressão, anorexia, fezes esbranquiçadas e dificuldade de respirar. Além disto, aumento de volume em região ocular direita, cabeça, pescoço e asas de

ambos os lados, verificado ao corte das regiões acometidas, conteúdo caseoso acinzentado (AHAMAD *et al.*, 2018). Codornas infectadas experimentalmente com *Aspergillus flavus* desenvolveram sinais clínicos semelhantes, com início dentro de 24h após inoculação intratraqueal (PANDITA; SADANA; ASRANI, 1991).

Em um estudo experimental com codornas macho de 21 dias de idade criadas em gaiolas, foi verificado após dois dias de inoculação intratraqueal de *A. fumigatus*, penas eriçadas, apatia, dispneia, respiração ofegante, diarreia aquosa esverdeada, anorexia e óbitos de todas as aves infectadas não tratadas em 10 dias após inoculação (GÜMÜŞSOY *et al.*, 2004). Em outro estudo experimental com codornas japonesas de oito meses de idade de ambos os sexos, observou-se surgimento de sinais clínicos em 48h após a inoculação intratraqueal de *A. fumigatus*, como dispneia e morte de todas as aves infectadas no sétimo dia após inoculação (TELL *et al.*, 2010). Dependendo da quantidade de aves alojadas e da velocidade da disseminação, os principais achados podem estar relacionados a codornizes mortas no interior das gaiolas (OLSON, 1969).

Durante o exame necroscópico, as alterações nos órgãos internos podem estar associadas ao pulmão, sacos aéreos, serosa do intestino, cavidade peritoneal e saco pericárdico (GHORI; EDGAR, 1973). Além de outros órgãos passíveis de serem acometidos, podem ser descritas alterações como: focos/nódulos multifocais acinzentados ou amarelados em sacos aéreos (AHAMAD *et al.*, 2018; AMBILY; MINI, 2017; OLSON, 1969) e parede abdominal (AHAMAD *et al.*, 2018); congestão leve a difusa e focos/nódulos multifocais acinzentados ou amarelados em pulmão (AHAMAD *et al.*, 2018; AMBILY; MINI, 2017; OLSON, 1969); turvação, espessamento, coloração esbranquiçada e focos multifocais brancacentos em sacos aéreos; turvação e deposição de conteúdo esbranquiçado em pericárdio; aumento da espessura, opacidade e aderência de peritônio no intestino; focos caseosos amarelados aderidos a superfície da serosa na extensão do intestino; áreas multifocais com manchas discretas difusas e focos multifocais esbranquiçados em fígado (AHAMAD *et al.*, 2018); nódulos granulomatosos amarelados, duros e aderidos ao intestino; e congestão esplênica (AMBILY; MINI, 2017). Também podem ser visualizadas, áreas focais de malácia no cérebro (OLSON, 1969), especialmente em quadro mais crônicos (ABREU; OLIVEIRA, 2020).

Para efetivação do diagnóstico, a associação de achados macroscópicos com exames complementares é necessária. Para visualização de elementos compatíveis com infecção fúngica, é necessária a realização de coloração especial na histopatologia, como Grocott-Gomori's hexamine [metenamina] de coloração com prata (AHAMAD *et al.*, 2018; BORAH

et al., 2010; TELL *et al.*, 2010) ou ácido periódico-Schiff (GÜMÜŞSOY *et al.*, 2004; OLSON, 1969). Apesar da visualização de estruturas fúngicas em algumas situações ser possível pela coloração de Hematoxilina-Eosina (AMBILY; MNI, 2017; BORAH *et al.*, 2010). O isolamento dos fungos pode ser realizado com meios de cultura, como ágar triptose (OLSON, 1969), ágar sabouraud dextrose com penicilina e estreptomicina (GÜMÜŞSOY *et al.*, 2004), ágar sabouraud dextrose (BORAH *et al.*, 2010), ágar sabouraud dextrose com cloranfenicol (AMBILY; MNI, 2017; TELL *et al.*, 2010). A imunohistoquímica também pode ser utilizada para detecção de antígenos específicos (TELL *et al.*, 2010).

Na avaliação histológica com coloração especial Grocott-Gomori's hexamine [metenamina], dos nódulos encontrados no subcutâneo, sacos aéreos, pulmões, proventrículo, ventrículo, fígado e pulmão demonstram lesões granulomatosas micóticas e área necrótica central eosinofílica com presença de hifas fúngicas septadas e ramificadas envoltas por macrófagos, linfócitos, células gigantes e tecido conjuntivo fibroso (AHAMAD *et al.*, 2018). Quando a observação é realizada em lâminas coradas com hematoxilina-eosina, é verificado no centro dos nódulos, área eosinofílica circundada por células epitelioides (OLSON, 1969).

Também são observados microscopicamente em infecções por *A. fumigatus*, sacos aéreos com congestão severa e hiperplasia do epitélio, aerossaculite granulomatosa micótica crônica, formada por infiltrado linfocítico, heterofílico, hifas fúngicas com deposição de fibrina; pulmão com congestão moderada difusa, bronquite subaguda e granuloma micótico; fígado com congestão difusa, hiperplasia de ducto biliar, perihepatite fibrinosa crônica; esôfago com granuloma micótico; proventrículo e ventrículo com inflamação granulomatosa associado à hiperplasia do epitélio proventricular; intestinos com inflamação subaguda moderada difusa; rins com granuloma micótico solitário e congestão difusa moderada; coração com pericardite difusa subaguda, e inflamação do epicárdio e miocárdio difusas (AHAMAD *et al.*, 2018; AMBILY; MINI, 2017; GÜMÜŞSOY *et al.*, 2004). Nos focos granulomatosos também podem ser observados hifas não septadas e conídios (AMBILY; MINI, 2017; GÜMÜŞSOY *et al.*, 2004). O cérebro também pode apresentar lesões como congestão severa e infiltrado de células mononucleares nas meninges (BORAH *et al.*, 2010).

Para diferenciação das espécies de *Aspergillus* spp. de leveduras, como o gênero *Candida*, é necessário a observação da morfologia dos conidióforos. O procedimento é realizado por meio da coleta ou *print* com fita adesiva da região brancacenta das colônias formadas, adicionando uma gota de lactofenol, montagem entre lâmina e lamínula e visualização em microscópio óptico (ANDREATTI FILHO; OKAMOTO, 2020).

O tratamento da aspergilose em aves de produção costuma ser bastante oneroso, fazendo com que os esforços estejam ligados a elaboração de programas de higiene e desinfecção, que devem ser constantemente atualizados caso seja identificado o agente na instalação, além da análise da casca de ovo, água, ração, penas ou algum meio que possa ser contaminado pelo fungo no ambiente da produção (ANDREATTI FILHO; OKAMOTO, 2020).

3.2 CANDIDÍASE

Existem centenas de espécies causadoras da candidíase em animais, sendo que, em codornas, *Candida albicans* é encontrada com maior frequência (ASRANI *et al.*, 1993; PENNYCOTT; DUNCAN; VENUGOPAL, 2003; SAH; MALL; MOHANTY, 1982). O gênero *Candida*, caracteriza-se por possuir formato redondo ou oval, sendo classificado como levedura e compondo também o filo *Fungi Imperfect*. Como resultado da reprodução assexuada, há formação de blastoconídios, também denominado de células filhas, originadas a partir de brotamento e que permanecem interligadas, podendo alongar-se e formar falsas hifas. A maioria das espécies exigem ambiente aeróbico com temperatura a 37° C (QUINN *et al.*, 2007).

A maioria das espécies fúngicas patogênicas para os animais, como *Candida albicans*, não possuem estágio sexuado. O gênero *Candida*, é considerado polimórfico, pois pode apresentar-se dependendo do ambiente instalado formas adicionais as convencionais (hifas ou redonda/oval) como: células ovais em brotamento (meios de cultura com formação de colônias); pseudo-hifas ou hifas septadas verdadeiras (tecido animal ou quando crescem intensamente em ágar) e clamidósporos (condições desfavoráveis) (QUINN *et al.*, 2007).

O gênero *Candida* é considerado comensal do trato digestivo e urogenital e algumas espécies podem ser encontradas em elementos ambientais. A infecção em aves é favorecida pela redução da capacidade imunológica, utilização de antibióticos por longos períodos desequilibrando a microbiota/microbioma, déficit vitamínico, consumo de alimentos úmidos, lesão tecidual e/ou doenças primárias (ABREU; OLIVEIRA, 2020; QUINN *et al.*, 2007). As lesões podem limitar-se aos órgãos onde a presença do fungo é comum ou afetar outros tecidos por meio da disseminação pela corrente sanguínea (QUINN *et al.*, 2007).

Segundo Abreu e Oliveira (2020), os sinais clínicos de codornas com candidíase incluem: dificuldade na deglutição, disfagia, perda de peso e diarreia. Na avaliação das doenças observadas em 403 codornas durante nove meses, observou-se 23 aves acometidas por candidíase (BIGLAND; MASSA; WOODARD, 1965). Avaliando 24 codornas japonesas de

seis semanas oriundas de um estabelecimento aviário, Pennycott, Duncan e Venugopal (2003), diagnosticaram seis aves com candidíase, das quais, cinco também tinham doença de Marek e o cultivo de amostras em meios de cultura, revelou ainda presença de *C. albicans* e *C. tropicalis* no inglúvio, além de *C. albicans* associada ao gênero *Pasteurella*, causando aerossaculite. As lesões relacionadas a presença de *C. albicans*, também pode estar associada a alterações em coxins, como aumento de volume e ulceração (SAH; MALL; MOHANTY, 1982).

As lesões mais comuns descritas durante o exame interno das codornas acometidas são: placas necróticas branco-amareladas, elevadas, secas e frouxamente aderidas no trato digestório superior, incluindo língua. Com o decorrer da infecção as áreas necróticas podem reduzir, porém a mucosa dos órgãos digestivos apresenta-se mais espessa com ondulações. Esses aspectos foram observados em um estudo experimental que durou 10 semanas (ASRANI *et al.*, 1993). Alterações também observadas por Pennycott, Duncan e Venugopal (2003) na avaliação de codornas infectadas naturalmente e neste caso, anormalidades no trato reprodutivo de uma codorna também foram notadas, como peritonite causada pela presença de ovo na cavidade celomática, impactação e aumento do oviduto. *C. albicans* também esteve envolvida em alterações de coxim plantar como aumento de volume leve a moderado, ulcerações que sangravam com facilidade e à medida que as úlceras evoluíam, as mesmas também cicatrizavam (SAH; MALL; MOHANTY, 1982).

Microscopicamente em fragmentos teciduais corados com hematoxilina-eosina pode-se observar: língua com espessamento de epitélio, congestão de tecido subepitelial com infiltração heterofílica e hipertrofia das glândulas; língua e inglúvio com hiperkeratose e camada de queratina superficial rompida, irregular associado a infiltração de estruturas fúngicas pouco definidas, sendo que à medida que a infecção persiste, as alterações tornam-se mais distribuídas; esôfago com congestão, edema submucoso, paraqueratose intensa, hiperplasia e hipertrofia das glândulas; proventrículo e intestino com ruptura de epitélio, aumento da quantidade de células caliciformes, hiperplasia discreta, congestão e infiltrado de células mononucleares (ASRANI *et al.*, 1993); e inglúvio com inflamação, área de necrose associada a leveduras e pseudohifas (PENNYCOTT; DUNCAN; VENUGOPAL, 2003). As estruturas fúngicas são melhor visualizadas por colorações especiais citadas a seguir (ABREU; OLIVEIRA, 2020).

O diagnóstico pode ser realizado por meio da coleta de fragmentos teciduais lesionados e submetidos a histopatologia, *imprints* dos órgãos acometidos e/ou inoculação em meio de cultura, como ágar dextrose saboraud's contendo cloranfenicol (ASRANI *et al.*, 1993; SAH; MALL; MOHANTY, 1982) e Rose-Bengal cloranfenicol ágar (PENNYCOTT; DUNCAN;

VENUGOPAL, 2003). Dentre as colorações especiais utilizadas para demonstrar os fungos, encontra-se o ácido periódico Schiff, Gridley (ASRANI *et al.*, 1993; SAH; MALL; MOHANTY, 1982) e nitrato de metenamina de prata de Grocott (ASRANI *et al.*, 1993). Após a realização dos *imprints* teciduais, as lâminas podem ser coradas pela técnica de Ziehl-Neelsen ou Ziehl-Neelsen modificada (PENNYCOTT; DUNCAN; VENUGOPAL, 2003). O teste de tubo germinativo também é uma opção para identificação mais exata de *C. albicans*, pois através do crescimento em placa, coleta-se uma amostra e transfere-a para um tubo. Posteriormente, por meio do microscópio e análise do tubo germinativo, é possível diferenciá-la de algumas espécies do gênero (ANDREATTI FILHO; OKAMOTO, 2020).

Assim como aspergilose, tratamento da candidíase gera controvérsias, especialmente pela relação custo-benefício dos antifúngicos, dessa forma, os esforços devem estar ligados a métodos de controle nas etapas de produção e na implementação de programas higiênico-sanitário (ANDREATTI FILHO; OKAMOTO, 2020).

4 ENFERMIDADES METABÓLICAS

Existem diversos relatos de doenças metabólicas em aves de forma geral, porém, poucos são os que relatam essas doenças em codornas. Muitas vezes, os estudos são experimentais, com foco na aplicação para medicina humana. Um estudo, por exemplo, induziu transtornos de microbiota intestinal por meio de dieta com alta quantidade de purina em codornas. Esse transtorno levou ao quadro de hiperuricemia, que em boa parte dos casos é acompanhada de doença renal. Utilizaram então a planta chicória, que foi capaz de reduzir significativamente a hiperuricemia nesses animais (BIAN *et al.*, 2020).

Outra doença que acontece em codornas é a doença de Pompe, caracterizada pela deficiência da enzima lisossomal que degrada glicogênio, chamada de ácido alfa-glicosidase, mais conhecida como deficiência de ácido maltase. Sua etiologia é genética, sendo uma doença autossômica recessiva (FUJITA; NONAKA; SUGITA, 1991). Como sinais clínicos as aves apresentam miopatia progressiva, que muitas vezes culminam no óbito, uma vez que a ave não consegue levantar as asas, se mantém em posição supinada e vai perdendo a força muscular. No geral as aves com essa enfermidade são descartadas, porém, um estudo experimental, injetou a forma precursora dessa enzima nas codornas e obteve significativa melhora do quadro. Todavia, isso não é aplicável a animais de produção, e o foco do estudo era testar o medicamento em modelo animal para os casos de doença de Pompe em humanos (KIKUCHI

et al., 1998). Cabe destacar que pesquisas anteriores a essas, haviam sido realizadas comparando as doenças nas codornas com os humanos (FUJITA; NONAKA; SUGITA, 1991).

Codornas japonesas machos quando suplementadas com dietas com alta energia sofrem alterações nas funções metabólicas do fígado e nos testículos. Histologicamente, os testículos apresentam diminuições significativas no diâmetro dos túbulos seminíferos, na espessura do epitélio seminífero e desorganização acentuada nas células germinativas. Porém, quando é associada a dieta enérgica a suplementação com semente *Silydum marianum*, os distúrbios testiculares e as alterações metabólicas do fígado são prevenidas. Com isso, essa semente desempenha papel protetor nesses órgãos (CERIBAS *et al.*, 2020).

Outra suplementação à base de sementes, com pó de semente de abacate foi utilizada em um estudo com codornas japonesas fêmeas. Os animais suplementados com este pó melhoraram a qualidade da carne, bem como as funções hepáticas e renais (TUGIYANTI; IRIYANTI; APRIYANTO; 2019). Enquanto Olgun e Yildiz (2014), realizaram estudo com suplementação de codornas com cádmio, que é um subproduto da mineração do zinco, demonstrando que a suplementação de cádmio a dieta teve efeito na qualidade da casca de ovos em codornas reprodutoras, reduzindo a fragilidade da casca desses ovos que antes estava presente.

Alterações metabólicas podem repercutir ainda em alterações ósseas em codornas. Um estudo comprovou que dietas desbalanceadas, principalmente em relação aos minerais pode levar a deformidades tibiotársicas (CHARUTA *et al.*, 2013), bem como inatividade, visto que aves que vivem em gaiolas são mais predispostas a essas alterações do que as criadas em piso (JENDRAL *et al.*, 2008).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As enfermidades encontradas em codornas, especialmente as domésticas, utilizadas para produção de ovos ou carnes, em partes são semelhantes às de galinhas/frangos e perus de subsistência e comerciais, salvo exceções.

As doenças metabólicas, em especial, são pouco diagnosticadas e observadas em codornas, diferentemente dos frangos, por exemplo. Também é importante destacar, que as parasitoses, assim como em outras espécies de aves, recebem pouca atenção na produção avícola, entretanto, são agentes causadores de importantes impactos financeiros e na saúde das

codornas, principalmente nas infecções subclínicas, que em geral, não são percebidas e podem está intimamente ligada, por exemplo, a conversão alimentar alta e redução da produtividade.

Em geral, os esforços para prevenção e controle das enfermidades em codornas, devem estar baseadas na elaboração de um ótimo e aplicável programa de biossegurança e implantação de programas de autocontrole, buscando mapear epidemiologicamente os agentes envolvidos no estabelecimento, coleta periódica de material para diagnóstico e monitoramento/determinação de causas para mortalidade nos aviários.

6 REFERÊNCIAS

- ABREU, J. T. de.; OLIVEIRA, D. D. de. Principais doenças na criação de codornas. In: ANDREATTI FILHO, R. L. *et al.* **Doenças das aves**. 3. ed. Campinas: Facta, 2020. p. 1279-1298.
- AHAMAD, D. B. *et al.* Pathology of systemic aspergillosis in a desi chicken. **Shanlax International Journal of Veterinary Science**, v. 5, n. 4, p. 36-42, 2018.
- AHID, S. M. M.; SUASSUNA, A. C. D.; FILGUEIRA, K. D. Fauna parasitológica em animais domésticos e exóticos no município de Mossoró-RN. **Biociências**, v. 17, n. 1, p. 44-47, 2009.
- ALBUQUERQUE, D. D. A. **Estudo de ácaros plumícolas (Acari: Astigmata) em calopsita (*Nymphicus hollandicus* keer, 1792)**. 2010. 71 f. Dissertação (Mestre em Clínica Veterinária) – Programa de Pós-Graduação em Clínica e Reprodução Animal, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2010.
- ANDREATTI FILHO, R. L.; OKAMOTO, A. Enfermidades fúngicas. In: ANDREATTI FILHO, R. L. *et al.* **Doenças das aves**. 3. ed. Campinas: Facta, 2020. p. 1279-1298.
- AMARAL, J. A. *et al.* Malófagos de galinha-d'angola (*Numida meleagris*, L. 1758) em criação extensiva no estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 14, n. 3, p. 159-162, 2007.
- AMBILY, R.; MINI, M. Incidence of systemic aspergillosis in Japanese quails (*Coturnix japonica*) in a private farm. **Trends in Biosciences**, v. 10, n. 14, p. 2593-2595, 2017.
- AMITANI, R. *et al.* Purification and characterization of factors produced by *Aspergillus fumigatus* which affect human ciliated respiratory epithelium. **Infection and Immunity**, v. 63, n. 9, p. 3266-3271, 1995.
- ARAÚJO, T. *et al.* Ocorrência de alguns endo e ectoparasitos no serpentário da UNIFENAS - universidade de Alfenas - MG. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, n. 1, p. 19-22, 1999.

ASRANI, R. K. *et al.* Experimental candidiasis in Japanese quail pathological changes. **Human and Animal Mycology**, v. 121, p. 83-89, 1993.

BIAN, M. *et al.* Chicory ameliorates hyperuricemia via modulating gut microbiota and alleviating LPS/TLR4 axis in quail. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 131, p. 1-11, 2020.

BIGLAND, C. H.; MASSA, A. J. da; WOODARD, A. E. Diseases of japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) – a flock survey and experimental transmission of selected avian pathogens. **Avian Diseases**, v. 9, n. 2, p. 212-219, 1965.

BORAH, M. K. *et al.* Aspergillosis in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Indian Journal of Veterinary Pathology**, v. 34, n. 2, p. 203-204, 2010.

BRADLEY, R.; FEDYNICH, A. M.; LERICH, S. P. Survey of hemoparasites in scaled quail from elephant mountain wildlife management area, Brewster County, Texas. **The Texas Journal of Agriculture and Natural Resource**, v. 17, p. 18-22, 2004.

BRITO, D. R. B. *et al.* Atividade anti-helmíntica dos extratos aquoso e etanólico do fruto da *Morindacitrifolia* sobre *Ascaridia galli*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 4, p. 32-36, 2009.

BRUNO, S. F.; ALBUQUERQUE, D. D. A. Ocorrência e tratamento de sarna knemidocóptica (*Knemidokoptes* sp.) em aves de companhia atendidas na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, RJ. **Ciência Rural**, v. 38, n. 5, p. 1472-1475, 2008.

CANDIDO, M. J. S. *et al.* Registro de *Plasmodium* spp. em codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) da região serrana do Espírito Santo. In: Feira de avicultura e suinocultura capixaba, 6, 2022, Venda Nova do Imigrante. **Anais... 6ª FAVESU - Feira de Avicultura e Suinocultura Capixaba**, 2022. v.1, 5 p.

CARNEIRO, M. B.; CALAIS JUNIOR, A.; MARTINS, I. V. Avaliação coproparasitológica e clínica de aves silvestres e exóticas mantidas em criatórios particulares no município de Alegre-ES. **Ciência Animal Brasileira**, v. 12, n. 3, p. 525-529, 2011.

CERIBAS, S. *et al.* Negative effect of feeding with high energy diets on testes and metabolic blood parameters of male Japanese quails, and positive role of milk thistle seed. **Theriogenology**, v. 144, p. 74-81, 2020.

CHAGAS, C. R. F. **Plasmodium spp. em aves silvestres da fundação parque zoológico de São Paulo**: identificação da espécie por microscopia e sequenciamento do gene mitocondrial do citocromo B. 2016. 155 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Doenças tropicais e Saúde Internacional, Instituto de Medicina Tropical, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

CHARUTA, A. *et al.* Age- and sex-related changes in mineral density and mineral content of the tibiotarsal bone in quails during post-hatching development. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 19, n. 1, p. 31-36, 2013.

CYR, T. L. *et al.* À espreita nas asas: investigação de hemoparasitas aviários e seus insetos vetores no Fort Worth Zoo. **Annual Meeting**, 2006. Disponível em: <https://esa.confex.com/esa/2006/techprogram/paper_26782.htm>. Acesso em: 23 mai. 2022.

DERRAIK, J. G. B. Recommendation for mosquito control in zoological parks to reduce disease transmission risk. **The Weta**, v. 29, p. 16-20, 2005.

FUJITA, T.; NONAKA, I.; SUGITA, H. Japanese quail and human acid maltase deficiency: a comparative study. **Brain and Development**, v. 13, n. 4, p. 247-255, 1991.

GERON, L. J. V. *et al.* Raspa de mandioca integral desidratada na alimentação de codornas japonesas sobre a produção de ovos e a qualidade dos ovos durante a conservação *in natura*. **Archives of Veterinary Science**, v. 19, n. 3, p. 36-46, 2014.

GESEK, M. *et al.* Pathomorphological changes in the alimentary system of Japanese quails naturally infected with *Eimeria tsunodai*. **Bulletin Veterinary Institute in Pulawy**, v. 58, n. 1, p. 41-45, 2014.

GHORI, H. M.; EDGAR, S. A. Comparative susceptibility of chickens, turkeys and *Coturnix* quail to aspergillosis. **Poultry Science**, v. 52, n. 6, p. 2311-2315, 1973.

GÜMÜŞSOY, K. S. *et al.* Experimental *Aspergillus fumigatus* infection in quails and results of treatment with itraconazole. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 51, n. 1, p. 34-38, 2004.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Pesquisa da pecuária municipal**. Rio de Janeiro: Ministério da agricultura, 2020. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2020_v48_br_informativo.pdf>. Acesso em: 22 maio 2022.

JACOBSEN, G. *et al.* *Cryptosporidium* sp. em intestino, bursa de Fabricius e traqueia de frangos (*Gallus gallus*). **Ciência Animal**, v. 36, n. 2, p. 682-684, 2006.

JENDRAL, M. J. *et al.* Bone mineral density and breaking strength of white leghorns housed in conventional, modified, and commercially available colony battery cages. **Poultry Science**, v. 87, n. 5, p. 828- 837, 2008.

KELLY, E. J. *et al.* *Haemoproteus (Pahaemoproteus)* spp. em codorniz de raça em cativeiro (*Colinus virginianus*) no sul de Utah. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 54, n. 4, p. 726-733, 2018.

KIKUCHI, T. *et al.* Clinical and metabolic correction of pompe disease by enzyme therapy in acid maltase-deficient quail. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 101, n. 4, p. 827-833, 1998.

KULIK, R. A. *et al.* *Blastocystis* sp. and other intestinal parasites in hemodialysis patients. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 12, n. 4, p. 338-341, 2008.

LIMA, H. J. D. *et al.* Frequência de endoparasitos das famílias Eimeriidae e Ascarididae em codornas japonesas na região metropolitana do Vale do Rio Cuiabá/MT. **Journal of Veterinary Science**, v. 1, n. 1, p. 7-10, 2014.

- LOPES, T. V. *et al.* Prevalência de endoparasitas em codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) em dois aviários comerciais na região amazônica. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. 1-5, 2021.
- MACHADO, H. H. S. *et al.* Ciclo errático de *Ascaridia galli* (Schrank, 1788) em ovo de galinha. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 1, p. 147-149, 2007.
- MARIETTO-GONÇALVES, G. A. *et al.* Prevalência de endoparasitas em amostras fecais de aves silvestres e exóticas examinadas no laboratório de ornitopatologia e no laboratório de enfermidades parasitárias da FMVZ-UNESP/Botucatu, SP. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 349-354, 2009.
- MELO, Y. J. O. *et al.* Ovos de helmintos encontrados em fezes de aves silvestres. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, v. 16, n. 29, p. 1129-1148, 2019.
- MONTE, G. L. S.; CAVALCANTE, D. G.; OLIVEIRA, J. B. S. Parasitic profiling of Japanese quails (*Coturnix japonica*) on two farms with conventional production system in the Amazon region. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 5, p. 847-851, 2018.
- MONTE, G. L. S. *et al.* Pathological alterations in carcasses and viscera of japanese quail (*Coturnix japonica* -Temminck & Schlegel, 1849) of commercial breeding. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 9, n. 3, p. 205-211, 2015.
- NASCIMENTO, J. G. *et al.* **Criação de codornas para corte**. Brasília-DF: EMATER-DF, 2021. 56p.
- OLGUN, O.; YILDIZ, A. Ö. The effects of supplementation boron, zinc and their cadmium combinations on performance, egg shell quality, reproductive and biomechanical properties of bone in quail breeders. **Indian Journal of Animal Research**, v. 48, n. 6, p. 564-570, 2014.
- OLIVEIRA, J. B. *et al.* External parasites of raptors (Falconiformes and Strigiformes): identification in an *ex situ* population from Mexico. **Revista de Biologia Tropical**, v. 59, n. 3, p. 1257-1264, 2011.
- OLIVEIRA, P. S. *et al.* Diversity and distribution of coccidia of wild birds in an Atlantic forest fragment area in southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 26, n. 4, p. 457-464, 2017.
- OLSON, L. D. Case report-aspergillosis in Japanese quail. **Avian Diseases**, v. 13, n. 1, p. 225-227, 1969.
- PANDITA, A.; SADANA, J. R.; ASRANI, R. K. Studies on clinical signs and haematological alterations in pneumonic aspergillosis due to *Aspergillus flavus* in Japanese quail. **Mycopathologia**, v. 116, n. 2, p. 119-123, 1991.
- PENNYCOTT, T. W.; DUNCAN, G.; VENUGOPAL, K. Marek's disease, candidiasis and megabacteriosis in a flock of chickens (*Gallus gallus domesticus*) and Japanese quail (*Coturnix japonica*). **Veterinary Record**, v. 153, n. 10, p. 293-297, 2003.

PINTO, R. M. *et al.* First report of a natural helminth infection in the Japanese quail *Coturnix japonica* Temminck & Schlegel (Aves, Phasianidae, Galliformes) in the neotropical region. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, n. 4, p. 836-838, 2005.

QUEIROZ, E. L. G. **Levantamento parasitológico em codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), criadas no setor de avicultura da Universidade Federal da Paraíba, Campus II, Areia- PB.** 2015. 22 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Medicina Veterinária) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2015.

QUINN, P. J. *et al.* **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas.** Porto Alegre: Artmed, 2007. 507p.

ROSA, M. S. *et al.* Enteroparasites of the families Eimeriidae and Ascarididae in Japanese quail (*Coturnix japonica*) in the metropolitan region of the Cuiabá River Valley, state of Mato Grosso, Brasil. **Journal of Veterinary Science**, v. 23, n. 2, p. 1-6, 2017.

SAH, R. L.; MALL, M. P.; MOHANTY, G. C. Cutaneous candidiasis in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Mycopathologia**, v. 80, p. 33-37, 1982.

SERRA-FREIRE, N. M.; MELLO, R. P. **Entomologia e acarologia na medicina veterinária.** Rio de Janeiro: L. F. Livros de Veterinária, 2006. 199 p.

SHAIKH, F.; NAZ, S.; BIRMANI, N. A. Prevalence of chewing lice (Phthiraptera: Insecta) from common quail *Coturnix coturnix* (aves: Galliformes: Phasianidae) from Jamshoro and Hyderabad, Sindh Pakistan. **Punjab University Journal of Zoology**, v. 34, n. 1, p. 17-20, 2019.

SILVA, T. M. *et al.* Histomoníase em peru (*Meleagris gallopavo*) - relato de caso. **Veterinária e Zootecnia**, v. 21, n. 2, p. 269-274, 2014.

TAN, K. S. *Blastocystis* in humans and animals: new insights using modern methodologies. **Veterinary Parasitology**, v. 126, n. 1-2, p. 121-144, 2004.

TAN, K. S. New insights on classification, identification and clinical relevance of *Blastocystis* spp. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 21, n. 4, p. 639-665, 2008.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Veterinary parasitology.** 4. ed. Chichester: Wiley Blackwell, 2016. 1032p.

TEIXEIRA, M.; TEIXEIRA-FILHO, W. L., LOPES, C. W. G. Coccidiosis in Japanese quails (*Coturnix japonica*) characterization of a naturally occurring infection in a commercial rearing farm. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 6, p. 129-134, 2004.

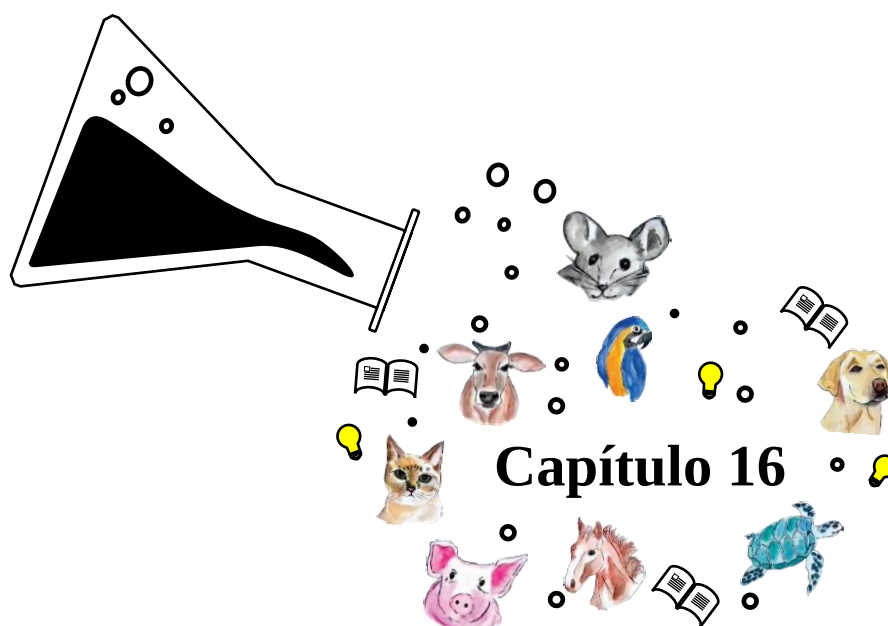
TELL, L. A. *et al.* Efficacy of voriconazole in Japanese quail (*Coturnix japonica*) experimentally infected with *Aspergillus fumigatus*. **Medical Mycology**, v. 48, n. 2, p. 234-244, 2010.

TUGIYANTI, E.; IRIYANTI, N.; APRIYANTO, S.Y. The effect of avocado seed powder (*Persea americana* Mill) on the liver and kidney functions and meat quality of culled female quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Veterinary World**, v. 12, n. 10, p. 1608-1615, 2019.

URQUHART, G. M. *et al.* **Parasitologia veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 273p.

VASCONCELOS, O. I. Parasitose em aves de produção industrial. *In*: JUNIOR, A. B.; MACARI, M. **Doença das aves**. Campinas: Facta, 2000. p. 423-428.

WANG, R. *et al.* *Cryptosporidium* spp. in quails (*Coturnix coturnix japonica*) in Henan, China: molecular characterization and public health significance. **Journal Veterinary Parasitology**, v. 187, n. 3-4, p. 534-537, 2012.



***Trypanosoma cruzi*: contaminação de alimentos**

Ana Flávia Ferreira Selva ¹

Wanderson Lopes Andrade ²

Marcela Pires de Oliveira ³

Daniele Ingrid Moreira Damásio ⁴

Marcos Santos Zanini ⁵

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: aflavia44@hotmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: wanderson.andrade@hotmail.com.br

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: marcelapires04@gmail.com

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: danielaingrid09@gmail.com

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

1 INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (DC) ou Tripanossomíase Americana (TA), se trata de uma doença infecciosa de fase aguda e crônica, antes limitada ao continente americano, entretanto atualmente se encontra com frequência em países de outros continentes. É uma doença de grande importância à saúde pública, gerando grandes impactos sociais e econômicos (DIAS *et al.*, 2016). De acordo com o Ministério da Saúde, é caracterizada como negligenciada e de notificação compulsória (WHO, 2002).

A doença trata-se de uma antropozoonose de elevada morbimortalidade, causada por protozoário flagelado da espécie *Trypanosoma cruzi*, capaz de infectar diversas espécies de mamíferos domésticos e silvestres, dentre eles, o homem e o cão, sendo o cão o principal reservatório da doença, contribuindo com sua prevalência (COELHO, 2013). O protozoário tem ciclo heteróximo, ou seja, para completar seu ciclo biológico, necessita de mais de dois hospedeiros, sendo eles os hospedeiros vertebrados, caracterizados pelas diversas espécies de mamíferos, e os hospedeiros invertebrados, caracterizados como insetos hematófagos que atuam como seu vetor, os triatomíneos (FREITAS *et al.*, 2018; WHO, 2002). Acredita-se que a DC afeta em média de 16 a 18 milhões de indivíduos em todo o mundo (CARVALHO *et al.*, 2015).

Seu agente etiológico pode ser transmitido por diversas vias, dentre elas, a via vetorial considerada a via clássica, que depende da presença do triatomíneo infestado com o protozoário. Enquanto as demais vias, caracterizadas como secundárias, como a via transfusional, transplacentária, transplante de órgãos e a via oral. Essas vias vêm chamando a atenção do Ministério da Saúde devido ao aumento de notificações, principalmente a via oral, pois tem sido a mais notificada no Brasil nos últimos anos (CARVALHO *et al.*, 2015; MATOS, 2007).

A via de transmissão oral tem sido notificada com frequência e apresenta predomínio frente as outras no Brasil, sendo responsável pelo aumento da morbimortalidade da forma aguda, devido ao consumo de alimentos contaminados com o protozoário ou com o triatomíneo infectado (MATTOS, 2017). Atualmente, a transmissão por via oral tem se demonstrado a principal via de transmissão entre os animais, principalmente os de ciclos silvestres, pois tem o hábito de se alimentarem de insetos. No homem, essa via tem sido reportada desde a década de 1960, porém atualmente vem ganhando atenção maior (COSTA *et al.*, 2013; DIAS *et al.*, 2016, PACHECO *et al.*, 2021).

Relatos desse cenário tem ocorrido com frequência na região amazônica, principalmente no Pará, entretanto sua ocorrência tem sido observada também em outras localidades, como em

Santa Catarina e no município de Guarapari – Espírito Santo. Os casos relatados por transmissão via oral estão principalmente ligados aos alimentos, como por exemplo o açaí e caldo de cana (PACHECO *et al.*, 2021; PONTES, 2020).

Diante disso, se faz necessário uma revisão a literatura sobre a temática dessa via de transmissão, tal como relatar surtos epidemiológicos da infecção, através da ingestão de alimentos contaminados, identificando os principais alimentos responsáveis, sua sintomatologia, diagnóstico e formas de controle e prevenção frente a esse cenário de contaminação da doença.

2 PANORAMA GERAL DA DOENÇA DE CHAGAS

A DC, é originalmente uma infecção enzoótica de animais selvagens que sofreu mudanças e passou a ser transmitida aos seres humanos como uma antroponose resultante da invasão de florestas. Embora tenha registro de infecção humana encontrada em múmias, a DC endêmica se estabeleceu como zoonose somente nos últimos 200-300 anos (COURA; DIAS, 2009).

Em 1908, Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas, identificou pela primeira vez o protozoário *Trypanosoma cruzi* como agente causador da TA, durante uma campanha antimalárica no norte do estado de Minas Gerais (CHAGAS, 1909).

Chagas foi informado sobre insetos hematófagos, popularmente conhecidos como “barbeiros”, que viviam próximos às habitações locais que picavam pessoas durante o sono, preferencialmente na face (UNIFEI, 2022). A fim de analisar se esses insetos abrigavam patógenos, Chagas os dissecou e encontrou tripanossomas em seu intestino, denominando-os de *T. cruzi*, em homenagem ao seu mentor, Oswaldo Cruz (CHAGAS, 1909).

Originalmente a DC apresentava-se como doença endêmica que tinha predominância no meio rural de países da América Latina (PINAZO; GASCON, 2015). Entretanto, a distribuição geográfica da doença vem mostrando mudanças nos últimos anos (DIAS *et al.*, 2016). O êxodo rural, que aconteceu no Brasil nas décadas de 60 e 70, colaborou para que a enfermidade saísse do meio rural e fosse para os centros urbanos (COURA; BORGES-PEREIRA, 2010; COURA, 2013; DIAS *et al.*, 2016). Assim, o desenvolvimento do processo de industrialização do país, fez com que a DC apresentasse novo contexto epidemiológico urbano, fortalecido pela migração que ocorre dentro do próprio país e pelo desenvolvimento das cidades (COURA; DIAS, 2009).

Com a migração humana, agora da América Latina para outros países, a doença foi carregada para fora das regiões sabidamente com transmissão, principalmente para países Europeus e Estados Unidos (BERN *et al.*, 2011; PINAZO; GASCON, 2015). A DC ultrapassou então, as fronteiras internacionais e pode ser considerada hoje uma epidemia global, na medida em que pode ser transmitida em regiões não endêmicas (SCHMUNIS; YADON, 2010).

3 DOENÇA DE CHAGAS NO BRASIL

O Brasil, por apresentar baixa número de relatos de casos, estudos e base populacional, há dificuldade de mensurar a real magnitude da DC. Inquérito sorológico realizado entre 1975 e 1980 no país, estimou a prevalência da doença em 4,2%, o que corresponde a 6,5 milhões de pessoas infectadas (DIAS *et al.*, 2016)

No ano de 1995, foi estimada prevalência da infecção por *T. cruzi* no Brasil, em 1,3%, estimando o número de 1,96 milhões de pessoas infectadas. Posteriormente a Organização Pan-americana da Saúde (OPAS), inferiu que o número de pessoas expostas em zonas endêmicas no Brasil era de 21,8 milhões, sendo que 1,9 milhão era o número de pessoas infectadas (DIAS *et al.*, 2016).

Em levantamento bibliográfico realizado no período de 1980 a 2012, estimou prevalência de 4,2%, 4,6 milhões de pessoas infectadas por *T. cruzi* no Brasil. Em estudo realizado em 2020, foi destacado que 60% dos infectados com *T. cruzi*, permanecem assintomáticos, 30% apresentam forma cardíaca e 10%, a forma digestiva. Realizando projeções da prevalência entre 1,02% a 2,4%, as porcentagens referentes as formas clínicas da DC seriam equivalentes a: 819.351 a 1.927.885 de pessoas com a forma assintomática, entre 409.676 a 963.943 de pessoas com a forma cardíaca e 136.559 a 321.314 de pessoas com a forma digestiva (BRASIL, 2021).

Segundo boletim epidemiológico da Secretaria de Vigilância em Saúde, no ano de 2020, foram confirmados 146 casos de DC humana no Brasil, apresentando letalidade de 2%, sendo a transmissão por via oral, a mais registrada. A região de maior notificação foi a região Norte do país. Houve redução de 47% das notificações de casos suspeitos e 63% de casos confirmados, quando comparado ao ano anterior (BRASIL, 2021).

4 AGENTE ETIOLÓGICO E VETORES

A doença é causada por protozoário flagelado de ciclo heteróximo, que pertence à família Trypanosomatidae e ao gênero *Trypanosoma*, sendo a espécie causadora da doença *Trypanosoma (Schizomastix) cruzi*. Esse protozoário apresenta em seu ciclo evolutivo variações fisiológicas e morfológicas, podendo apresentar diferentes formas evolutivas que estão ligadas ao ambiente que circunda. Dentre essas formas, a tripomastigota é infectante aos hospedeiros, encontrada na circulação sanguínea do mamífero ou no intestino do vetor; a amastigota, que se reproduz no interior de células; e a epimastigota encontrada no vetor (COELHO, 2013; OPAS, 2009).

Para o ciclo do *T. cruzi* prosseguir é necessário a presença de um inseto hematófago. Os vetores capazes de transmitir o protozoário pertencem à família Reduviidae, subfamília Triatominae e a três gêneros: *Triatoma*, *Panstrongylus* e *Rhodnius*. Existem atualmente cerca de 148 espécies de triatomíneos, porém somente são capazes de realizar a infecção e com maior importância no Brasil: *Triatoma infestans*, *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata*, *Panstrongylus megistus* e *T. sordida*. Sendo o *T. infestans* o principal responsável pela ampla distribuição geográfica e serem encontrados em ciclos domiciliares (LIMA *et al.*, 2019; SONODA, 2009).

5 HOSPEDEIRO E CICLO BIOLÓGICO

O agente etiológico da TA possui ciclo biológico relativamente complexo, uma vez que pode apresentar variedade de hospedeiros, além de aspectos morfológicos e reprodutivos para que a transmissão de fato ocorra. Quando se fala do hospedeiro portador do parasito em questão, temos duas classificações, o hospedeiro vertebrado e o hospedeiro invertebrado. Os triatomíneos são os hospedeiros invertebrados enquanto animais como morcegos, gambás, cães, o ser humano, e alguns outros mamíferos domésticos e silvestres, configuram os hospedeiros vertebrados (CLAYTON, 2010).

O ciclo biológico se inicia no momento em que o triatomíneo ao fazer o repasto sanguíneo no indivíduo infectado, absorve a forma infectante tripomastigota metacíclica presente no sangue. Desse modo, essas formas se multiplicam no trato intestinal do triatomíneo, diferenciando-se em epimastigota e posteriormente em tripomastigota metacíclica. Assim, no momento que o vetor infectado realiza seu repasto sanguíneo no mamífero, ele irá liberar juntamente com as fezes, a forma infectante, que adentra a pele do hospedeiro pelo ato de coçar

em função de uma reação tipicamente instintiva do organismo, ganhando a corrente sanguínea e adentrando no interior das células. No interior das células, a forma tripomastigota metacíclica se diferencia em amastigota, que irá se multiplicar, até rompe-la por lise, entrando em contato com o meio externo e se diferenciando em tripomastigota permitindo assim, o ciclo novamente (CLAYTON, 2010; WHO, 2002).

6 VIAS DE TRANSMISSÃO

Há diversas formas para ocorrer a transmissão da DC relatadas até o momento. Dentro do habitual, encontra-se a transmissão vetorial, mas existem outras vias fora do ciclo biológico clássico, como a transmissão por transplante de órgãos, transfusões sanguíneas, transmissão congênita, acidental e, por fim, a transmissão oral. Existem variáveis responsáveis para contaminação do hospedeiro por meio do vetor, o triatomíneo estar infectado com o protozoário, a espécie do vetor, uma vez que, há espécies que defecam no momento da picada ou imediatamente após (*T. infestans*), assim o prurido causado durante a picada e percentual de forma infectante presente nas fezes dos barbeiros (COURA, 2003).

6.1 TRANSMISSÃO VETORIAL

Os principais vetores são os triatomíneos, que são hematófagos, possuem hábitos noturnos e defecam durante ou logo após o repasto sanguíneo. Ainda durante a picada há ardência ou coceira no local, fazendo com que o hospedeiro coce. Isso é de suma importância, uma vez que o tripanossoma desenvolve-se no intestino do vetor sendo eliminado com as fezes (ARGOLO *et al.*, 2008; TARTAROTTI; OLIVEIRA; CERON, 2004).

Diante o exposto, para que a transmissão de fato ocorra, o triatomíneo infectado com *T. cruzi*, picará o hospedeiro, realizará o repasto sanguíneo, ocorre a defecação, o indivíduo se coça e propicia a entrada do parasito no organismo através do local da picada (ARGOLO *et al.*, 2008; BRAZ *et al.*, 2011; TARTAROTTI; OLIVEIRA; CERON, 2004). Ainda poderá ocorrer a contaminação através de mucosas, como olhos e nariz, bastando o indivíduo coçar esses locais com as mãos contaminadas (BRAZ *et al.*, 2011).

Uma vez infectados com o *T. cruzi*, os triatomíneos permanecem infectados durante toda a vida, podendo disseminar o protozoário a cada repasto sanguíneo (OPAS, 2009).

6.2 TRANSMISSÃO POR TRANSFUSSÃO DE SANGUE

Devido aumento da urbanização da DC no Brasil e em outros países da América latina, vem ocorrendo o aumento da transmissão pela via transfusional. Além desse fator, as falhas na triagem clínica e nas sorológicas, bem como a migração de trabalhadores, o nível da parasitemia do doador e a prevalência da doença na região vem contribuindo com a transmissão por via transfusional (WHO, 2002).

Apenas na década de 80 foram realizadas medidas para conter o avanço da doença nas transfusões, como: ampliação da cobertura química contra o vetor, normalização da prática de hemoterapia, criação do sistema nacional de sangue e hemoderivados e iniciou a seleção sorológica dos doadores (DIAS, 2006).

Mesmo sendo criadas as medidas mencionadas, ainda há riscos na transmissão por via transfusão de sangue, sendo elas: devido à baixa sensibilidade dos testes utilizados nos doadores, triagem realizada de maneira incorreta, prevalência da doença na população, quantidade e forma da transfusão e imunossupressão do receptor (MORAES-SOUZA; FERREIRA-SILVA, 2011).

6.3 TRANSMISSÃO POR TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS

O primeiro caso descrito nessa forma de transmissão aconteceu em paciente que sofreu transplante renal, na década de 80. A transmissão por transplante ocorre quando não é realizada triagem adequada do paciente doador. Anteriormente ao transplante, o paciente receptor sofre imunossupressão, devido a isso, caso receba o órgão contaminado, irá desenvolver a forma aguda grave da doença. Outros órgãos podem vir a contaminar o receptor, como transplante hepático, pancreático, medula óssea e coração (DIAS; AMATO NETO, 2011).

6.4 TRANSMISSÃO VERTICAL

Outro meio descrito de transmissão da DC é por via vertical, ocorrendo principalmente via transplacentária. Caso a mãe esteja contaminada com *T. cruzi*, o feto pode vir a se contaminar em qualquer etapa da gestação, mas o mais provável é no último trimestre, devido ao aumento de parasitemia da mãe. Ainda pode ocorrer transmissão por contato da mucosa do

feto com o sangue da mãe durante o parto. Ao contrair a doença, o feto ou bebê cursa com a fase crônica ou aguda da doença (DIAS; AMATO NETO, 2011; GONTIJO *et al.*, 2009).

Ao haver contaminação dos bebês, normalmente estes apresentam baixo peso ao nascer e o número de natimortos é elevado. Uma maneira de remediar a mortalidade ao nascer é o diagnóstico precoce, principalmente introduzindo exames específicos no pré-natal, com início de tratamento imediato (SILVEIRA, 2011).

6.5 TRANSMISSÃO ACIDENTAL

Essa maneira de transmissão ocorre principalmente em indivíduos que trabalham em laboratório e manipulam o sangue, fezes de triatomíneos ou vetores contaminados. Isso se deve, principalmente, à falta de aplicação das medidas de biossegurança por parte dos usuários do laboratório. A contaminação pode ocorrer por não usarem os equipamentos de proteção individual, desatenção ao manipular os contaminantes, falta de capacitação ou instalações e equipamentos inadequados. Esse meio de transmissão é pouco diagnosticado ou pouco relatado (DIAS; AMATO NETO, 2011).

6.6 TRANSMISSÃO POR VIA ORAL

O Programa Nacional de Controle da Transmissão Vetorial tem sido bastante eficaz no controle do principal triatomíneo que atua como vetor do *T. cruzi* em algumas regiões do Brasil, *T. infestans*, mas ainda se faz necessário conhecer as outras formas de transmissão da DC. Dentre as diferentes formas de transmissão, a via oral vem chamando bastante atenção e ganhando notoriedade, pois os dados indicam aumento em 68%. Atualmente essa via, é destacada pelo Ministério da Saúde como de extrema importância, caracterizada como uma das principais formas de transmissão da DC no Brasil, em especial na Região Amazônica (ASSIS, 2017; PACHECO *et al.*, 2021).

A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), juntamente com a Organização Mundial da Saúde (OMS), no ano de 2012, estabeleceram uma classificação para todos os parasitos que são transmitidos através de alimentos, usando como base critérios epidemiológicos, socioeconômicos e clínicos. Nessa classificação, *T. cruzi* ocupou o décimo lugar em um grupo de 24 parasitos (SANTOS, 2018).

A transmissão por via oral apresenta-se de caráter habitual no ciclo endêmico primitivo, comum entre mamíferos do ciclo silvestres, sendo frequente e independente das ações de controle do principal vetor de ciclo domiciliado. No homem, pode ocorrer de maneira circunstancial, sendo através da ingestão de alimentos contaminados com o parasita, com os triatomíneos ou com suas dejeções. Os principais relatos de alimentos contaminados são: caldo de cana, sopas, polpa de açaí, leite, suco de goiaba, suco de laranja, entre outros (OPAS, 2009; SOUSA *et al.*, 2011). Podendo também ocorrer através da ingestão de carne crua, malcozida ou por secreções de alguns mamíferos infectados, como nos casos dos marsupiais (FERREIRA; BRANQUINHO; LEITE, 2014).

A ingestão de sangue de animais silvestres que estejam infectados também pode contribuir, sendo muito comum nos cães devido seu hábito de caça. A manipulação de alimentos contaminados ou utilização de instrumentos contaminados com as fezes de triatomíneos, também são relatados como forma de transmissão, apresentando aumento importante e repentino (ASSIS, 2017; SANGENIS *et al.*, 2016; SANTOS, 2014).

Além das formas de contaminações mencionadas anteriormente, pode acontecer a infecção por contato de insetos rasteiros ou alados, como baratas e moscas contaminadas com as fezes dos triatomíneos infectados (OPAS, 2009; SANTOS, 2018).

Geralmente a transmissão por via oral está relacionada aos surtos da DC de fase aguda (OPAS, 2009; SANTOS, 2018). Entretanto, a ingestão da forma tripomastigota metacíclica em alimentos, destaca o açaí como a principal forma de transmissão oral (SANTOS *et al.*, 2019).

Outro ponto de destaque, consiste na capacidade das fezes dos triatomíneos permanecerem infectadas em locais de elevada umidade por horas, inclusive na forma infectante, podendo contaminar tanto alimentos como patas e aparelho bucal de carreadores diversos, caracterizados como secundários por até 72 horas. Em alimentos como o leite e o caldo de cana, o protozoário pode permanecer viável e infectante por dias, dependendo de fatores como umidade, temperatura e dessecação (BARBOSA *et al.*, 2012).

A OPAS (2009), relata que os estudos disponíveis até o momento sugerem que a transmissão por via oral pode ocorrer a partir das diversas formas do protozoário, podendo ser tripomastigotas, epimastigotas e amastigotas, bem como através de massas celulares oriundas de mamíferos ou dos vetores infectados com o parasita, assim como através do cultivo artificiais do mesmo.

O primeiro caso relatado de infecção em humanos pela via oral, ocorreu em 1936, na Argentina, pela ingestão do leite materno (SANTOS *et al.*, 2019), sendo que em 1965 se

verificou o primeiro relato no Brasil, no Rio Grande do Sul, pela ingestão do protozoário (SANTOS, 2018). Contudo, se tem registrado com maior frequência no Brasil, episódios de transmissão oral, através da ingestão de produtos contaminados a partir de 1968 (SANTOS, 2018). Essa via recebe atenção especial no país a partir de 2005, devido a um surto no estado de Santa Catarina, no qual pelo consumo de caldo de cana de açúcar, tiveram registro de 45 casos suspeitos da doença na sua forma aguda (SOUSA *et al.*, 2011).

Em estudos realizados no Estado do Espírito Santo, sobre a infecção por *T. cruzi*, Dario *et al.* (2016) relatou caso no município de Guarapari, distrito de Todos os Santos, óbito de uma criança com a forma aguda da doença, pela transmissão oral, após ter contato de forma acidental com triatomíneo infectado.

A partir do ano 2000, se verifica maior número de casos da doença em sua forma aguda, por provável transmissão oral, o que gerou diversas legislações para maior controle de qualidade dos produtos, como: frutas, açaí e caldo de cana de açúcar. A região Norte do Brasil reporta quase 99% dos casos, onde o açaí, uma das principais formas de transmissão oral de *T. cruzi*, é consumido de forma *in natura*, ou seja, sem nenhum processamento térmico ou beneficiamento capaz de inativar o protozoário. Além do açaí, o caldo da cana *in natura*, é amplamente utilizado como refresco, gelado, o que resulta em risco para a transmissão da doença (MATTOS, 2017; MATTOS *et al.*, 2019).

Relato expressivo de transmissão da DC pela via oral, ocorreu no Pará, no ano de 2016 com cerca de 684 casos, através de alimentos contaminados, particularmente pela ingestão do açaí (*Euterpe olereace mart.*). Esta é uma fruta típica, e um dos principais alimentos consumidos pela população paraense. Por sua alta produtividade nessa região, representa também fonte de renda, porém pode haver a falta de devida higienização na hora da colheita como também em sua produção. Frequentemente, triatomíneos são encontrados nas folhas da palmeira do açaí, e ao fazer a colheita da fruta, o inseto permanece aderido ao fruto, sendo o triatomíneo ingerido quando do consumo da fruta, na forma natural ou processada (MATTOS, 2017; SANTOS *et al.*, 2019).

De acordo com Santos (2014), os estados da Amazônia brasileira (Figura 1) apresentam maior índice da doença de Chagas por transmissão oral, 66% estado do Pará, Amapá 11,3%, e Amazonas 9,3%.

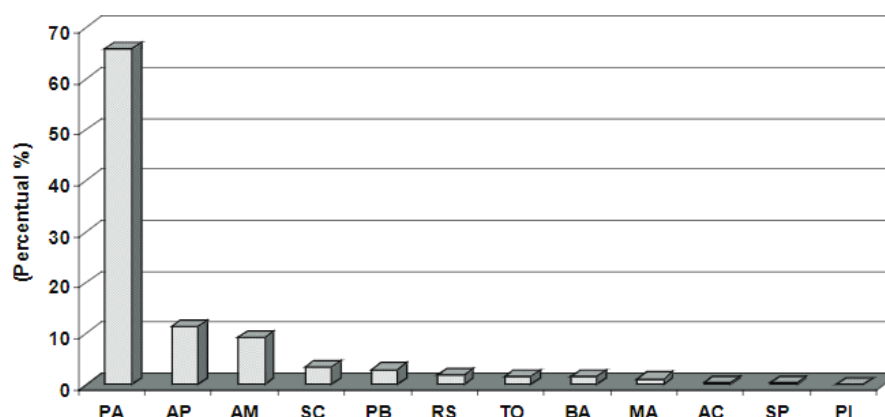


Figura 1 - Prevalência da doença de Chagas nos estados brasileiros, citados como referências nacionais da transmissão oral no ano de 1965 a 2013.

Fonte: Santos, 2014.

Vale ressaltar, que os surtos da doença em sua fase aguda, transmitida pela via oral, ocorrem com maior constância nos períodos mais quentes do ano, que coincide com maior atividade biológica dos triatomíneos. Com isso, há elevada densidade dos vetores, aumenta a contaminação do meio ambiente e, conseqüentemente, maior número de casos relatados da doença por transmissão via oral (SANTOS, 2018).

O consumo do alimento contaminado pelo triatomíneo, pode resultar na ingestão de carga parasitária de aproximadamente 684.000 formas tripomastigotas, carga essa suficiente para infectar mais de cem pessoas. Tal fato é importante, pois torna essa via de transmissão muito mais eficiente na contaminação do hospedeiro, principalmente quando comparado com a transmissão vetorial, devido a maior carga parasitária (NOYA; GONZÁLEZ, 2015).

6.6.1 Principais alimentos

Existem diversos alimentos atuando como responsáveis pela transmissão por via oral, entretanto, atualmente os principais são: água, sopas, cana-de-açúcar, palmito de babaçu, jaci, bacaba (palmeira nativa da região Amazônica) e o açaí (BASTOS *et al.*, 2010; SANTOS, 2014).

A contaminação através da via oral, ocorre pela ingestão do alimento contaminado com o triatomíneo silvestre ou com o protozoário, como no caso do açaí, que pode estar presente em seu cacho, devido a palmeira ser considerada como um dos seus habitats, utilizando os cachos como forma de abrigo. Desta forma, o vetor pode ser esmagado juntamente com o fruto, no preparo da polpa ou do suco (SANTOS, 2018).

Outras formas de infecção relatadas, podem ser através do consumo de carne malcozida ou crua (Figura 2), oriundas de animais infectados, ou pelo consumo de sangue de animais

infectados como tatus e gambás, devido a crenças de propriedades medicinais. O leite materno, também se encontra dentre os alimentos que pode ocasionar a tripanossomíase (BASTOS *et al.*, 2010; DIAS *et al.*, 2016).

Vale ressaltar que a infecção por alimentos pode ocorrer por quaisquer alimentos contaminados, utensílios de manipulação de alimentos contaminados e por quaisquer situações, na origem do alimento, no armazenamento, em seu transporte ou até mesmo em seu preparo, desde que o hospedeiro tenha contato com o protozoário ou com seu vetor (OPAS, 2009).

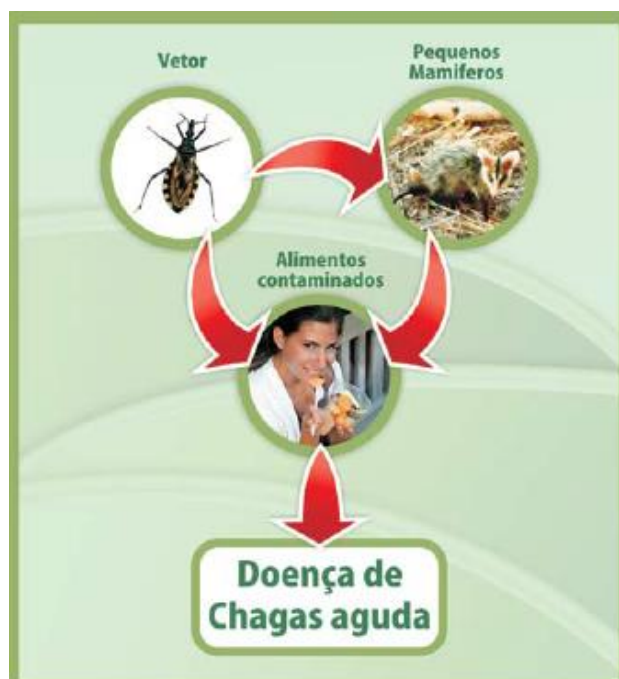


Figura 2 - Ciclo da transmissão da doença de Chagas via oral.
Fonte: OPAS, 2009.

7 PATOGENIA E SINTOMATOLOGIA

A infecção por *T. cruzi* apresenta duas formas clínicas distintas, aguda e crônica, cursando com sintomatologias diferenciadas (COURA, 2003). Na fase aguda, logo após a infecção, a forma tripomastigota do protozoário está presente na corrente sanguínea e se dissemina pelo hospedeiro. Sua multiplicação ocorre no interior de macrófagos e em células de órgãos, como fígado, baço, linfonodos, tecido conjuntivo intersticial, miocárdio ou musculatura esquelética. Ao chegar nas células dos tecidos citados, ocorre multiplicação e formação de pseudocistos que posteriormente se rompem e acarretam processo inflamatório com necrose local e destruição neuronal. Nesse estágio o paciente pode cursar com forma sintomática ou

assintomática, sendo que a maioria não desenvolve sintomatologia (COURA, 2003; LIMA *et al.*, 2019; SANTOS, 2014, VIEIRA-LANNES, 2017).

Após a ingestão do protozoário, apesar do suco gástrico ter a capacidade de destruir muitos dos parasitos, alguns têm a capacidade de evadir-se da ação do suco gástrico, devido a apresentarem mecanismos químicos de proteção externa, o que auxilia na sua penetração através da mucosa intestinal. Estudos relatam que, a forma evolutiva e infectante do protozoário, pode invadir e se replicar no epitélio da mucosa gástrica e alcançar a circulação, ocasionando infecção sistêmica do *T. cruzi* (OPAS, 2009; SANTOS, 2014).

O período de incubação do parasito, depende da sua forma de transmissão, sendo que a vetorial, considerada a clássica, apresenta período de 30 a 40 dias, enquanto a transmissão por via oral em torno de 7 a 22 dias (SANTOS *et al.*, 2019).

A fase aguda, pode iniciar de oito a dez dias após a inoculação do *T. cruzi* na corrente sanguínea e ter a duração em média de seis a oito semanas. Inicialmente, não se encontra danos nos órgãos por meio do diagnóstico clínico, sendo detectada apenas por sorologia ou exames parasitológicos, pois é quando a carga parasitária se encontra maior (WHO, 2002). O coração é o órgão mais afetado nessa fase, podendo resultar em miocardites fatais (3 a 10% dos casos) (VIEIRA-LANNES, 2017).

Os sinais clínicos aparentes nessa etapa são: febre, inapetência, adenomegalia, icterícia, edemas faciais e de membros inferiores, conjuntivite unilateral (sinal de Romaña), miocardite e meningoencefalite (COURA, 2003; LIMA *et al.*, 2019; WHO, 2002). A fase aguda é fatal em 10% dos casos graves em pacientes adultos, e quase sempre resulta em morte em crianças menores de dois anos de idade (COURA, 2003). Ainda na fase aguda, a taxa de mortalidade é maior em transmissão por via oral quando comparado com a via clássica (OPAS, 2009).

Entretanto a evolução clínica da doença quando transmitida por via oral, apresenta indicar algumas diferenças como: hemorragia digestiva, rash cutâneos, icterícia, aumento da aminotransferase, além de quadros mais severos de insuficiência cardíaca, levando em consideração que na transmissão oral os sinais clínicos são mais exacerbados, que os observados nas outras vias de transmissões (OPAS, 2009).

Na fase crônica da doença, a parasitemia diminui para níveis indetectáveis por técnicas de diagnóstico parasitológico, ocorrendo regressão dos sintomas da fase aguda. É dividida em duas etapas: indeterminada (assintomática), quando não há alterações significativas e o hospedeiro passa a atuar como reservatório da doença, equivale a cerca de 50 a 70% dos

indivíduos e a forma sintomática, com patologia cardíaca, nervosa, digestiva e mais raramente, uma forma de múltiplas patologias (PONTES, 2020; WHO, 2002).

Na forma sintomática da fase crônica, a forma cardíaca e digestiva responde por 10 a 30% dos casos. As alterações cardíacas são marcadas por miocardite e fibrose, o que resulta em insuficiência cardíaca com formação de trombos e acidentes cerebrovascular, com hospedeiro cursando com fadiga, edema, dispneia, síncope, tontura, dor no peito atípica, palpitações, disfunção ventricular esquerda congestiva, insuficiência cardíaca. Enquanto a forma digestiva resulta em megacólon e/ou megaesôfago, estando ou não associados a outras manifestações gástricas, como regurgitação, constipação e má nutrição (COSTA *et al.*, 2013; VIEIRA-LANNES, 2017; WHO, 2002). No Brasil a maioria dos casos diagnosticados encontram-se na fase crônica, representando aproximadamente três milhões de indivíduos (COELHO, 2013).

8 DIAGNÓSTICO

Para a realização do diagnóstico da DC, são realizados procedimentos padrões para qualquer indivíduo com a suspeita da doença, como exames clínicos e laboratoriais, acompanhado de investigação de evidências epidemiológicas. Com isso, o diagnóstico clínico é realizado por meio de anamnese, triagem e investigação de casos da doença em familiares, transplante de órgãos recentes, transfusão de sangue e consumo de alimentos artesanais ou cru que pode ter entrado em contato com o vetor ou com o protozoário (COSTA *et al.*, 2013; PAHO, 2019).

Basear o diagnóstico apenas em sinais clínicos não é recomendado, uma vez que o indivíduo pode ser assintomático ou, quando há sinais clínicos, esses não são específicos da doença. Diante disso, há necessidade de lançar mão de diagnósticos laboratoriais (COSTA *et al.*, 2013; PAHO, 2019).

O diagnóstico laboratorial pode ser realizado por métodos diretos e indiretos, destacando-se os métodos parasitológicos, como o esfregaço sanguíneo, o xenodiagnóstico e a hemocultura. Como métodos sorológicos, são citados, principalmente, o ensaio de imunofluorescência indireta (IFI), o ensaio imunoenzimático (ELISA), o ensaio de hemaglutinação indireta (IHA) e citometria de fluxo. Outros métodos que podem ser empregados são os moleculares, destacando a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e a Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR) (ALVES *et al.*, 2018; OPAS, 2009; PAHO, 2019).

Na fase aguda da doença é preconizado o exame parasitológico, no qual o protozoário é observado em amostras de sangue. Esse exame é considerado padrão ouro, uma vez que quando encontrado o protozoário, é indiscutível seu resultado. Em contrapartida apresenta sensibilidade variável, pois depende de elevada carga parasitária na corrente sanguínea para detectar o parasito e equipe qualificada para diagnóstico. O exame parasitológico não é indicado na fase crônica da doença, devido ao baixo nível de parasitos circulantes e títulos altos de anticorpos específicos contra antígenos do *T. cruzi* (SANTOS *et al.*, 2019).

Assim, o diagnóstico na fase crônica da doença, baseia-se principalmente na presença de anticorpos na circulação do indivíduo. Esses são mensurados por meio dos métodos sorológicos, sendo o teste de ELISA referendado pelo Ministério da Saúde. Isso devido a apresentar sensibilidade e especificidade maiores que os demais testes, apresentando menor chance de reações cruzadas com outras doenças parasitárias, quando comparado a outros testes, além de possuir leitura objetiva, fácil execução e baixo custo (SANTOS *et al.*, 2019). Contudo, de acordo com a OPAS (2009), se faz necessário o uso de dois testes distintos para fechar o diagnóstico da doença.

Quanto aos métodos moleculares, não são muito utilizados no diagnóstico da DC, sendo mais restritos aos centros de caráter experimental. Fatores de restrição desses testes, são a dependência da presença de ácidos nucleicos para concluir e baixos níveis de parasitemia na circulação durante a fase crônica da doença (OPAS, 2009).

9 CONTROLE E PREVENÇÃO

Primeiramente, deve-se conhecer a epidemiologia da enfermidade, verificando regionalmente, o risco da doença, suas modalidades de transmissão para assegurar quando e como utilizar formas de prevenção e controle. Por via oral, uma das formas de prevenir acontece por meio da garantia de qualidade sanitária dos alimentos, que resulta na prevenção e no controle em toda a cadeia produtiva, sendo essencial para ocasionar a redução dos riscos da doença (OPAS, 2009). Contudo, a prevenção da doença por essa via, apresenta certo grau de dificuldade, por depender da conscientização dos envolvidos, desde os que trabalham com a colheita do alimento, transporte, produção até o consumo. Para tal, devem ser adotadas medidas como higienização dos alimentos, separação de alimentos crus dos cozidos, mantendo os alimentos sempre em temperaturas abaixo de 5°C ou acima de 60°C. Vale a ressalva que ainda não existe vacina eficiente para seu controle (OPAS, 2009; SANTOS *et al.*, 2019).

A realização do congelamento ou resfriamento dos alimentos não previne a infecção por transmissão oral, entretanto a pasteurização, liofilização e o cozimento acima dos 45°C, atuam na sua prevenção, assim, o uso de alimentos como o açaí pasteurizado, é seguro para consumo (OPAS, 2009).

O uso de inseticidas em ambientes domiciliares, pode evitar que o inseto forme colônias. O uso de telas em portas e janelas, uso de repelentes, roupas de mangas longas, calçados fechados, principalmente em áreas de matas, também são algumas medidas preventivas que devem ser adotadas, principalmente em ambientes rurais, acompanhado de combate do controle do transmissor (SANTOS *et al.*, 2019).

Atualmente existe o Programa de Controle da Transmissão Vetorial da doença de Chagas, que está se mostrando eficaz na maioria dos estados brasileiros, principalmente no controle do principal vetor (*Triatoma infestans*), porém deve-se atentar as outras vias de transmissão (SANTOS, 2014).

10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A transmissão da DC por via oral vem crescendo e preocupando as autoridades de saúde pública. Alimentos muito consumidos pela população do Brasil são responsáveis por carrear o protozoário, como: o açaí e o caldo de cana. Os alimentos consistem em risco para transmissão da DC, por não sofrerem beneficiamento de maneira adequada para inviabilizar a possível presença do protozoário antes de ser consumido. Tais características facilitam a transmissão por via oral. Então, cabe aos poderes públicos aumentarem o conhecimento da população a respeito da enfermidade, principalmente no que diz respeito as vias de transmissão e formas de controle.

11 REFERÊNCIAS

ALVES, D. F. *et al.* Métodos de diagnóstico para a doença de Chagas: uma atualização. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 50, n. 4, p. 330-333, 2018.

ASSIS, R. D. **Patogênese da doença de Chagas humana por transmissão oral**. 2017. 21 f. Monografia (Graduação em Biomedicina) - Faculdade de Ciências da Educação e Saúde, Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2017.

ARGOLO, A. M. *et al.* **Doença de Chagas e seus principais vetores no Brasil**. Rio de Janeiro: Imperial Novo Milênio, 2008. 63p.

- BARBOSA, R. L. *et al.* Survival *in vitro* and virulence of *Trypanosoma cruzi* in açai pulp in experimental acute Chagas disease. **Journal of Food Protection**, v. 75, n. 3, p. 601-606, 2012.
- BASTOS, C. J. C. *et al.* Clinical outcomes of thirteen patients with acute Chagas disease acquired through oral transmission from two urban outbreaks in Northeastern Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 6, p.1-6, 2010.
- BERN, C. *et al.* *Trypanosoma cruzi* and Chagas' disease in the United States. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 4, p. 655-681, 2011.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **Doença de Chagas: 14 de abril – dia mundial**. 2. ed, Brasília: Ministério da Saúde, 2021. 36p.
- BRAZ, S. C. de. M. *et al.* Chagas disease in the state of Pernambuco, Brazil: analysis of admissions and mortality time series. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 3, p. 318-323, 2011.
- CARVALHO, A. T. *et al.* FC-TRIPLEX Chagas/Leish IgG1: a multiplexed flow cytometry method for differential serological diagnosis of Chagas disease and leishmaniasis. **PLoS One**, v. 10, n. 4, p. 1-15, 2015.
- CHAGAS, C. Nova tripanozomíase humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 1, n. 2, p. 159-218, 1909.
- CLAYTON, J. Chagas disease 101. **Outlook Chagas Disease**, v. 465, p. 4-5, 2010.
- COELHO, A. R. B. **Tripanossomíase Americana**: uma revisão com ênfase na medicina veterinária. 2013. 27 f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Distrito Federal, 2013.
- COSTA, M. *et al.* Doença de chagas: uma revisão bibliográfica. **Revista Eletrônica da Faculdade de Ceres**, v. 2, n. 1, p. 1-20, 2013.
- COURA, J. R.; BORGES-PEREIRA, J. Chagas disease: 100 years after its discovery. A systemic review. **Acta Tropica**, v. 115, n. 1-2, p. 5-13, 2010.
- 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, p. 31-40, 2009.
- COURA, J. R. **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan LTDA, 2013. 25p.
- COURA, J. R. Tripanosomose, doença de Chagas. **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 1, p. 30-33, 2003.

- 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.
- DIAS, J. C. P.; AMATO NETO, V. Prevenção referente às modalidades alternativas de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, p. 68-72, 2011
- DIAS, J. C.P. Doença de Chagas e transfusão de sangue no Brasil: vigilância e desafios. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 28, n. 2, p. 83-84, 2006.
- DIAS, J. C. P. *et al.* II Consenso brasileiro em doença de Chagas, 2015, **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, p. 7-86, 2016.
- FERREIRA, R. T. B.; BRANQUINHO, M. R.; LEITE, P. C. Transmissão oral da doença de Chagas pelo consumo de açaí: um desafio para a vigilância sanitária. **Revista Vigilância Sanitária em Debate**, v. 2, n. 4, p. 4-11, 2014.
- FREITAS, Y. B. N. *et al.* Natural infection by *Trypanosoma cruzi* in triatomines and seropositivity for Chagas disease of dogs in rural areas of Rio Grande do Norte, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 2, p. 190-197, 2018.
- GONTIJO, E. D. *et al.* Triagem neonatal da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* em Minas Gerais, Brasil: transmissão congênita e mapeamento das áreas endêmicas. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 18, n. 3, p. 243-254, 2009.
- LIMA, G. B. de. *et al.* Métodos de prevenção e tratamento para a doença de Chagas. **Ciência & Inovação**, v. 4, n. 1, p. 61-67, 2019.
- MATOS, C. S. **Pesquisa de IgG anti-formas epimastigotas fixadas de *Trypanosoma cruzi* por citometria de fluxo**: otimização e análise de desempenho, aplicada ao diagnóstico e monitoração de cura da doença de chagas. 2007. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2007.
- MATTOS, E. C. de. **Associação de métodos para detecção de *Trypanosoma cruzi* em alimentos**. 2017. 121 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, São Paulo, 2017.
- MATTOS, E. C. de. *et al.* Determinação da viabilidade de *Trypanosoma cruzi* em polpa de açaí e caldo de cana de açúcar experimentalmente contaminados. **BEPA**, v. 16, n. 183, p. 15-23, 2019.
- MORAES-SOUZA, H.; FERREIRA-SILVA, M. M. O controle da transmissão transfusional. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, p. 64-67, 2011.
- NOYA, B. A. de.; GONZÁLEZ, O. N. An ecological overview on the factors that drives to *Trypanosoma cruzi* oral transmission. **Acta Tropica**, v. 151, p. 94-102, 2015.

OPAS (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE). **Guia para vigilância, prevenção, controle e manejo clínico da doença de chagas aguda transmitida por alimentos**. Rio de Janeiro: OPAS, 2009. 92p.

PACHECO, L. V. *et al.* Transmissão oral da doença de Chagas: uma revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v.10, n.2, p. 1-11, 2021.

PAHO (PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION). **Guidelines for the diagnosis and treatment of Chagas disease**. Washington: OPAS, 2019. 176p.

PINAZO, M. J.; GASCON, J. The importance of the multidisciplinary approach to deal with the new epidemiological scenario of Chagas disease (global health). **Acta Tropica**, v. 151, p. 16-20, 2015.

PONTES, B. G. **Avaliação da infecção natural por *Trypanosoma cruzi* e estado nutricional de cães em área endêmica de triatomíneos monitorados pela vigilância epidemiológica no sul do Espírito Santo**. 2020. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2020.

SANGENIS, L. H. C. *et al.* Transmissão da doença de Chagas por consumo de carne de caça: revisão sistemática. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 19, n. 4. p. 803-811, 2016.

SANTOS, F. da. S. dos. *et al.* Doença de Chagas e sua transmissão pelo açaí: uma revisão bibliográfica. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 3, p. 2128-2144, 2019.

SANTOS, I. F. M. Transmissão oral da doença de Chagas: breve revisão. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v. 13, n. 2, p. 226-235, 2014.

SANTOS, R. C. B. dos. **Transmissão oral do *Trypanosoma cruzi*: uma revisão integrativa**. 2018. 89 f. Monografia (Graduação em Nutrição) – Curso de graduação em Nutrição, Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2018.

SCHMUNIS, G. A.; YADON, Z. E. Chagas disease: a Latin American health problem becoming a world health problem. **Acta Tropica**, v. 115, n. 1-2, p. 14-21, 2010.

SILVEIRA, A. C. Os novos desafios e perspectivas futuras do controle. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, p. 122-124, 2011.

SONODA, I. V. ***Triatoma infestans* e *Triatoma brasiliensis*: avaliação da resistência ao piretróide deltametrina e análise intraespecífica da variabilidade genética**. 2009. 96 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2009.

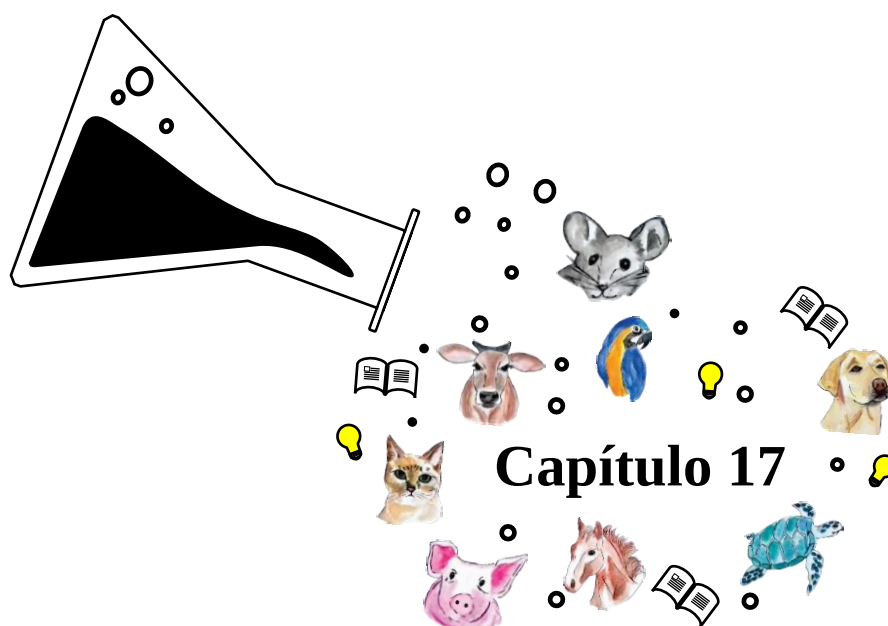
SOUSA, E. S. M. *et al.* Os gambás (*Didelphis* sp.) e a cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) na possível transmissão oral do *Trypanosoma cruzi*: revisão da Literatura. **UNOPAR Científica. Ciências biológicas e da saúde**, v.13, p. 357-362, 2011.

TARTAROTTI, E.; OLIVEIRA, M. T. V. A.; CERON, C. R. Problemática vetorial da Doença de Chagas. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 11, n. 1, p. 44-7, 2004.

UNIFEI (UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ). **Carlos Chagas**. Itajubá: UNIFEI, [2022]. Disponível em: <<https://unifei.edu.br/personalidades-do-muro/extensao/carlos-chagas/#:~:text=O%20protozoário%20foi%20encontrado%20no,batizada%20de%20doença%20de%20Chagas>>. Acesso em: 07 jun. 2022.

VIEIRA-LANNES. J. **Patogenia**, 2017. Disponível em:<<http://chagas.fiocruz.br/doenca/transmissao/>>. Acesso em: 30 maio. 2022.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Controle da doença de Chagas**. Genebra: WHO, 2002. 110p.



Analgesia e anestesia epidural em equinos: alternativa para o controle da dor anogenital e osteomuscular por meio da analgesia locorregional

Andressa Brito Damaceno¹
Rudiery Lauson de Paula Reis²
Amanda Moura Bicalho³
Ester da Fonseca Lucas⁴
Hillary Ignez Belfi Rosa⁵
Lais Sperandio Cassani⁶
Maria Eduarda da Rocha Souza⁷
Otavio Pereira de Oliveira⁸
Poliana da Silva Rocha⁹
Rafael Otaviano do Rego¹⁰
Leonardo Oliveira Trivilin¹¹

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: andressa.damaceno@edu.ufes.br

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: rudiery.reis@edu.ufes.br

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: amanda.bicalho@edu.ufes.br

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: ester.lucas@edu.ufes.br

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: hillary.rosa@edu.ufes.br

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

⁷ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: maria.er.souza@edu.ufes.br

⁸ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: otavio.p.oliveira@edu.ufes.br

⁹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: poliana.s.rocha@edu.ufes.br

¹⁰ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: faelvet@yahoo.com.br

¹¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: leotrivilin@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), a dor é considerada uma vivência degradante envolvendo aspectos emocionais e sensoriais, relacionada a danos teciduais (ALVES *et al.*, 2016). Após o dano tecidual, ocorre ativação dos receptores de nocicepção, que vão enviar impulsos ao sistema nervoso central, que serão processados e o animal será capaz de perceber a dor (LOVE, 2009).

A dor é considerada um fator importante para o bem-estar animal, e cabe ao médico veterinário reconhecê-la de forma subjetiva, visto que não há comunicação verbal com os pacientes, e essa interpretação torna-se importante para atribuir as medicações analgésicas adequadas para antinocicepção (ALVES *et al.*, 2016). De acordo com Bardell (2017), os equinos não demonstram sinais clínicos explícitos de dor, exceto em casos moderados a graves. Somado a isso, existem diferentes respostas álgicas e mudança de comportamento diante o observador, resultando em distintas avaliações da demanda analgésica.

Nos equinos, existem várias situações em que o emprego de analgesia é imprescindível, como na síndrome cólica e nos traumas musculoesqueléticos. O uso de fármacos analgésicos reduz os efeitos fisiológicos prejudiciais da dor, prevenindo ocorrência de comportamento depressivo, morbidade e mortalidade dos animais (CASTANHA, 2009). Um plano analgésico eficiente é composto por administração sistêmica de medicamentos associada a técnicas analgésicas locais ou regionais, se possível. Entretanto, para a elaboração de analgesia multimodal deve-se entender sobre o tipo de dor manifestada pelo paciente, a ação dos fármacos prescritos e sua aplicação, para assim, obter-se um efeito potencializado (BARDELL, 2017).

A anestesia/analgesia epidural vem trazendo benefícios significativos à hipiatria por se tratar de um método eficiente no controle da dor e promover alterações fisiológicas mais brandas, quando comparadas às vias sistêmicas (NATALINI; DRIESSEN, 2007). Os fármacos mais utilizados por essa via são os anestésicos locais, anestésicos dissociativos, $\alpha 2$ agonistas adrenérgicos e opioides, sendo estes capazes de promover acentuada analgesia com efeitos adversos reduzidos quando administrados por essa via (NATALINI, 2010).

Os principais acessos ao espaço epidural no equino são os espaços lombossacral, sacrococcígeo e o primeiro espaço intercoccígeo (LOVE, 2012), sendo esse último o mais empregado pela facilidade de execução e maior segurança em relação aos acessos craniais, visto que não há possibilidade de atingir a dura-máter e o líquido em virtude do posicionamento da agulha (DOHERTY; VALVERDE, 2006e).

É notória a importância do controle da dor em equinos e existem fatores a serem avaliados que antecedem ao emprego do tratamento para atingir uma boa eficácia, como a avaliação da dor, medicamento disponível, via de administração e técnica utilizada. A utilização da via epidural para a administração de fármacos analgésicos é uma boa alternativa, principalmente em dores anogenitais e musculoesqueléticas, visto que é capaz de promover analgesia efetiva sem efeitos adversos significativos (LOURO; MILNER; BARDELL, 2021). Diante do exposto, objetiva-se com este capítulo abordar as técnicas e avanços na anestesia/analgesia epidural em equinos, bem como indicações terapêuticas, aplicabilidade da técnica, principais fármacos utilizados e efeitos farmacológicos observados por essa via.

2 CONSIDERAÇÕES NEUROANATÔMICAS DO ESPAÇO EPIDURAL DOS EQUINOS

O esqueleto equino contém 205 ossos, sendo 54 vértebras, 36 costelas, um esterno, 34 ossos da cabeça, 40 ossos dos membros torácicos e 40 ossos dos membros pélvicos. A coluna vertebral se inicia no atlas, primeira vértebra cervical, seguida por mais seis vértebras cervicais (C1-C7), além de 18 vértebras torácicas (T1-T18), seis vértebras lombares (L1-L6), cinco vértebras sacrais (S1-S5) e, em média, 18 vértebras coccígeas ou caudais (Cc1-Cc18) (GETTY, 1986).

As vértebras apresentam em sua estrutura o canal vertebral, onde a medula espinal está localizada, e que se inicia desde o encéfalo e se prolonga até a região caudal do animal (GETTY, 1986), sendo que nos equinos geralmente se estende até região sacral média (NATALINI; DRIESSEN, 2007).

A partir da medula espinal se originam os nervos espinais, com raiz dorsal composta de fibras sensitivas aferentes e outra ventral com fibras motoras eferentes e autônomas, as quais se unem no interior do canal vertebral formando nervos mistos, que emergem dos forames intervertebrais e, posteriormente, se dividem em ramos dorsais e ventrais que inervarão os órgãos e tecidos (GETTY, 1986; KÖNIG *et al.*, 2016).

A medula espinal é recoberta por três membranas contínuas de tecido fibroso, chamadas de meninges, que são a pia-máter, a membrana aracnoide e a dura-máter (GETTY, 1986). Entre a dura-máter e a parede do canal vertebral se localiza o espaço epidural (Figura 1), que é preenchido por tecido adiposo e vasos sanguíneos; enquanto o espaço subaracnoide, localizado

entre as membranas aracnoide e pia-máter, é preenchido pelo líquido cefalorraquidiano (LCR) ou líquido (KÖNIG *et al.*, 2016).

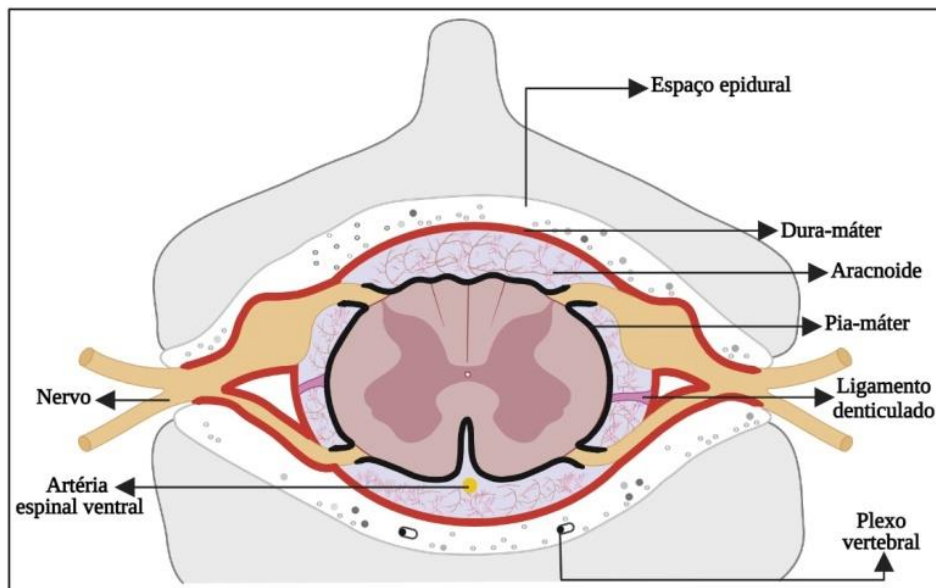


Figura 1: Desenho esquemático representando o espaço epidural e medula espinal do equino. Fonte: Os autores (Criada com o software gratuito BioRender.com).

O espaço epidural permite a administração de fármacos analgésicos e anestésicos, no qual a injeção pode ser feita cranialmente, no espaço lombossacral, ou caudalmente, nos espaços sacrococcígeo e intercoccígeo (Cc1-Cc2), onde o fármaco se distribui difusamente no tecido neural e resulta na dessensibilização local (MICHIELSEN; SCHAUVLIEGE, 2019).

3 ESCOLHA DA VIA EPIDURAL E SUAS APLICAÇÕES

A administração de fármacos por meio da via epidural é uma técnica de anestesia e analgesia utilizada principalmente, em procedimentos que exigem o controle da dor perineal e nos membros pélvicos dos animais, a fim de que permaneçam em posição quadrupedal, o que justifica ser um método mais prático comparado a anestesia geral. Dessa forma, a analgesia epidural pode ser utilizada em diversos procedimentos clínico-cirúrgicos na cauda, ânus, reto, períneo, vulva, vagina, uretra e bexiga, cujo objetivo é dessensibilizar essas regiões, mantendo a função motora dos membros pélvicos (LOURO; MILNER; BARDELL, 2021; NATALINI, 2010; ROBINSON; NATALINI, 2002).

De forma geral, a analgesia peridural é uma boa alternativa para administrar analgésicos em animais com dores agudas ou crônicas, além de uso antes ou após procedimentos cirúrgicos. Nesses casos, a finalidade é facilitar a recuperação de alguma lesão dolorosa nos membros

pélvicos, cauda e região perineal, podendo empregar a técnica de cateterização epidural, visto que o cateter pode permanecer fixado por dias, possibilitando aplicação de múltiplas doses de analgésicos de forma ágil e segura (NATALINI, 2010; PEREIRA, 2018).

Para Bertonha *et al.* (2018), a administração de medicamentos via epidural reduz os efeitos adversos quando se compara à administração sistêmica, principalmente em alterações na motilidade intestinal de equinos, que apresentam o trato gastrointestinal mais sensível aos opioides. Sendo assim, a analgesia peridural pode ser utilizada para minimizar os efeitos adversos dos fármacos, tendo como intuito manter os parâmetros fisiológicos mais próximos da normalidade, além de permitir analgesia mais prolongada com doses relativamente baixas ao se comparar com a administração de analgésicos para efeito sistêmico (NATALINI, 2010).

4 MECANISMO DE AÇÃO DA VIA EPIDURAL

A administração de qualquer fármaco pela via epidural é direcionada para três vias: 1 - absorção sistêmica pela rede vascular epidural; 2 - sequestro pelo tecido adiposo epidural e 3 - por meio da absorção do líquido cefalorraquidiano (LCR) e medula espinal (VALVERDE, 2008). O que define a rota da via são as propriedades físico-químicas do fármaco implementado, como a ionização a um dado pH (pKa), seu peso molecular, a capacidade de ligação às proteínas e, principalmente, a sua lipossolubilidade (RANG *et al.*, 2016; VALADÃO; DUQUE; FARIAS, 2002).

Em geral, um fármaco mais lipofílico tende a ser direcionado para a absorção sistêmica, sequestro por tecido adiposo e livre circulação entre os espaços, como ocorre por exemplo, com o opioide fentanil (VALVERDE, 2008). Entretanto, fármacos com baixa lipossolubilidade tendem a permanecer por períodos mais longos no LCR, apresentar maior dispersão cranial e efeitos mais duradouros (MARUCIO; COTES, 2012; VALVERDE, 2008).

A maioria dos estudos que dizem respeito ao mecanismo de ação da via epidural baseia-se na administração de opioides, pois para promover analgesia, os opioides administrados pela via epidural necessitam difundir através das meninges espinais até atingirem os receptores opioides do corno dorsal da medula espinal (NATALINI, 2006). Fármacos opioides com propriedades mais lipofílicas (metadona, fentanil, sufentanil e alfentanil), promovem analgesia de forma mais rápida, porém, com menor duração. Ao passo que fármacos mais hidrofílicos, como a morfina e o tramadol, têm efeitos mais duradouros, com ação analgésica mais lenta, pois apresentam difusão pelas membranas celulares mais lenta, e retardo na interação com

receptores opioides da raiz dorsal dos nervos espinais (GOZZANI, 1994; GRIMM *et al.*, 2017). Estudos apontam que fármacos mais hidrofóbicos apresentam melhor coeficiente de permeabilidade. Além disso, esses fármacos podem ser captados pelos vasos sanguíneos e pelas gorduras epidurais (NATALINI, 2006).

Por fim, vale ressaltar que o tipo de fibra nervosa (ou axônio) interfere intimamente com a sua função, ou seja, cada tipo de fibra contém ação específica no sistema nervoso. As fibras nervosas em que os opioides atuam são, principalmente, as do tipo C e as do tipo A- δ , sendo as C responsáveis pela captação de dor, temperatura e prurido (por ser uma fibra não mielinizada conduz as sensações de forma mais lenta). Enquanto as A- δ são responsáveis por captar e transmitir de forma rápida ao sistema nervoso central as sensações de dor e temperatura (MACHADO, 2004; TEIXEIRA, 2009; VALVERDE, 2008).

5 TÉCNICA PARA ACESSO E CATETERIZAÇÃO EPIDURAL EM EQUINOS

A administração de fármacos pela via epidural deve ser realizada de forma cautelosa e utilizando material estéril, com prévia tricotomia ampla e antissepsia no local a ser puncionado (SAMPAIO *et al.*, 2020). A localização do espaço epidural pode ser realizada com o equino em estação, por meio da palpação das vértebras coccígeas, além de movimentos da cauda em sentido dorsoventral, para identificação da primeira articulação intercoccígea (Cc1-Cc2), que é móvel. A partir da localização da primeira articulação caudal, localiza-se também a articulação sacrococcígea, que pode estar fusionada em alguns animais (NATALINI; DRIESSEN, 2007). Essa está situada cranialmente a cauda do animal, com distância aproximada de 2,5-5 cm (NATALINI, 2010).

Após a identificação e antissepsia, indica-se a administração de cerca de 2-3 mL de lidocaína a 1 ou 2% na pele e nos tecidos subcutâneos do local a ser puncionado, para evitar que o animal se movimente com a inserção da agulha ou cateter epidural (BERTONHA *et al.*, 2018; SAMPAIO *et al.*, 2020). Após anestesia do local, a agulha epidural é inserida em ângulo reto ou em ângulo de 30° a 45° até atravessar o ligamento interarqueado (Figura 2) (LOVE, 2012).

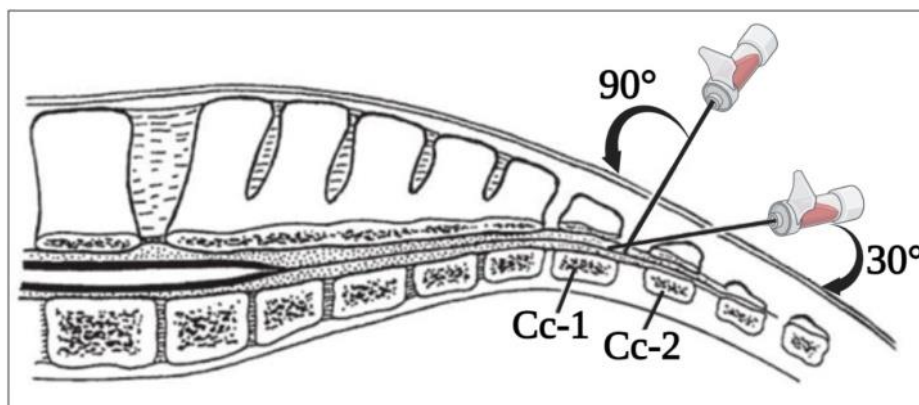


Figura 2 – Representação do acesso epidural no primeiro espaço intercoccígeo, com inserção de agulha entre Cc1-Cc2 inclinadas em 30° e 90° em relação à pele.

Fonte: Adaptado de Love (2012).

A posição correta da agulha é atestada por meio do teste de sucção da gota pendente, a partir da colocação de uma gota estéril no canhão da agulha que é sugada pela pressão epidural subatmosférica ou, por meio do teste de resistência, uma vez que a administração de fármacos pela via epidural ocorre sem resistência (SAMPAIO *et al.*, 2020).

Quando necessária a administração contínua de fármacos, é interessante a colocação de cateteres epidurais, que são introduzidos a partir da agulha epidural em sentido cranial por cerca de 10 a 30 centímetros, em seguida suturados à pele e recobertos com curativo estéril (BERTONHA *et al.*, 2018), conforme demonstrado na Figura 3.

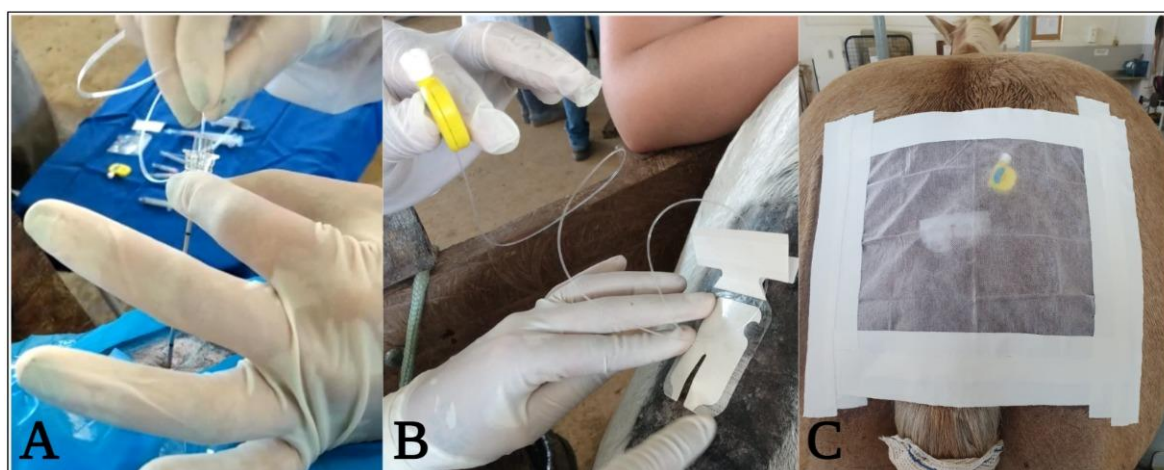


Figura 3 – Acesso epidural em região sacrococcígea, com inserção de cateter epidural. A: inserção de cateter epidural em progressão cranial, com auxílio de agulha epidural Tuohy; B: fixação de cateter epidural com proteção do sítio de inserção com adesivo estéril; C: cateter epidural suturado na pele e recoberto com curativo estéril.

Fonte: Os autores.

Embora seja mais comum o acesso epidural caudal, Hurcombe *et al.* (2020) e Watkins *et al.* (2021) demonstraram possibilidade de acesso e fixação de cateter epidural/subaracnoide entre C1-C2 com o auxílio de aparelho ultrassonográfico de forma segura em equinos.

6 ADMINISTRAÇÃO DE ANESTÉSICOS LOCAIS PELA VIA EPIDURAL EM EQUINOS

Anestésicos locais são fármacos que promovem bloqueio nervoso de forma reversível, por meio da inibição dos canais de sódio voltagem-dependente, bloqueando o rápido influxo de sódio (DAY; SKARDA, 1991; DUARTE *et al.*, 2017), e nos canais de cálcio e de potássio impedindo a excitação e condução nervosa (DUARTE *et al.*, 2017), inibindo a despolarização dos neurônios. A potência dos anestésicos locais está relacionada à sua lipossolubilidade, em que anestésicos mais lipossolúveis são mais potentes (DAY; SKARDA, 1991).

O uso de anestésicos locais permite procedimentos cirúrgicos realizados em cavalos em estação, sendo evidenciado que a administração pela via epidural promove bloqueio de nervos sensoriais, simpáticos e motores. Dessa forma, geralmente é indicado que se utilize menos de 10 mL em cavalos adultos, para que não ocorra paralisia de nervos lombossacrais, podendo levar ao decúbito (NATALINI, 2010), além de agravar seus efeitos adversos que podem ser de toxicidade, hipotensão, depressão miocárdica, excitação, depressão até mesmo convulsão (DAY; SKARDA, 1991).

A lidocaína é um anestésico local amplamente utilizado na medicina veterinária, e promove analgesia de 40 a 90 minutos, sendo indicado volume de 5-8 mL quando administrado na via epidural caudal de equinos adultos (NATALINI, 2010), para produzir anestesia em regiões de cauda, períneo e regiões proximais dos membros pélvicos (DEROSSI *et al.*, 2013). Sua administração pela via peridural em equinos apresenta período de latência superior quando comparada a bovinos, podendo atingir os 20 minutos. Após o seu uso é relatada manutenção de parâmetros fisiológicos (DUARTE *et al.*, 2017), bloqueio motor leve ou moderado (DEROSSI *et al.*, 2013) e ataxia moderada a severa em membros pélvicos (OLBRICH; MOSING, 2003).

A associação de anestésicos locais e outros fármacos vêm sendo bastante empregada na medicina veterinária com a finalidade de obter melhores efeitos antinociceptivos, com menos efeitos adversos, em especial aos opioides e $\alpha 2$ agonistas adrenérgicos. A lidocaína (0,35 mg/Kg) associada a metadona (0,1 mg/Kg) promoveu analgesia atingindo os dermatômos torácicos e duração analgésica de até cinco horas (OLBRICH; MOSING, 2003). Quando

associada ao tramadol (0,5 mg/Kg), a lidocaína 2% com vasoconstritor (0,2 mg/kg) promoveu duração anestésica de 210 minutos (DEROSS *et al.*, 2013). Além disso, o uso de lidocaína (0,25 mg/Kg) coadministrada a xilazina (0,17 mg/Kg) ou a dexmedetomidina (0,6 µg/Kg), promoveu aumento da extensão e do bloqueio anestésico (LEMOS, 2019).

Como adjuvantes aos anestésicos locais, foi reportada a adição de bicarbonato de sódio 8,4% em solução de lidocaína. Essa associação promoveu alcalinização da solução a pH 7,4, ocasionando na redução do período de latência da lidocaína, com rápida perda de nocicepção das regiões sacro-perineal, além de redução da duração de ataxia. Essa técnica é interessante, uma vez que os anestésicos locais em sua forma comercial apresentam pH ácido, com maior quantidade de fármaco ionizado e menor solubilidade (DUARTE *et al.*, 2017), dessa forma, a alcalinização pode potencializar sua ação, facilitando a penetração do fármaco nas fibras nervosas, pois aumenta a quantidade de bases não ionizadas (DAY; SKARDA, 1991).

A ropivacaína promove analgesia de três a oito horas de duração, com pouca ataxia, sendo indicado volume de 5-10 mL aplicados pela via epidural caudal em equinos (NATALINI, 2010). O tratamento com ropivacaína (0,1 mg/Kg) demonstrou anestesia perineal após 11,83 minutos, com duração de 175 minutos (GANIDAGLI *et al.*, 2004). Quando associada à metadona (0,1 mg/Kg), a ropivacaína (0,15 mg/Kg) promoveu maior extensão anestésica, com maior grau de ataxia e aumento da amplitude máxima de contração dos músculos superficiais dos membros pélvicos, de forma compensatória ao bloqueio motor promovido por esses medicamentos. Além disso, a administração epidural dos fármacos não promoveu sedação e alterações significativas dos parâmetros cardiorrespiratórios e de motilidade intestinal (PEREIRA, 2018).

Bupivacaína é um anestésico local de alta potência e lipossolubilidade (DEROSS *et al.*, 2004), com baixa interferência no sistema locomotor, devido a sua melhor seletividade frente às fibras sensitivas em relação às fibras motoras, apresentando alto grau de segurança para anestesia epidural baixa, sem alterações cardiovasculares (SAMPAIO *et al.*, 2020). Entretanto, Natalini (2010) relata maior grau de ataxia quando comparado ao uso epidural de ropivacaína, podendo promover analgesia de três a oito horas, com período de latência de cerca de seis minutos e alterações mínimas em parâmetros fisiológicos (DEROSS *et al.*, 2004).

Sampaio *et al.* (2020) avaliaram o uso de bupivacaína (0,04 mg/Kg) isolada ou em coadministração de bupivacaína (0,02 mg/Kg) e dexmedetomidina (1 µg/kg), pela via epidural em equinos. A associação proporcionou melhor anestesia/analgesia, com o dobro da duração,

com bloqueio motor leve. A bupivacaína é uma boa alternativa para procedimentos perineais, de forma segura e com poucos efeitos adversos.

7 ADMINISTRAÇÃO DE OPIOIDES PELA VIA EPIDURAL EM EQUINOS

Opioides são fármacos derivados do ópio obtido a partir da *Papaver somniferum* ou substâncias sintéticas que interagem com os receptores opioides, chamados de receptores μ (mi ou mu), κ (kappa), δ (delta) e ORL1 (GOZZANI, 1994).

Os receptores opioides podem ser encontrados em diversos órgãos, como sistema nervoso central, medula da adrenal e trato gastrointestinal (TGI), especialmente no plexo mioentérico. Tais receptores são acoplados à proteína G do tipo Gi/Go e apenas a forma levorotatória dos opioides é capaz de promover ação agonista, sendo necessária a forma ionizada para interagir ao ligante aniônico do receptor. A partir dessa ligação, ocorre a inibição da enzima adenilato ciclase, reduzindo a produção de monofosfato de adenosina cíclico (AMPs). Com isso ocorre o estímulo do efluxo, promovendo inibição dos canais de cálcio nas terminações pré-sinápticas e aumento do efluxo de potássio, proporcionando hiperpolarização dos neurônios. Dessa forma, ocasionando redução da excitabilidade neuronal, inibindo a liberação do neurotransmissor na fenda sináptica e impedindo a propagação dos estímulos nociceptivos (ÁLVAREZ; FARRÉ, 2005; GOZZANI, 1994; GRIMM *et al.*, 2017; HARKOUK *et al.*, 2018; RANG *et al.*, 2016; SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2017). A Figura 4 demonstra um esquema em cascata das principais ações envolvidas na administração de fármacos opioides pela via epidural.

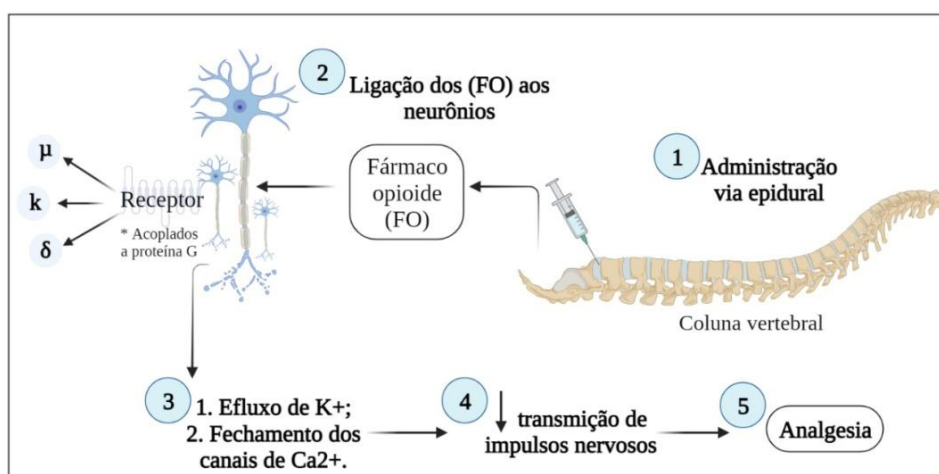


Figura 4 – Esquema ilustrando o mecanismo dos fármacos opioides pela via epidural. Fonte: Os autores (Criada com o software gratuito BioRender.com).

Os opioides μ agonistas são capazes de promover analgesia em equinos, além de sonolência, sedação, excitação, redução da frequência cardíaca, leve depressão miocárdica, náuseas, retardo do esvaziamento e aumento das secreções do trato gastrointestinal (TGI), redução da frequência de defecação, distensão gástrica, hiperfagia, depressão respiratória, estimulação locomotora, hipertensão, hipertermia, sudorese e prurido, dose-dependentes e transitórios (GOZZANI, 1994; KJÆRULFF *et al.*, 2020; MARTINS *et al.*, 2020; NATALINI, 2006; TESSIER *et al.*, 2019), fazendo com que estes fármacos ainda sejam pouco empregados na hipiatria.

Entretanto, é reportado que a administração epidural de opioides promove menos efeitos colaterais em comparação à administração sistêmica (BERTONHA *et al.*, 2018), pois, o uso por essa via promove analgesia de longa duração sem excitação do sistema nervoso central (SNC) (NATALINI; ROBINSON, 2000), sedação pouco pronunciada, manutenção dos parâmetros fisiológicos, ausência de debilidade em membros pélvicos (DEROSSI *et al.*, 2008; SKARDA; MUIR III, 2001), manutenção do trânsito gastrointestinal fisiológico (BERTONHA *et al.*, 2018) e melhor qualidade na anestesia geral para procedimentos cirúrgicos de afecções no aparelho locomotor (LOURO; MILNER; BARDELL, 2021). A via peridural é considerada segura frente à administração desses fármacos (DEROSSI *et al.*, 2008; SKARDA; MUIR III, 2001). Uma vez que a administração se dá próximo ao sítio de ação e necessita de doses menores, podendo ser utilizado até um décimo da dose sistêmica (NATALINI; POLYDORO; LINARDI, 2006).

A morfina é um opioide agonista μ completo, amplamente empregado na medicina veterinária (GOZZANI, 1994). Sendo observadas concentrações plasmáticas significativamente maiores no plasma sanguíneo quando comparado às concentrações líquóricas após injeção epidural, devido a sua baixa lipossolubilidade (NATALINI, 2006).

Morfina (0,1 mg/Kg) e tramadol (1,0 mg/Kg) administrados via epidural demonstraram efeitos analgésicos significativos e superiores em relação a de alfentanil (0,02 mg/Kg), butorfanol (0,08 mg/Kg) e U-50488Hh (0,08 mg/Kg), atingindo os dermatômos perineais, sacrais, lombares e torácicos, com analgesia duradoura e elevação do limiar nociceptivo (NATALINI; ROBINSON, 2000). Pela via subaracnoidea ou raquidiana, solução hiperbárica de morfina (0,01 mg/Kg) promoveu intensa analgesia, sendo um potencial a ser usado na analgesia multimodal em equinos (NATALINI; POLYDORO; LINARDI, 2006).

Em equinos com afecções em membros pélvicos, a administração peridural de morfina apresenta grande importância para o controle da dor, efeitos anti-hiperalgésicos e melhora na

claudicação (VAN LOON *et al.*, 2012), além de proporcionar melhor qualidade anestésica aos pacientes submetidos a cirurgias ortopédicas (LOURO; MILNER; BARDELL, 2021).

A administração de morfina (0,1 mg/Kg) via cateter, durante 56 dias de tratamento em égua prenhe com claudicação severa em membro pélvico, mostrou-se segura (MIRRA *et al.*, 2020). Além disso, afirma-se que o uso de morfina pela via epidural com auxílio de cateter cervical foi eficiente para manejo da dor em equino com claudicação severa em membro torácico (WATKINS *et al.*, 2021). Estudos apontam que a morfina pode apresentar efeito anti-inflamatório por meio da inibição da expressão de prostaglandina E sintase-1 microssomal (mPGES-1) e prostaglandina-endoperoxídeo sintase-2 (PTGS2) em condrócitos, em modelo experimental *in vitro* de osteoartrite induzida por lipopolissacarídeos. Sendo observada maior uniformidade morfológica entre os sinoviócitos indicando que seu uso pode ser benéfico em tratamento de osteoartrite (SCHWARZBACH *et al.*, 2019).

A metadona apresenta ação opioide μ agonista, antagonista no receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) e inibição da recaptação de serotonina e noradrenalina na fenda sináptica, o que a torna uma boa opção para o manejo da dor crônica e refratária (GRIMM *et al.*, 2017; LEITE, 2010; SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2017). Pela via epidural, apresenta latência de 15 minutos e cinco horas de duração (OLBRICH; MOSING, 2003), além de promover intensa analgesia em doses de 0,01 mg/Kg via subaracnoide (NATALINI; POLYDORO; LINARDI, 2006).

O uso da metadona (0,1 mg/Kg) pela via epidural demonstra ser eficiente em dores inflamatórias pós-incisionais em equinos e prevenção de hiperalgesia (LEITE, 2010), além de promover melhores condições anestésicas a animais submetidos a cirurgias ortopédicas, podendo ser uma escolha para analgesia perineal, lombossacra e torácica (LOURO; MILNER; BARDELL, 2021). Sem alterações significativas nos parâmetros fisiológicos (ANTUNES JÚNIOR; VIDIS; BAIRROS, 2020; KJÆRULFF *et al.*, 2020; PEREIRA, 2018), retenções urinária e fecal, sedação ou ataxia (OLBRICH; MOSING, 2003).

A metadona apresenta efeito potencializador quando administrado em associação a outros fármacos. A coadministração epidural de morfina (0,1 mg/Kg) e metadona (0,1 mg/Kg) demonstrou-se eficiente (KJÆRULFF *et al.*, 2020) e sua associação a ropivacaína (0,15 mg/Kg) proporcionou analgesia mais extensa e duradoura se estendendo até a região torácica por até cinco horas (PEREIRA, 2018).

O fentanil é um opioide sintético mais lipossolúvel, com menor latência, menor duração analgésica, apresenta escassas alterações hemodinâmicas e potência cerca de 80 a 100 vezes

superior à morfina via administração sistêmica (GOZZANI, 1994). O fentanil demonstrou potencializar a ação analgésica da ropivacaína em administração peridural em éguas (GANIDAGLI *et al.*, 2004). Embora seja promissor seu uso, ainda há poucos relatos e pesquisas na espécie equina.

A meperidina ou petidina apresenta potência analgésica cerca de dez vezes inferior em relação à morfina. O fármaco é capaz de promover redução da contratilidade miocárdica e aumento da frequência cardíaca dose dependente e transitória (GOZZANI, 1994). Quando administrado pela via epidural promove progressão cranial a partir de pequenas doses administradas, podendo ser justificado devido a sua baixa solubilidade lipídica (DEROSSO *et al.*, 2008).

Pela via peridural caudal, a meperidina (0,8 mg/Kg) é capaz de promover analgesia perineal em equinos em estação, com curto período de latência e duração analgésica de 240 a 300 minutos (SKARDA; MUIR III, 2001). A coadministração de meperidina (0,3 mg/Kg) e lidocaína (0,2 mg/Kg) demonstrou analgesia de longa duração, em região de cauda, períneo e parte proximal de membros pélvicos, com menor período de latência e analgesia mais duradoura (296 minutos), quando comparado ao seu uso isolado (DEROSSO *et al.*, 2008). É relatado segurança frente à administração peridural desse opioide, sem alterações significativas em parâmetros fisiológicos e debilidade em membros pélvicos e sedação pouco pronunciada (DEROSSO *et al.*, 2008; SKARDA; MUIR III, 2001).

O uso da meperidina pela via epidural ou raquidiana é reportado como medicação de primeira escolha na medicina humana em casos de impossibilidade de utilização de anestésicos locais. Em caso de histórico de reações de hipersensibilidade frente à lidocaína e bupivacaína, a administração de meperidina (1 mg/Kg) intratecal em região lombar demonstrou-se segura para realização de colporrafia anterior, alcançando analgesia com bom bloqueio sensitivo e motor em humanos (GONZÁLEZ; MORALES, 2020).

Por não existirem estudos publicados a respeito da aplicabilidade analgésica da meperidina via epidural ou raquidiana para realização de procedimentos urogenitais e de períneo em equinos em estação, torna-se necessária a realização de mais estudos clínicos, visto que seu uso é promissor em humanos e talvez possa ser uma escolha viável em casos que o uso de anestésicos locais não seja indicado na espécie equina.

8 ADMINISTRAÇÃO DE $\alpha 2$ AGONISTAS PELA VIA EPIDURAL EM EQUINOS

A classe dos fármacos $\alpha 2$ agonistas adrenérgicos se tornou popular quanto ao uso por via epidural em cavalos, devido sua longa promoção de analgesia em relação aos anestésicos locais, sedação e miolorrelaxamento, além de sua facilidade de obtenção (ROBINSON; NATALINI, 2002). Se tratam de simpatomimético, não catecolaminérgicas atuante em receptores adrenérgicos, em $\alpha 1$ e principalmente em $\alpha 2$, a depender da seletividade do fármaco eleito, na qual xilazina possui 160:1, romifidina 200:1, detomidina 260:1, medetomidina e dexmedetomidina 1620:1 afinidade para os receptores $\alpha 2$ (BRONDANI *et al.*, 2004; VALVERDE, 2010).

Os efeitos analgésicos obtidos pela administração por via epidural de $\alpha 2$ agonistas adrenérgicos se dão pela estimulação dos receptores mediante a hiperpolarização dos neurônios do corno dorsal da medula espinal ocasionando o aumento das concentrações de acetilcolina no líquido cefalorraquidiano e inibição de liberação da substância P das fibras C em receptores pré-sináptico (NATALINI; PAES; POLYDORO, 2021; VALVERDE, 2010).

Em casos que as doses usadas são as recomendadas, não há evidências de bloqueio motor mesmo com a progressão cranial do fármaco no espaço epidural, alcançando região lombar e torácica. Entretanto, graus de ataxia, sedação, instabilidade hemodinâmica, dispneia e alteração do trânsito gastrointestinal são possíveis complicações observadas ao administrar esses fármacos em doses altas, apesar da via epidural expressar, significativamente, menos efeitos adversos quando comparado a via sistêmica (VULLO *et al.*, 2021). Frente a isso, torna-se de eleição a associação desses fármacos com outros, como anestésicos locais e opioides, a fim de reduzir as doses empregadas e, conseqüentemente os efeitos indesejados, além de promover efeitos mais intensos e/ou prolongados (ROBINSON; NATALINI, 2002; VULLO *et al.*, 2021).

Nos equinos, a xilazina é o medicamento mais utilizado dessa classe, sendo ele isoladamente ou em associação com opioides e anestésicos locais, onde demonstrou-se que por via sistêmica em doses de 0,17 a 0,25 mg/Kg, promovem boa anestesia e analgesia em região perineal em 15 a 30 minutos, se estendendo por 3,5 a 7 horas, entretanto, recomenda-se doses menores que a sistêmica resultando em menos alterações comportamentais e cardiovasculares (VALVERDE, 2010). O emprego de 0,17 a 0,22 mg/Kg de xilazina (2%) não promoveu ataxia e com sedação dose dependente depois de 30 a 60 minutos, incluindo prolapso peniano, anal e

relaxamento retal, porém, em doses de 0,34 mg/Kg foram notados ataxia semelhantes quando associados com anestésicos locais (DÓRIA *et al.*, 2008).

A detomidina, por sua vez, requer uso de doses semelhantes às sistêmicas quando empregada via epidural, porém, apresentando significativamente menores índices de sedação e ataxia, apesar de um período de ação mais prolongado. Doses de 30 a 60 µg/Kg são capazes de promover analgesia em 10 a 25 minutos, por até 2,5 horas, em região perineal e de membros pélvicos. Além disso, a associação de doses baixas de detomidina (10 a 20 µg/Kg) com morfina (0,1 mg/Kg) por via epidural, promove efeitos semelhantes às altas doses de detomidina isolada (VALVERDE, 2010).

Romifidina a 80 µg/Kg diluído em solução salina a 8 mL, não promoveu analgesia em cinco de oito cavalos, e analgesia leve nos outros três animais estudados, sendo insuficiente para procedimento cirúrgico, além de serem observadas sedação, bradicardia e dispneia (ROBINSON; NATALINI, 2002). Um estudo que mostrou o emprego da combinação entre morfina (0,1 mg/Kg) com diferentes doses de romifidina (60 µg/Kg e 30 µg/Kg) e avaliou os efeitos analgésicos e cardiopulmonares, evidenciou que essa associação promoveu analgesia por até quatro horas, com significante redução da pressão arterial quando submetido a romifidina 60 µg/Kg, apesar de possuir período de latência menor do que quando empregado a romifidina 30 µg/Kg, em que esta se mostra hemodinamicamente mais estável (NATALINI; PAES; POLYDORO, 2021).

9 ADMINISTRAÇÃO DE ANESTÉSICOS DISSOCIATIVOS PELA VIA EPIDURAL EM EQUINOS

Classe dos anestésicos dissociativos envolve os medicamentos como a cetamina e tiletamina, sendo amplamente utilizado na hipiatria como indutores anestésicos e controle de dor crônica. As propriedades analgésicas dessa classe se dão por serem antagonistas não competitivos dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA); e frente a isso, o emprego dos mesmos se dá em casos de prevenção da hiperalgesia secundária, entretanto, altas concentrações de cetamina podem promover analgesia local satisfatória pelo bloqueio dos canais de sódio (ROBINSON; NATALINI, 2002; SEGURA *et al.*, 1998).

Estudos demonstraram que a cetamina promove analgesia de curta duração (30 a 90 minutos) quando utilizada isoladamente em doses de 0,5, 1 e 2 mg/Kg, com sedação leve e sem alterações cardiorrespiratórias (ROBINSON; NATALINI, 2002; SEGURA *et al.*, 1998). Outro

estudo evidenciou que a administração de cetamina a 0,8 e 1,2 mg/Kg por via epidural, observou-se redução na concentração alveolar mínima (CAM) do halotano em pôneis submetidos a estimulação de membros pélvicos (DOHERTY; GEISER; ROHRBACH, 1997). Um terceiro estudo avaliou os efeitos analgésicos da associação de cetamina (1 mg/Kg) e xilazina (0,5 mg/Kg), o qual observou-se analgesia em cauda, períneo, ânus e vulva, se estendendo para o flanco em alguns animais, em cinco a nove minutos, se prolongando por até 120 minutos de ação, sedação leve 20 minutos após administração, decréscimo na frequência cardíaca aos 15 minutos e significativo decréscimo na frequência respiratória aos 30 minutos (KARIMAN; NOWROUZIAN; BAKHTIARI, 2000).

O estudo de Natalini *et al.* (2004) usando a associação de tiletamina-zolazepam em cavalos, pela via epidural em duas doses 0,5 e 1 mg/Kg, demonstrou que em 75% dos animais houve leve analgesia, e nos outros 25% dos animais não foi observado analgesia; entretanto, não foi observada sedação e todos apresentaram ataxia (um animal demonstrou excitação do sistema nervoso central 15 minutos após administração de 1 mg/Kg), além de variações nos parâmetros cardiovasculares e respiratórios em ambos os tratamentos.

Frente aos trabalhos citados, o uso de cetamina e tiletamina pode ser indicado em associação com outros fármacos analgésicos potentes, bem como a morfina, para que a analgesia possa ser satisfatória a níveis de estímulos algícos moderados a intensos (ROBINSON; NATALINI, 2002).

10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto, verifica-se que aplicação de fármacos opioides via epidural é o método mais eficiente para promover antinocicepção, sem perda das funções motoras e autônomas. A associação de fármacos de classes diferentes propicia efeitos potencializados, ainda que com menor dosagem administrada. A cateterização epidural é a forma mais válida e eficaz para o controle da dor em casos de doenças anogenitais e osteomusculares de membros pélvicos e torácicos. Ainda, é importante que o médico veterinário busque técnicas e fármacos adequados para o alívio de dor, priorizando a ausência de efeitos colaterais e garantindo o bem-estar animal.

11 AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelo auxílio financeiro por meio do Edital Cooperação CAPES/FAPES - Programa de Desenvolvimento da Pós-Graduação – PDPGFAPES: 137/2021, e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES).

12 REFERÊNCIAS

ÁLVAREZ, Y.; FARRÉ, M. Farmacología de los opioides. **Adicciones**, v. 17, n. 2, p. 21-40, 2005.

ALVES, J. E. de O. A. *et al.* Aspectos clínicos e experimentais da dor em equinos: revisão de literatura. **Science and Animal Health**, v. 4, n. 2, p. 131-147, 2016.

ANTUNES JUNIOR, H. J. V.; VIDIS, N. Y. de; BAIRROS, A. A. Avaliação analgésica da metadona, em duas doses associada a lidocaína sem vasoconstritor, por via epidural em cães submetidos a orquiectomia eletiva. **PUBVET**, v. 14, n. 10, p. 1-6, 2020.

BARDELL, D. Managing orthopaedic pain in horses. **In Practice**, v. 39, n. 9; p. 420-427, 2017.

BERTONHA, C. M. *et al.* A influência da morfina ou tramadol pela via epidural no trânsito gastrointestinal de equinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 5, p. 1477-1482, 2018.

BRONDANI, J. T. *et al.* Analgesia epidural com clonidina ou romifidina em cães submetidos à cirurgia coxofemoral. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 2, p. 175–182, 2004.

CASTANHA, C. F. **Uso da morfina na analgesia de equinos**. 2009. 21 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

DAY, T. K.; SKARDA, R. T. The pharmacology of local anesthetics. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 7, n. 3, p. 489-500, 1991.

DEROSSI, R. *et al.* Efficacy of epidural lidocaine combined with tramadol or neostigmine on perineal analgesia in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 45, n. 4, p. 497-502, 2013.

DEROSSI, R. *et al.* Meperidine prolongs lidocaine caudal epidural anaesthesia in the horse. **The Veterinary Journal**, v. 178, n. 2, p. 294–297, 2008.

- DEROSS, R. *et al.* Perineal analgesia and hemodynamic effects of the epidural administration of meperidine or hyperbaric bupivacaine in conscious horses. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 45, n. 1, p. 42-47, 2004.
- DOHERTY, T. J., GEISER, D. R., ROHRBACH, B. W. Effect of high-volume epidural morphine, ketamine and butorphanol on halothane minimum alveolar concentration in ponies. **Equine Veterinary Journal**, v. 29, n. 5, p. 370–373, 1997.
- DOHERTY, T. J.; VALVERDE, A. Epidural analgesia and anesthesia. In: _____. **Manual of equine anesthesia and analgesia**. Ames: Blackwell, 2006. p. 275- 281.
- DÓRIA, R. G. S. *et al.* Comparative study of epidural xylazine or clonidine in horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 35, n. 2, p. 166–172, 2008.
- DUARTE, P. C. *et al.* Caudal epidural anesthesia in mares after bicarbonate addition to a lidocaine–epinephrine combination. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 44, n. 4, p. 943-950, 2017.
- GANIDAGLI, S. *et al.* Comparison of ropivacaine with a combination of ropivacaine and fentanyl for the caudal epidural anaesthesia of mares. **Veterinary Record**, v. 154, n. 11, p. 329-332, 2004.
- GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. 2052p.
- GONZÁLEZ, A. R. P.; MORALES, A. I. A. Anestesia espinal con meperidina en paciente con hipersensibilidad a anestésicos locales. **Revista Cubana de Anestesiología y Reanimación**, v. 19, n. 2, p. 1-9, 2020.
- GOZZANI, J. L. Opióides e antagonistas. **Brazilian Journal of Anesthesiology**, v. 44, n.1, p. 65-73, 1994.
- GRIMM, K. A. *et al.* **Lumb & Jones: anestesiologia e analgesia em veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2017. 1472p.
- HARKOUK, H., *et al.* Farmacología de los opioides. **EMC Anestesia Reanimación**, v. 44, n. 2, p. 1-24, 2018.
- HURCOMBE, S. D. *et al.* Cervical epidural and subarachnoid catheter placement in standing adult horses. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, n. 232, p. 1-8, 2020.
- KARIMAN, A., NOWROUZIAN, I., BAKHTIARI, J. Caudal epidural injection of a combination of ketamine and xylazine for perineal analgesia in horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 27, n. 2, p. 112-116, 2000.
- KJÆRULFF, L. N. R. *et al.* Caudal epidural co-administration of methadone and morphine in horses: an evaluation of analgesic properties and effects on locomotor function, mentation and physical examination parameters. **Equine Veterinary Education**, v. 33, n. 7, p. 360-367, 2020.

- KÖNIG, H. E, *et al.* Sistema nervoso. *In:* KÖNIG, H. E.; LIEBCH, H. G. **Anatomia dos animais domésticos**: texto e atlas colorido. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. p. 495-568.
- LEITE, C. R. **Efeitos da injeção epidural de metadona no controle da dor pós incisional em equinos**. 2010. 87 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) – Programa de Pós-graduação em Saúde Animal, Universidade de Brasília, Brasília, 2010.
- LEMONS, M. dos S. **Xilazina ou dexmedetomidina como adjuvantes da anestesia peridural com lidocaína em equinos**. 2019. 34 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) – Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal, Universidade de Brasília, Brasília, 2019.
- LOURO, L. F.; MILNER, P. I.; BARDELL, D. Epidural administration of opioid analgesics improves quality of recovery in horses anaesthetised for treatment of hindlimb synovial sepsis. **Equine Veterinary Journal**, v. 53, n. 4, p. 682-689, 2021.
- LOVE, E. J. Assessment and management of pain in horses. **Equine Veterinary Education**, v. 21, n. 1, p. 46-48, 2009.
- LOVE, E. J. Equine pain management. *In:* AUER, J. A.; STICK, J. A. **Equine surgery**. 4th ed. Philadelphia: Saunders, 2012. p. 263-270.
- MACHADO, A. **Neuroanatomia funcional**. 2. Ed. São Paulo: Atheneu, 2004. 363p.
- MARTINS, F. C. *et al.* Pharmacokinetics and pharmacodynamics of hydromorphone hydrochloride in healthy horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 47, n. 4, p. 509-517, 2020.
- MARUCIO, R.; COTES, L. Fármacos de uso espinhal. *In:* FANTONI, D. **Tratamento da dor na clínica de pequenos animais**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. p.181-193.
- MIRRA, A. *et al.* Morphine plasmatic concentration in a pregnant mare and its foal after long term epidural administration. **BMC Veterinary Research**, v. 16, n. 19, p. 1-5, 2020.
- MICHIELSEN, A. J. H. C.; SCHAUVLIEGE, S. Anestesia e analgesia peridural em equinos. **Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift**, v. 88, n. 4, p. 233-240, 2019.
- NATALINI, C. C.; DRIESSEN, B. Epidural and spinal anesthesia and analgesia in the equine. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 6, n. 2, p. 145-153, 2007.
- NATALINI, C. C. *et al.* Epidural administration of tiletamine/zolazepam in horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 31, n. 2, p. 79–85, 2004.
- NATALINI, C. C., PAES, S. D., POLYDORO, A. da S. Analgesic and cardiopulmonary effects of epidural romifidine and morphine combination in horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 102, n. 103459, p. 1-5, 2021.
- NATALINI, C. C. Plasma and cerebrospinal fluid alfentanil, butorphanol, and morphine concentrations following caudal epidural administration in horses. **Ciência Rural**, v. 36, n. 5, p. 1436-1443, 2006.

- NATALINI, C. C.; POLYDORO, A. da S.; LINARDI, R. L. Analgesic effects of subarachnoidally administered hyperbaric opioids in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 67, n. 6, p. 941-946, 2006.
- NATALINI, C. C.; ROBINSON, E. P. Evaluation of the analgesic effects of epidurally administered morphine, alfentanil, butorphanol, tramadol, and U50488H in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 12, p. 1579-1586, 2000.
- NATALINI, C. C. Spinal anesthetics and analgesics in the horse. **Veterinary Clinics: Equine Practice**, v. 26, n. 3, p. 551-564, 2010.
- OLBRICH, V. H.; MOSING, M. A comparison of the analgesic effects of caudal epidural methadone and lidocaine in the horse. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 30, n. 3, p. 156-164, 2003.
- PEREIRA, V. G. **Comparação dos efeitos da administração epidural da ropivacaína e da metadona isoladas e em associação sobre parâmetros clínicos, nociceptivos e eletromiográficos em equinos**. 2018. 82 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2018.
- RANG, H. P. *et al.* **Rang & Dale farmacologia**. 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.
- ROBINSON, E. P.; NATALINI, C. C. Epidural anesthesia and analgesia in horses. **The Veterinary Clinics Equine Practice**, v. 18, n. 1, p. 61-82, 2002.
- SAMPAIO, B. F. B. *et al.* Dexmedetomidine and bupivacaine association in caudal epidural injection in mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 91, n. 103015, p. 1-7, 2020.
- SCHWARZBACH, S. V. *et al.* Morphine, but not methadone, inhibits microsomal prostaglandin E synthase-1 and prostaglandin-endoperoxide synthase 2 in lipopolysaccharide-stimulated horse synoviocytes. **Biochimi**, v. 160, n. 1, p. 28-33, 2019.
- SEGURA, I. A. G. D. *et al.* Epidural injection of ketamine for perineal analgesia in the horse. **Veterinary Surgery**, v. 27, n. 4, p. 384-391, 1998.
- SKARDA, R. T.; MUIR III, W. W. Analgesic, hemodynamic, and respiratory effects induced by caudal epidural administration of meperidine hydrochloride in mares. **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 7, p. 1001-1007, 2001.
- SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 972p.
- TEIXEIRA, M. J. Fisiopatologia da nocicepção e da supressão da dor. In: NETO, A. O.; COSTA, C. M. C.; SIQUEIRA, J. T. T.; TEIXEIRA, M. J. **Dor: princípios e prática**. Porto Alegre: Artmed, 2009. p. 205-226.
- TESSIER, C. *et al.* Systemic morphine administration causes gastric distention and hyperphagia in healthy horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 51, n. 5, p. 653-657, 2019.

VALADÃO, C. A. A.; DUQUE, J. C.; FARIAS, A. Administração epidural de opioides em cães. **Ciência Rural**, v. 32, n.2, p. 347-355, 2002.

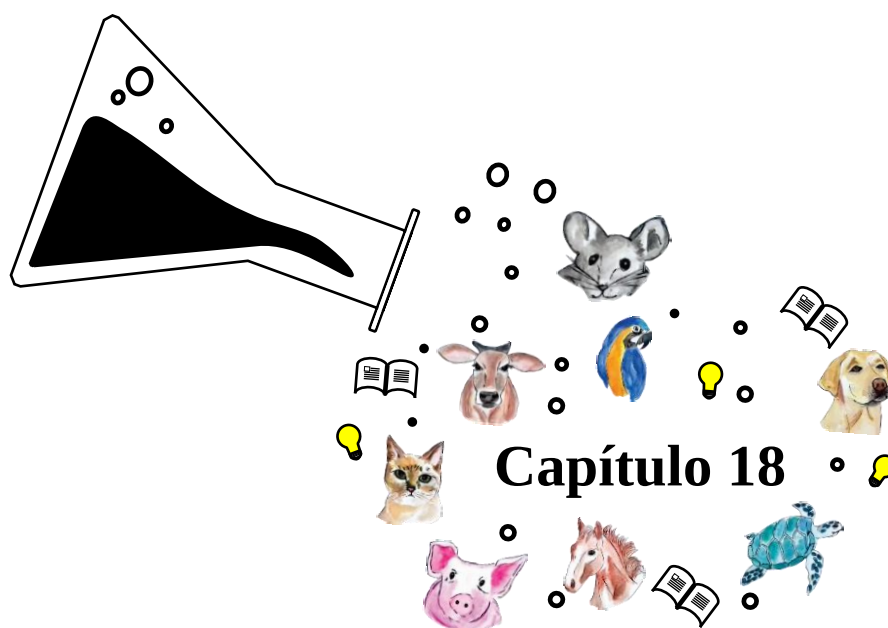
VALVERDE, A. Alpha-2 agonists as pain therapy in horses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 26, n. 3, p. 515–532, 2010.

VALVERDE, A. Epidural analgesia and anesthesia in dogs and cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.38, n.6, p.1205-1230, 2008.

VAN LOON, J. P. A. M. *et al.* Antinociceptive effects of low dose lumbosacral epidural ropivacaine in healthy ponies. **The Veterinary Journal**, v. 193, n. 1, p. 240-245, 2012.

VULLO, C. *et al.* Analgesic and sedative effects of epidural lidocaine-xylazine in elective bilateral laparoscopic ovariectomy in standing mule mares. **Animals**, v. 11, p. 1-11, 2021.

WATKINS, A. R. *et al.* Cervical epidural spinal analgesia for acute management of severe unilateral forelimb lameness: case report. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, p. 1-5, 2021.



Aspectos gerais do uso de dexmedetomidina em cães

Andressa Brito Damaceno¹
Rudiery Lauson de Paula Reis²
Lais Sperandio Cassani³
Maria Eduarda da Rocha Souza⁴
Amanda Moura Bicalho⁵
Otavio Pereira de Oliveira⁶
Leonardo Oliveira Trivilin⁷

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

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

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

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: maria.er.souza@edu.ufes.br

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: amanda.bicalho@edu.ufes.br

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: otavio.p.oliveira@edu.ufes.br

⁷ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: leotrivilin@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

A dexmedetomidina é um fármaco agonista dos receptores α_2 -adrenérgicos altamente seletivo, sendo o dextro-isômero ativo da medetomidina, e geralmente utilizado para promover sedação, analgesia e relaxamento muscular (GIOENI *et al.*, 2020; SINN, 2018; YANMAZ *et al.*, 2022). Segundo Sinn (2018), a sedação por dexmedetomidina é semelhante ao sono natural, entretanto, ao administrar dosagens mais altas desse fármaco, podem haver repercussões cardiovasculares importantes como vasoconstrição periférica e bradicardia.

As vias de administração intravenosa e intramuscular são as mais comuns para o uso da dexmedetomidina, mas é necessária a contenção do animal, fator com potencial de desconforto (MICIELI *et al.*, 2017; SANTANGELO *et al.*, 2019). Dessa forma, outras vias de administração são estudadas como alternativas menos invasivas e indolores, a exemplo, as vias intranasal e oral transmucosa (GIOENI *et al.*, 2020; MICIELI *et al.*, 2017).

A via intranasal, oferece grande área para a absorção de dexmedetomidina, e embora com maior período de latência, estudos mostraram que essa via é capaz de gerar menores taxas de efeitos adversos comparados às outras vias de administração, como bradicardia e hipotensão (MICIELI *et al.*, 2017; SANTANGELO *et al.*, 2019). A via oral transmucosa também é válida, tendo em vista a fácil administração, bem como o fato de o fármaco não ser dissociado no estômago ou passar por metabolismo de primeira passagem no fígado, como acontece com medicamentos administrados via oral (GIOENI *et al.*, 2020).

Desse modo, a dexmedetomidina apresenta-se como fármaco válido para ser utilizado na medicina veterinária, seja na forma isolada ou associada. Entretanto, deve-se compreender seus mecanismos de ação, farmacocinética e farmacodinâmica devido os efeitos adversos que ele é capaz de provocar, os quais serão discutidos nesse capítulo. Além disso, compreender as vias de administração desse fármaco também é de suma importância, visto que a partir de diferentes vias de administração, é possível que o paciente apresente efeitos, tanto sedativos e analgésicos, quanto adversos de formas diferentes (YANMAZ *et al.*, 2022).

Assim, o presente capítulo tem como finalidade, elucidar as propriedades e características gerais da dexmedetomidina, abordando farmacocinética e efeitos biológicos do seu uso como sedativo e analgésico em cães.

2 CARACTERÍSTICAS MOLECULARES E MECANISMOS DE AÇÃO DA DEXMEDETOMIDINA

A molécula de dexmedetomidina é descrita como um dextro-enantiômero da medetomidina e farmacologicamente ativa. O fármaco é nomeado como monoclóridrato de (+)-4-(S)-[1-(2,3-dimetilfenil)etil]-1H-imidazol com massa molar de 236,7 g/mol. Além disso, a molécula apresenta características químicas como: elevada lipossolubilidade e pKa de 7,1 (AFONSO; REIS, 2012; SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2017). A Figura 1 demonstra a fórmula química da dexmedetomidina.

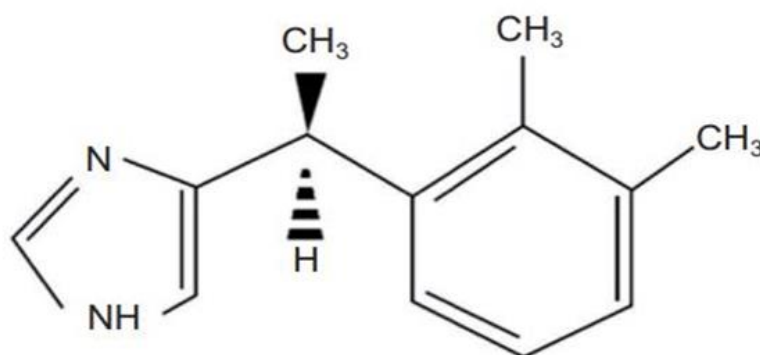


Figura 1 - Fórmula molecular da dexmedetomidina.

Fonte: Afonso e Reis (2012).

A dexmedetomidina é um simpatomimético α_2 -adrenérgico, altamente específico, com afinidade 1620:1 para os receptores α_2 -adrenérgicos em relação aos α_1 -adrenérgicos, muito maior que demais fármacos dessa classe: xilazina 160:1, romifidina 200:1, detomidina 260:1 e similar a medetomidina 1620:1 (BRONDANI *et al.*, 2004; SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2017; VALVERDE, 2010).

A dexmedetomidina é um importante fármaco de ação sedativa e analgésica, sendo as principais qualidades relacionadas ao rápido início da ação após a administração, a capacidade de permitir rápida titulação, e oferecer o sinergismo com demais fármacos anestésicos, além de baixos efeitos colaterais e mínima queda respiratória (BAGATINI *et al.*, 2002).

O mecanismo da dexmedetomidina exerce uma ação agonista envolvendo a ligação das moléculas químicas do fármaco aos receptores tipo α_2 -adrenérgicos e α_1 -adrenérgicos, contudo, apresenta maior afinidade pelos receptores α_2 -adrenérgicos. Além disso, por não ser um agonista α_2 puro, também apresenta capacidade para realizar a ligação com outros tipos de

receptores, como os noradrenérgicos e os imidazolínicos (SPINOSA; GÓRNIAK; BERNARDI, 2017).

Os receptores α_2 -adrenérgicos são encontrados no sistema nervoso central e periférico em neurônios pré e pós-sinápticos, principalmente pré-sinápticos. São observados também em tecidos não-neurais, por exemplo em plaquetas, fígado, pâncreas, rins e olhos, contendo funções fisiológicas particulares para cada órgão em questão (ALVES; BRAZ; VIANNA, 2000; SINOTTI, 2019).

Tais receptores podem ser classificados em subtipos: α -2A, α -2B, α -2C e α -2D, com funções específicas, nos quais receptores α -2A promovem efeitos analgésicos e sedativos, α -2B está relacionado às funções cardiovasculares, α -2C desencadeiam efeitos ansiolíticos e α -2D não possui efeitos bem elucidados, mas acredita-se que apresente efeitos similares ao subtipo α -2A (BACCHIEGA; SIMAS, 2008; SINOTTI, 2019). Esses são receptores funcionalmente ligados a uma proteína responsável pela sinalização celular, sendo a proteína G (G_{i1} , G_{i2} , G_{i3} e G_o), formada por três subunidades, a alfa (α), a beta (β) e a gama (γ) (ALVES; BRAZ; VIANNA, 2000).

Dessa maneira, dando continuidade à ação do fármaco, após a ligação com os receptores α_2 -adrenérgicos irá causar uma reação em cascata, primeiramente com a ativação da proteína G_i/o , que exerce inibição da enzima adenilato-ciclase e, conseqüentemente, com a diminuição do AMP-cíclico intracelular. Em seguida, ocorre a inibição de proteínas-alvo reguladoras, a ativação do efluxo de K^+ com a hiperpolarização de membrana e, logo a inibição do influxo de Ca^{2+} nos terminais nervosos, impedindo a liberação de neurotransmissores (noradrenalina) e reduzindo a concentração sérica de catecolaminas, causando efeitos sedativos e analgésicos (ALVES; BRAZ; VIANNA, 2000; BACCHIEGA; SIMAS, 2008; SPINOSA; GÓRNIAK; BERNARDI, 2017).

A Figura 2 demonstra de forma ilustrativa o mecanismo de ação, em cadeia, da dexmedetomidina sobre os receptores α_2 -adrenérgicos, na qual expõe os principais processos e ações envolvidos a partir da ligação fármaco-receptor, até obter o efeito analgésico ou sedativo no paciente.

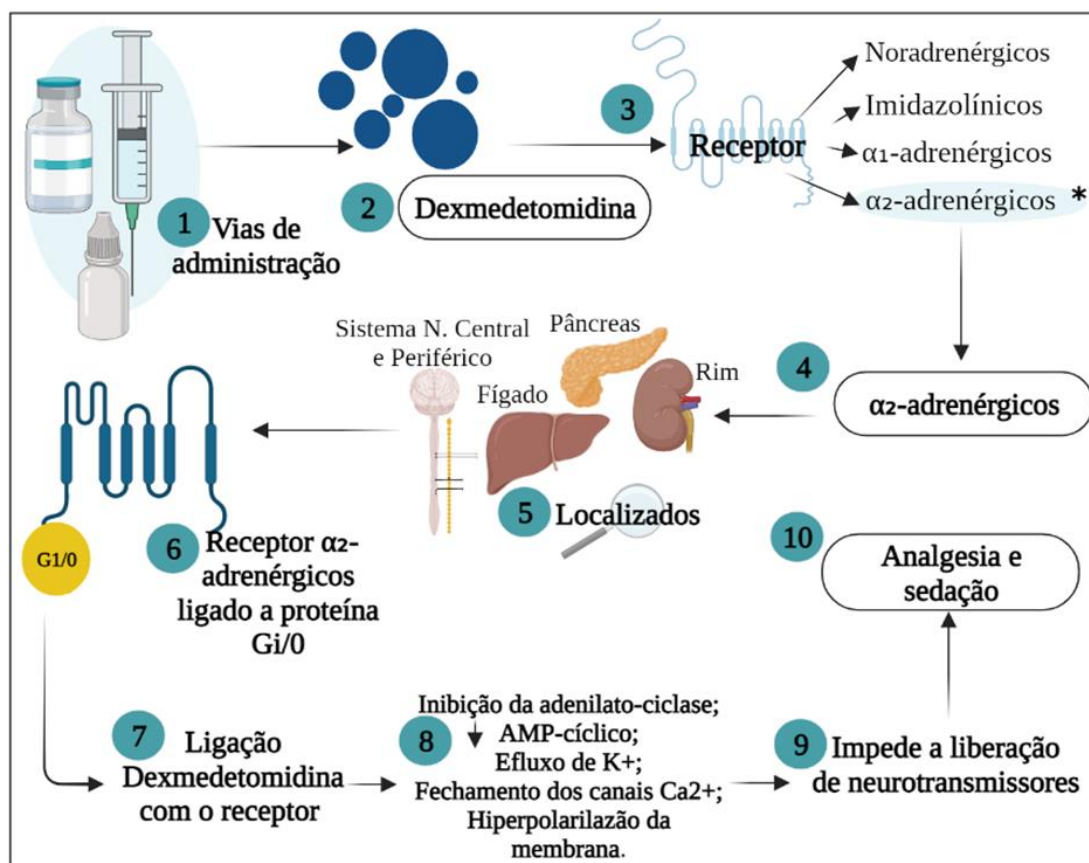


Figura 2 - Mecanismo de ação da dexmedetomidina sobre os receptores α_2 -adrenérgicos.

Fonte: Os autores (Criada com o software gratuito BioRender.com).

*Principal receptor envolvido no mecanismo de dexmedetomidina.

3 FARMACOCINÉTICA DA DEXMEDETOMIDINA EM CÃES

A dexmedetomidina possui alta taxa de ligação às proteínas plasmáticas, equivalente a 94%, como a albumina e a α_1 -glicoproteína, sendo hidrossolúvel e com um pKa de 7.1 (AFONSO; REIS, 2012) se distribuindo rapidamente pelo corpo por meio do sangue (AANTAA *et al.*, 1990; WEERINK *et al.*, 2017). Apresenta meia vida de distribuição rápida, de aproximadamente seis minutos (BHANA; GOA; McCLELLAN, 2000), e atinge biodisponibilidade de 60% e meia vida de eliminação que varia de 40 minutos (JULIÃO; ABIMUSSI, 2019) a duas horas (BHANA; GOA; McCLELLAN, 2000).

A dexmedetomidina é biotransformada pelo fígado por meio da hidroxilação mediada pelo citocromo P450 (mediada pelo CYP2A6) e N-glicuronidação. Posteriormente, é eliminada por meio das fezes (5%) e, principalmente, pela urina (95%), com poucas moléculas eliminadas de forma inalterada (BHANA; GOA; McCLELLAN, 2000; WEERINK *et al.*, 2017).

Para animais com insuficiência hepática, a biotransformação e eliminação do fármaco é prejudicada, podendo demorar duas vezes mais em relação a pacientes hígidos (WEERINK *et al.*, 2017).

Quanto à interação medicamentosa, a dexmedetomidina apresenta pouco potencial em interagir com fármacos metabolizados pelo citocromo P450, uma vez que inibe a função enzimática do mesmo (BHANA; GOA; McCLELLAN, 2000).

4 VIAS DE ADMINISTRAÇÃO E EFEITOS DE DEXMEDETOMIDINA EM CÃES

A escolha do sedativo deve ser baseada em criteriosa avaliação pré-anestésica, para minimizar os riscos inerentes aos fármacos escolhidos (SHMON, 2007). Dessa forma, a dexmedetomidina pode ser administrada em diversas vias, sendo que a escolha da via de administração deve ser adequada para facilitar a contenção do animal, prolongar ou reduzir o tempo do efeito sedativo e diminuir as alterações cardiovasculares conforme a necessidade (GIOENI *et al.*, 2020). A seguir, estão listadas as principais vias de administração de dexmedetomidina em cães.

4.1 VIA INTRAVENOSA

Em cães, quando utilizada a via intravenosa para administração de dexmedetomidina, pode ser verificado pressão arterial temporariamente aumentada, com diminuição em até 60% da frequência cardíaca e o índice cardíaco (ILBÄCK; STÅLHANDSKE, 2003).

O estudo feito por Adams (2020) concluiu que a administração via intravenosa e intramuscular promove impacto significativo e prolongado nas variáveis cardíacas de índice sistólico, índice cardíaco e fração de ejeção. A via intravenosa promove depressão mais rápida da frequência cardíaca quando comparada à via intramuscular.

Segundo Congdon *et al.* (2013), ocorre diminuição no requerimento de anestésicos gerais e analgésicos quando a dexmedetomidina é administrada por infusão contínua em cães anestesiados, ao mesmo tempo que promove sedação e analgesia, embora também possam surgir efeitos adversos. No entanto, esses efeitos acarretados podem ser controlados e até mesmo revertidos por meio do uso de um antagonista de receptor α_2 -adrenérgicos, como o atipamezole ou ioimbina, mas cabe destacar que os efeitos sedativos e analgésicos também serão anulados (AMBRISKO; HIKASA, 2003).

4.2 VIA INTRAMUSCULAR

A administração de dexmedetomidina pela via intramuscular em cães promove absorção de forma rápida, culminando com níveis plasmáticos máximos aos 30 minutos. Sua distribuição possui meia-vida de seis minutos e meia vida de eliminação de duas horas (BACCHIEGA; SIMAS, 2008; VILLELA; NASCIMENTO JÚNIOR, 2003).

Com a administração intramuscular, e dependendo da dose administrada, os efeitos observados são: sedativo, miorrelaxante e analgésico. Em cães, esses são rápidos e de duração dose-dependente (TRANQUILLI; THURMON; GRIMM, 2007).

Nos primeiros minutos após administração são observados aumento da pressão arterial e bradicardia reflexa, como consequência da vasoconstrição periférica, mas com posterior diminuição da pressão arterial em decorrência da redução no tônus simpático. Ocasionalmente, observa-se bloqueio atrioventricular decorrente do aumento da pressão arterial (MURRELL; HELLEBREKERS, 2005; VALADÃO; TEIXEIRA NETO; MARQUES, 2000).

4.3 VIA INTRANASAL

É uma técnica de administração bem aceita e indolor, cujo início da ação é rápido, isso por que a mucosa nasal é muito vascularizada e permite a absorção facilitada do sedativo. Adiciona-se ainda, a ligação direta do tecido olfatório com o sistema nervoso central, corroborando a via como ótima alternativa para a administração de fármacos (RAMALHAIS; RIBEIRO, 2020).

A administração de fármacos pela via intranasal em cães ainda é pouco relatada, o que dificulta obter dados clínicos sobre os efeitos e utilização da via (MICIELI *et al.*, 2017). Contudo, em gatos, quando administrada a dose de 0,01 mg/kg de dexmedetomidina ocorre sedação adequada, pois o animal apresenta sinais de sonolência. A aplicação deve ser feita em gotejamento, com a cabeça do animal inclinada durante 15 segundos (SANTOS, 2019).

Segundo Micieli *et al.* (2017), a via intranasal é uma rota em que o período de início da ação do fármaco diverge das vias convencionais, assim como seus efeitos colaterais. A ação da dexmedetomidina pela via intranasal inicia-se com 15 a 20 minutos, sendo que o pico máximo de efeitos da absorção por essa via depende de três formas distintas, a saber: 1 - absorção direta a partir da mucosa para a circulação sistêmica; 2 - entrada pelo bulbo olfatório; e 3 - transporte

via axonal pelo nervo olfatório que adentra diretamente para o sistema nervoso central de maneira extracelular (MICIELI *et al.*, 2017).

O pico de absorção ocorre em torno de meia hora após administrada, com cerca de uma hora de duração (SANTOS, 2019). O tempo de ação da dexmedetomidina se mantém semelhante às aplicações convencionais (MICIELI *et al.*, 2017).

4.4 VIA OROMUCOSA

O medicamento dexmedetomidina na linha veterinária pode ser encontrado na formulação em gel, porém não é comercializada no Brasil. Nessa formulação, é utilizado principalmente em casos de ansiedade, medo e estresse do animal, mas, não provoca profunda sedação (HAUSER *et al.*, 2020).

A absorção de fármacos administrados pela via oromucosa é rápida, pois a mucosa da cavidade oral é altamente irrigada por vasos sanguíneos. Por se tratar de uma via indolor, como a intranasal, torna-se uma boa alternativa na administração de medicamentos, pois não exige contenção severa do paciente, reduzindo o risco de estresse, sendo bem aceito na maioria dos animais (GIOENI *et al.*, 2020).

4.5 VIA EPIDURAL

Diversos fármacos podem ser administrados pela via epidural em cães, sendo os anestésicos locais, opioides, α_2 -agonistas adrenérgicos e anestésicos dissociativos os mais comumente utilizados. Dentre a classe dos α_2 -agonistas, a dexmedetomidina vem demonstrando efeitos analgésicos satisfatórios, especialmente quando administrado em associação aos anestésicos locais, podendo ser administrado volume total de 1 mL para cada 4 Kg de peso corporal (POHL *et al.*, 2012).

Após administração peridural, a dexmedetomidina se liga aos receptores α_2 -adrenérgicos encontrados no sistema nervoso central e periférico, promovendo hiperpolarização das fibras nervosas do tipo C, além de vasoconstrição local reduzindo a absorção vascular do anestésico, promovendo aumento do tempo de ação do fármaco e bloqueio perineural (MOMBACH, 2015).

A coadministração de dexmedetomidina (4 μ g/Kg) e bupivacaína (1 mg/Kg) pela via epidural lombossacral demonstrou analgesia adequada para cirurgias ortopédicas de membros

pélvicos em cães, com melhor recuperação anestésica e recuperação da função motora mais tardia quando comparado ao uso isolado de bupivacaína (ODETTE; SMITH, 2013).

Dexmedetomidina (2 µg/Kg) associada a lidocaína com vasoconstritor (2,5 mg/Kg) administrada pela via peridural, demonstrou bloqueio sensorial de cerca de uma hora para ovarioossalpingohisterectomia em cadelas, sendo necessário resgate analgésico pós-operatório após três horas. Além disso, nesse estudo a associação xilazina-lidocaína proporcionou analgesia pós-operatória mais duradoura quando comparada à associação de dexmedetomidina (POHL *et al.*, 2012).

5 EFEITOS BIOLÓGICOS PRINCIPAIS DA DEXMEDETOMIDINA EM CÃES

5.1 EFEITOS SEDATIVOS

O *locus coeruleus* é a região responsável pelo efeito sedativo e nela se encontra grande quantidade de receptores α_2 -adrenérgicos. Além disso, nesse local existem nervos que são encarregados de transmitir estímulos para o córtex cerebral e ao sistema límbico. Quando estão hiperpolarizados, impossibilitam a propagação do potencial de ação e, conseqüentemente, impulso nervoso, sedando o animal (BACCHIEGA; SIMAS, 2008). Os efeitos de sedação observada na espécie canina são redução da resposta a estímulos externos, como sonoros e visuais, sonolência, letargia, deambulação, redução no reflexo palpebral e alteração na postura corporal, podendo estar em decúbito (PICIOLI *et al.*, 2013; SINOTTI, 2019).

Dexmedetomidina possui ações sedativas dose-dependentes (DENT *et al.*, 2019), de maneira satisfatória, de rápido início de ação, entre dez e 20 minutos e com duração entre 30 e 90 minutos (CORTOPASSI; PATRÍCIO; PACHECO, 2016). Picioli *et al.* (2019), em um experimento que avaliou alterações clínicas, hematológicas e bioquímicas em cães, observaram que o tratamento com dexmedetomidina (0,5 mg/mL) na dose de 0,01 mg/kg pela via intramuscular, promoveu sedação moderada, apesar de características sedativas mais evidentes se comparado aos demais tratamentos. Além disso, verificaram bradicardia acentuada, bradipneia, discreta hipotermia e um animal (16%) apresentou êmese, concluindo que devido sua característica dose-dependente, doses maiores promovem sedação mais profunda e prolongada, acompanhada de maiores manifestações de efeitos adversos.

Quanto à reversão dos efeitos de sedação em cães pré-medicados com dexmedetomidina, é apontado o uso de iombina (IOM) e atipamezole (ATI). Após

administração intravenosa de dexmedetomidina (10 µg/kg), o escore de sedação foi revertido com o uso de IOM e ATI, nas doses de 50 µg/kg e 100 µg/kg pela via intravenosa. Houve redução significativa do escore aos cinco minutos após administração dos fármacos reversores, atingindo os valores basais do escore de sedação mais rapidamente com o uso de IOB na dose de 100 µg/kg aos dez minutos (SINOTTI, 2019).

O atipamezole (0,04 µg/Kg) administrado pela via intramuscular em cães submetidos à medicação pré-anestésica de 3,5 µg/Kg de dexmedetomidina, promoveu elevação da frequência respiratória e cardíaca cinco minutos após a administração, e aos dez minutos, o paciente estava caminhando (POERSCHKE *et al.*, 2017).

5.2 EFEITO ANALGÉSICO

Intensa resposta analgésica ocorre quando há estimulação dos receptores α 2-adrenérgicos devido sua relação com os receptores supraespinhais e espinhais, acarretando na ativação de receptores pós-sinápticos das vias descendentes noradrenérgicas (SCHNAIDER *et al.*, 2005).

O efeito analgésico se faz presente de forma mais rápida quando administrado pela via intravenosa, porém, quando se trata de duração, a via intramuscular se destaca (CORTOPASSI; PATRÍCIO; PACHECO, 2016).

Pelo fato de não conferir propriedades anestésicas e não induzir a perda da consciência, a dexmedetomidina é frequentemente empregada em associação com fármacos opioides para realização de procedimentos cirúrgicos, o qual possui sinergismo antinociceptivo (RASZPLEWICZ; MACFARLANE; WEST, 2013).

Frente a um procedimento que promoverá dor pós reversão, torna-se necessária a administração de outra substância que terá como objetivo o controle algico, devido ao fato que a ação dos reversores será direta à inibição algica. A manifestação da reversão ocorre em aproximadamente cinco minutos após a administração (GRANHOLM *et al.*, 2007). Quanto ao atipamezole, é bem tolerado quando utilizado em cães e gatos, porém, apesar de pouco frequente, pode-se observar efeitos adversos como taquicardia, hipotensão, tremores e excitação (GRANHOLM *et al.*, 2006; GRANHOLM *et al.*, 2007).

5.3 EFEITO DE RELAXAMENTO MUSCULAR

Os neurônios motores fazem sinapse medular por meio de neurotransmissores colinérgicos e dopaminérgicos, dos quais os receptores colinérgicos promovem contração muscular, rigidez e hipertonia dos músculos, ao passo que os receptores dopaminérgicos desencadeiam reação miorrelaxante. Os neurônios aferentes levam o estímulo nervoso da musculatura até a medula espinal, em que ocorrerão sinapses por meio dos neurônios motores α e γ . Os neurônios eferentes liberam acetilcolina nas junções neuromusculares promovendo estímulo contrátil da musculatura estriada esquelética (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2017).

Os fármacos α_2 -adrenérgicos, são sedativos hipnóticos, com ação miorrelaxante de ação central, de forma transitória e reversível, sem relação direta com a junção neuromuscular. (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2017). A dexmedetomidina atua de forma adrenomimética nos receptores α_2 adrenérgicos nos neurônios noradrenérgicos do sistema nervoso central, inibindo a liberação de noradrenalina na fenda sináptica (VILLELA; NASCIMENTO JÚNIOR, 2003).

O uso de dexmedetomidina promove efeito miorrelaxante profundo e satisfatório. Como características do miorrelaxamento de musculatura estriada esquelética podem ser observadas perda de resistência mandibular, relaxamento em musculatura esquelética e perda de resistência para esticar os membros. O miorrelaxamento pode ser observado de forma sutil ou mais pronunciada, com ausência de resistência, com graus de relaxamento muscular dose-dependente ou variável de acordo com as associações farmacológicas empregadas (CÂMARA, 2020).

Existem poucos estudos relacionados ao grau de miorrelaxamento promovido por dexmedetomidina em cães, entretanto em gatos foi observado profundo relaxamento muscular com latência de cinco minutos após administração de associações de dexmedetomidina (5 $\mu\text{g/Kg}$), metadona (0,3 mg/Kg) e midazolam (0,3 mg/Kg) ou coadministração de dexmedetomidina (7,5 $\mu\text{g/Kg}$) e metadona (0,3 mg/Kg), ambos pela via intramuscular (CÂMARA, 2020).

5.4 EFEITOS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL, RENAL E ENDÓCRINO

Após a administração da dexmedetomidina o fármaco exercerá alguns efeitos em determinados sistemas e órgãos do paciente, advindos da ligação com os receptores envolvidos, principalmente, os α_2 -adrenérgicos e os imidazolínicos (ALVES; BRAZ; VIANNA, 2000; BULOW *et al.*, 2014; SINOTTI, 2019).

No sistema nervoso central, dexmedetomidina exerce papel muito importante, pois atua de forma direta causando sedação, hipnose, modulação da cognição e da dor, influência no processamento sensorial/cognição/humor e analgesia em nível espinal (BAGATINI *et al.*, 2002; BULOW *et al.*, 2014). O mecanismo de analgesia e sedação é multifatorial e envolve neurônios noradrenérgicos, sendo que quando suprimidos, as suas atividades resultam em diminuição da consciência em estímulos nocivos. Além disso, em neurônios do corno dorsal superficial da medula espinal, a dexmedetomidina suprime e reduz a transmissão da dor pela inibição da liberação de glutamato e substância P (BULOW *et al.*, 2014).

No pâncreas, em geral, causa a inibição de insulina pelas células β -pancreáticas (hipoinsulinemia) e, conseqüentemente, hiperglicemia, porém, não é uma hiperglicemia importante (BAGATINI *et al.*, 2002; SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2017).

Nos rins, os fármacos α_2 -agonistas induzem a diurese por meio da diminuição da secreção do hormônio antidiurético, outro mecanismo que pode justificar o processo de diurese é a inibição da renina na mesma proporção em que ocorre a liberação do peptídeo natriurético atrial (BAGATINI *et al.*, 2002; SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2017). Além disso, ainda pode ser observado aumento da taxa de filtração glomerular, porém não, é claro como funciona esse efeito (BAGATINI *et al.*, 2002).

6 HEMODINÂMICA E EFEITOS COLATERAIS DA DEXMEDETOMIDINA EM CÃES

Embora com efeitos benéficos à anestesia na medicina veterinária, como excelente agente sedativo com certas propriedades analgésicas (DEGROOT *et al.*, 2020; SIMON *et al.*, 2018), a dexmedetomidina é utilizada com cautela (MURRELL; HELLEBREKERS, 2005). Tendo em vista os comprometimentos no sistema cardiovascular que ela é capaz de gerar; como bradicardia, redução do débito cardíaco, hipertensão arterial (HECTOR *et al.*, 2017; LIN *et al.*, 2008; ZANNIN, 2019), diminuição da oferta de oxigênio (HECTOR *et al.*, 2017; LIN *et al.*,

2008; MORAN-MUÑOZ *et al.*, 2017) e arritmias (LIN *et al.*, 2008), mas cabe destacar que esses efeitos são dose-dependentes (HECTOR *et al.*, 2017; LIN *et al.*, 2008). Assim, entender como acontecem os processos que alteram a hemodinâmica do paciente, é importante para se executar uma anestesia de qualidade e segura.

6.1 BRADICARDIA

A bradicardia é o principal efeito da dexmedetomidina como resposta barorreflexa (ZANNIN, 2019). Frente a isso, tentativas de realizar intervenções preventivas à bradicardia ocasionada pela dexmedetomidina podem ser levadas em consideração, entretanto, Alvaides *et al.* (2008) observaram severa hipertensão quando administrado acepromazina e atropina isoladas, antes da dexmedetomidina com o intuito preventivo da bradicardia causada por este fármaco, e assim, não é recomendada intervenção prévia da bradicardia no primeiro momento.

Se agravada, a bradicardia pode causar injúrias como diminuição do débito cardíaco e, como consequência, prejuízo na oxigenação tecidual (HECTOR *et al.*, 2017). Isso é constatado por Zannin (2019) quando em experimento, administrou-se dexmedetomidina a dose de 2µg/kg em *bolus*, reduzindo a frequência cardíaca em 38% e débito cardíaco em 45%.

Esse é um fato que requer atenção porque a bradicardia e, consequente, redução do débito cardíaco, pode predispor o paciente à respiração anaeróbica (HECTOR *et al.*, 2017). No entanto, Moran-Muñoz *et al.* (2017), concluíram que, embora haja redução do débito cardíaco e da oferta de oxigênio, há aumento no consumo de oxigênio pelo organismo para manutenção fisiológica em cães anestesiados com lidocaína e dexmedetomidina isoladas ou combinadas entre si quando, comparados a outros cães anestesiados com sevoflurano em doses equipotentes sem aumento do lactato sérico.

Resultado semelhante foi obtido por Pascoe (2015), quando avaliou os efeitos cardiopulmonares da infusão de dexmedetomidina durante a anestesia com isoflurano em cães. Constatou-se a redução da distribuição de oxigênio em 41,3%, mas a taxa de extração de oxigênio elevou-se em 208%, impossibilitando que houvesse hipóxia tecidual e aumento da respiração anaeróbica pelas células.

Supõe-se que, pela diminuição da velocidade na qual o sangue passa pelos vasos quando há vasoconstrição, há aumento do tempo de contato das hemácias com os tecidos, permitindo que eles extraiam maior quantidade de oxigênio delas, por isso o aumento da taxa de extração de oxigênio ainda que com diminuição do débito cardíaco (PASCOE, 2015).

6.2 HIPERTENSÃO

Outra alteração hemodinâmica comum encontrada em pacientes que receberam administração de dexmedetomidina, é a hipertensão, e isso se dá devido efeito vasoconstritor desse medicamento, alteração encontrada por Zannin (2019) quando administrou 2µg/kg em *bolus* resultando no aumento de 30% das pressões arteriais média e sistólica. Alteração encontrada também por Congdon *et al.* (2011) em que se observou aumento das pressões arteriais sistólica, diastólica e média com a administração de dexmedetomidina em cães. Além disso, o mesmo autor constatou que mesmo em hipotensão, a frequência cardíaca não aumenta devido ao efeito simpatolítico que a dexmedetomidina possui.

6.3 ARRITMIAS

Arritmias também são alterações frequentemente encontradas em cães anestesiados com dexmedetomidina (CONGDON *et al.*, 2011; LIN *et al.*, 2008; ZANNIN, 2019). Congdon *et al.* (2011) relatam que todos os cães do grupo que recebeu a administração de dexmedetomidina apresentaram bradicardia sinusal ou arritmia sinusal. Além disso, alguns animais apresentaram bloqueio atrioventricular de segundo grau entre 5 (cinco) a 15 (quinze) minutos após a administração do fármaco.

Arritmias são observadas principalmente, quando a administração da dexmedetomidina é associada com propofol, algo que não é observado quando associada com isoflurano, possivelmente devido a capacidade de vasodilatação que o isoflurano possui, e os efeitos adversos relacionados à administração da dexmedetomidina estarem relacionados à vasoconstrição (LIN *et al.*, 2008).

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do abordado nesse capítulo, entende-se que, embora o uso da dexmedetomidina em cães acarreta no surgimento de efeitos colaterais como bradicardia e hipertensão, principalmente, esse é um fármaco eficiente na sedação e analgesia, tendo o seu uso válido desde que sejam previamente avaliadas as condições do paciente para que outras repercussões deletérias não sejam maiores que as benéficas.

Contudo, apesar das contraindicações em pacientes com manifestações clínicas específicas e indesejadas, esse fármaco mostra grande versatilidade, tendo em vista a ampla possibilidade de vias de administração e respectivas características, que ampliam a utilização da dexmedetomidina nas diversas situações da casuística veterinária.

8 REFERÊNCIAS

AANTAA, R. E. *et al.* Dexmedetomidine, an alpha 2 adrenoceptoragonist, reduces anesthetic requirements for patients undergoing minor gynecologic surgery. **Anesthesiology**, v. 73, n. 2, p. 230-235, 1990.

ADAMS, G. P. **Comparação dos efeitos da dexmedetomidina administrada pelas vias intramuscular e intravenosa sobre a sedação, os parâmetros fisiológicos e ecocardiográficos em cães.** 2020. 41 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Paraná. Palotina, 2020.

AFONSO, J.; REIS, F. Dexmedetomidina: papel atual em anestesia e cuidados intensivos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 62, n. 1, p. 125-133, 2012.

ALVAIDES, R. K. *et al.* Sedative and cardiorespiratory effects of acepromazine or atropine given before dexmedetomidine in dogs. **Veterinary Record**, v. 162, n. 26, p. 852-856, 2008.

ALVES, T. C. A.; BRAZ, J. R. C.; VIANNA, P. T. G. Alfa 2-agonistas em anestesiologia: aspectos clínicos e farmacológicos. **Brazilian Journal of Anesthesiology**, v. 50, n. 5, p. 396-404, 2000.

AMBRISKO, T. D.; HIKASA, Y. The antagonistic effects of atipamezole and yohimbine on stress-related neuro hormonal and metabolic responses induced by medetomidine in dogs. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 67, p. 64-67, 2003.

BACCHIEGA, T. S.; SIMAS, R. de C. Dexmedetomidina um novo medicamento na anestesiologia veterinária. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 1, n. 10, p. 46-51, 2008.

BAGATINI, A. *et al.* Dexmedetomidina: farmacologia e uso clínico. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 52, n. 5, p. 606-617, 2002.

BHANA, N.; GOA, K. L.; MCCLELLAN, K. J. Dexmedetomidine. **Drugs**, v. 59, n. 2, p. 263-270, 2000.

BRONDANI, J. T. *et al.* Analgesia epidural com clonidina ou romifidina em cães submetidos à cirurgia coxofemoral. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 2, p. 175-182, 2004.

BULOW, N. M. *et al.* Response in Patients under Coronary Artery Bypass Grafting Surgery and Clinical Implications: A Review of the Relevance of Dexmedetomidine Use. **International Scholarly Research Notices Anesthesiology**, v. 2014, p. 1-28, 2014.

CÂMARA, B. M. C. **Efeitos clínicos, hemogasométricos e ecocardiográficos da associação da dexmedetomidina e metadona com ou sem midazolam em felinos.** 75 f. 2020. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2020.

CONGDON, J. M. *et al.* Cardiovascular, respiratory, electrolyte and acid–base balance during continuous dexmedetomidine infusion in anesthetized dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 40, n. 5, p. 464-471, 2013.

CONGDON, J. M. *et al.* Evaluation of the sedative and cardiovascular effects of intramuscular administration of dexmedetomidine with and without concurrent atropine administration in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 239, n. 1, p. 81-89, 2011.

CORTOPASSI, S. R. G.; PATRÍCIO, G. C. F.; PACHECO, P. F. O uso da dexmedetomidina na clínica de pequenos animais. **Zoetis Boletim Técnico**, n. 6, p. 1-8, 2016.

DEGROOT, W. D. *et al.* Examination of laryngeal function of healthy dogs by using sedation protocols with dexmedetomidine. **Veterinary Surgery**, v. 49, n. 1, p. 124-130, 2020.

DENT, B. T. *et al.* Pharmacokinetics and pharmacodynamic effect of oral transmucosal and intravenous administration of dexmedetomidine in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 80, n. 10, p. 969-975, 2019.

GIOENI, D. *et al.* Oral transmucosal or intramuscular administration of dexmedetomidine–methadone combination in dogs: sedative and physiological effects. **Animals**, v. 10, n. 11, p. 1-11, 2020.

GRANHOLM, M. *et al.* Evaluation of the clinical efficacy and safety of dexmedetomidine or medetomidine in cats and their reversal with atipamezole. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 33, n. 4, p. 214-223, 2006.

GRANHOLM, M. *et al.* Evaluation of the clinical efficacy and safety of intramuscular and intravenous doses of dexmedetomidine and medetomidine in dogs and their reversal with atipamezole. **Veterinary Record**, v. 160, n. 26, p. 891-897, 2007.

HAUSER, H. *et al.* In-hospital administration of dexmedetomidine or omucosal gel for stress reduction in dogs during veterinary visits: a randomized, double-blinded, placebo-controlled study. **Journal of Veterinary Behavior**, v. 39, p. 77-85, 2020.

HECTOR, R. C. *et al.* Effects of constant rate infusions of dexmedetomidine or MK-467 on the minimum alveolar concentration of sevoflurane in dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 44, n.4, p. 755-765, 2017.

ILBÄCK, N. G.; STÅLHANDSKE, T. Cardiovascular effects of xylazine recorder with telemetry in the dog. **Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine**, v. 50, n. 10, p. 479-483, 2003.

JULIÃO, G. H.; ABIMUSSI, C. J. X. Uso de dexmedetomidina em medicina veterinária: revisão da literatura. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 17, n. 1, p. 26-32, 2019.

LIN, G. Y. *et al.* Dexmedetomidine constant rate infusion for 24 hours during and after propofol or isoflurane anaesthesia in dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 35, n. 2, p. 141-153, 2008.

MICIELI, F. *et al.* Sedative and cardiovascular effects of intranasal or intramuscular dexmedetomidine in healthy dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 44, n. 4, p. 703-709, 2017.

MOMBACH, V. S. **Dexmedetomidina associada à ropivacaína em anestesia locorregional para analgesia trans e pós-operatória em procedimentos cirúrgicos de joelho em cães**. 2015. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

MORAN-MUÑOZ, R. *et al.* Cardiovascular effects of constant rate infusions of lidocaine, lidocaine and dexmedetomidine, and dexmedetomidine in dogs anesthetized at equipotent doses of sevoflurane. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 58, n. 7, p. 729-734, 2017.

MURRELL, J. C.; HELLEBREKERS, L. J. Medetomidine and dexmedetomidine: a review of cardiovascular effects and antinociceptive properties in the dog. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 32, n. 3, p. 117-127, 2005.

ODETTE, O.; SMITH, L. J. A comparison of epidural analgesia provided by bupivacaine alone, bupivacaine+ morphine, or bupivacaine+ dexmedetomidine for pelvic orthopedic surgery in dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 40, n. 5, p. 527-536, 2013.

PASCOE, P. J. The cardiopulmonary effects of dexmedetomidine infusions in dogs during isoflurane anesthesia. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 42, n. 4, p. 360-368, 2015.

PICIOLI, A. *et al.* O uso da acepromazina, dexmedetomidina e xilazina na sedação em cães: alterações hematológicas e bioquímicas. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 20, n. 1, p. 13-19, 2013.

POERSCHKE, A. C. *et al.* Cloridrato de dexmedetomidina como medicação pré anestésica ou sedativo em cães - relato de dois casos. **Veterinária e Zootecnia**, v. 24, n. 4, p. 697-702, 2017.

POHL, V. H. *et al.* Epidural anesthesia and post operative analgesia with alpha-2 adrenergic agonists and lidocaine for ovariohysterectomy in bitches. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 76, n. 3, p. 215-220, 2012.

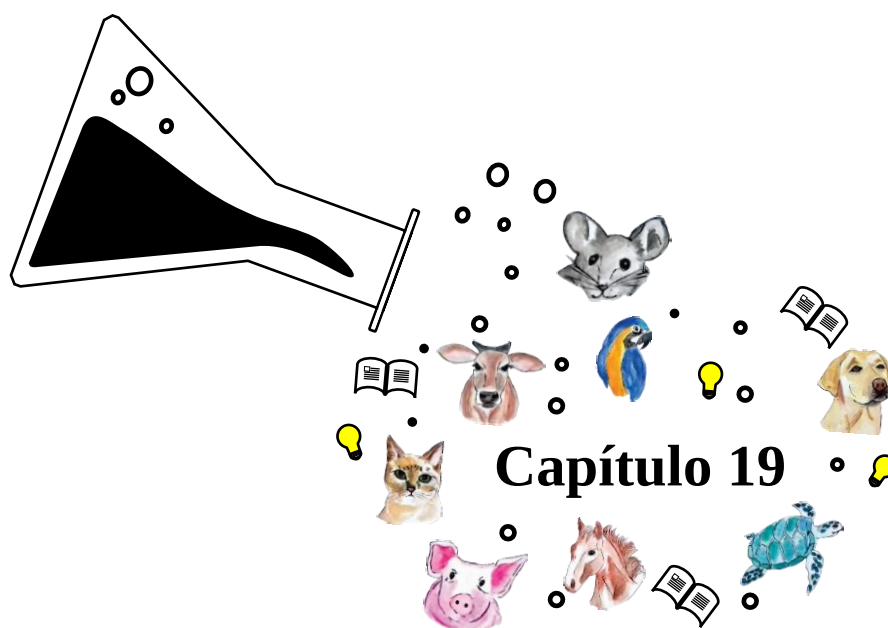
- RAMALHAIS, A.; RIBEIRO, R. N. Avaliação da sedação por via intranasal em gatos domésticos (*Felis catus*) pela administração de dexmedetomidina. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária FAG**, v. 3, n. 1, p. 18-29, 2020.
- RASZPLEWICZ, J.; MACFARLANE, P.; WEST, E. Comparison of sedation scores and propofol induction doses in dogs after intramuscular premedication with butorphanol and either dexmedetomidine or medetomidine. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 40, n. 6, p. 584-589, 2013.
- SANTANGELO, B. *et al.* Intranasal dexmedetomidine in healthy beagles: an echocardiographic and pharmacokinetic/pharmacodynamic study. **The Veterinary Journal**, v. 251, p. 1-7, 2019.
- SANTOS, B. L. **Dexmedetomidina intranasal em gatos: efeitos sistêmicos e tempo de ação da dose de 10 mcg/kg**. 2019. 32 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2019.
- SCHNAIDER, T. B. *et al.* Efeito analgésico intra-operatório da cetamina, clonidina ou dexmedetomidina, administradas por via peridural, em cirurgia de abdômen superior. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 55, n. 5, p. 525-531, 2005.
- SHMON, C. Avaliação e preparação do paciente e da equipe cirúrgica. *In*: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3. ed. São Paulo: Manole, 2007, v. 1, cap. 12, p. 162-170.
- SIMON, B. T. *et al.* The clinical effects of a low dose dexmedetomidine constant rate infusion in isoflurane anesthetized cats. **The Veterinary Journal**, v. 234, p. 55-60, 2018.
- SINN, L. Advances in behavioral psychopharmacology. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 48, n. 3, p. 457-471, 2018.
- SINOTTI, J. F. **Atipamezole e ioimbina: estudo de doses na reversão dos efeitos da dexmedetomidina em cães**. 2019. 47 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Paraná. Palotina, 2019.
- SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 1420p.
- TRANQUILLI, W. J.; THURMON, J. C.; GRIMM, K. A. **Lumb & Jones veterinary anesthesia and analgesia**. 4. ed. Chicago: Blackwell Publishing, 2007. 1096p.
- VALADÃO, C. A. A.; TEIXEIRA NETO, F. J.; MARQUES, J. A. Evaluation of the effect of hyoscine-n-butyl-bromide on the cardiovascular actions of detomidine, in the horse. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 37, n. 5, p. 405-409, 2000.
- VALVERDE, A. Alpha-2 agonists as pain therapy in horses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 26, n. 3, p. 515-532, 2010.

VILLELA, N. R.; NASCIMENTO JÚNIOR, P. Uso de dexmedetomidina em anestesia. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 53, n. 1, p. 97-113, 2003.

WEERINK, M. A. S. *et al.* Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of dexmedetomidine. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 56, n. 8, p. 893-913, 2017.

YANMAZ, L. E. *et al.* Effects of intramuscular and intranasal administration of midazolam–dexmedetomidine on sedation and some cardiopulmonary variables in New Zealand White rabbits. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 49, n. 1, p. 113-117, 2022.

ZANNIN, D. **Anestesia intravenosa total em cadelas:** avaliação de variáveis cardiovasculares e do requerimento anestésico de propofol na associação de remifentanil e dexmedetomidina. 2019. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, 2019.



Atividade das lactonas macrocíclicas no controle de parasitos de animais

Lais Sperandio Cassani ¹
Ana Clara Nunes Boechat ²
Mariana Belizario de Oliveira ³
Roberta Tristão Pinto ⁴
Adilson Vidal Costa ⁵
Vagner Tebaldi de Queiroz ⁶
Fábio Demolinari de Miranda ⁷
Isabella Vilhena Freire Martins ⁸

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

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: acbn274@gmail.com

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

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

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

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

⁷ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: fademolinari@gmail.com

⁸ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: isabella.martins@ufes.br

1 INTRODUÇÃO

A ivermectina foi a primeira lactona macrocíclica (LM) introduzida como antiparasitário, e sua eficácia contra nematoides e artrópodes levou o controle de parasitos a um novo patamar. Na década de 80, pela primeira vez, um único princípio ativo foi seguro e eficaz contra a maioria dos ecto e endoparasitos para animais, em alta eficácia contra as fases inibidas, larvais e adultas dos principais nematódeos e artrópodes adultos (VERCRUYSSSE; REW, 2002).

A partir do advento da ivermectina, vários novos princípios ativos do grupo das lactonas macrocíclicas, incluindo a abamectina, doramectina, eprinomectina, milbemicina, moxidectina e selamectina foram desenvolvidos (VERCRUYSSSE; REW, 2002)

Segundo Bowman (2010), as lactonas macrocíclicas são altamente eficazes em baixas doses, são muito seguras e possuem um amplo espectro de ação para controle de parasitas internos e externos de animais de produção e companhia.

O presente trabalho teve como objetivo fazer revisão dos estudos sobre o histórico, propriedades químicas e atividade antiparasitária das lactonas macrocíclicas no que tange ao controle dos principais nematódeos e artrópodes de importância em medicina veterinária.

2 LACTONAS MACROCÍCLICAS

As lactonas macrocíclicas (LMs) são uma classe de compostos de origem natural ou semissintética denominadas parasiticidas, com atividade farmacológica contra grande variedade de artrópodes e nematoides. Esta classe de compostos é amplamente utilizada em animais, humanos e controle de pragas em plantações. As LMs foram desenvolvidas no início da década de 80 e atraíram a atenção da indústria química e agrícola pois, além da ação parasiticida, apresentou atividade de amplo espectro, mecanismo de ação exclusivo, perfil de segurança, baixa toxicidade ambiental e facilidade de administração. Outro fator relevante foi a eficácia contra cepas de nematoides resistentes a levamisol, benzimidazol e pirantel (MEROLA; EUBIG, 2018; PRICHARD; MÉNEZ; LESPINE, 2012).

As LMs são divididas em dois grupos: avermectinas (abamectina, ivermectina, emamectina, eprinomectina, doramectina e selamectina) (Figura 1) e milbemicinas (moxidectina, milbemicina e nemadectina) (Figura 2). Esses compostos são produtos naturais

oriundos da fermentação de microrganismos estreptomicetos do solo (MEROLA; EUBIG, 2018; PRICHARD; GEARY, 2019; PRICHARD; MÉNEZ; LESPINE, 2012).

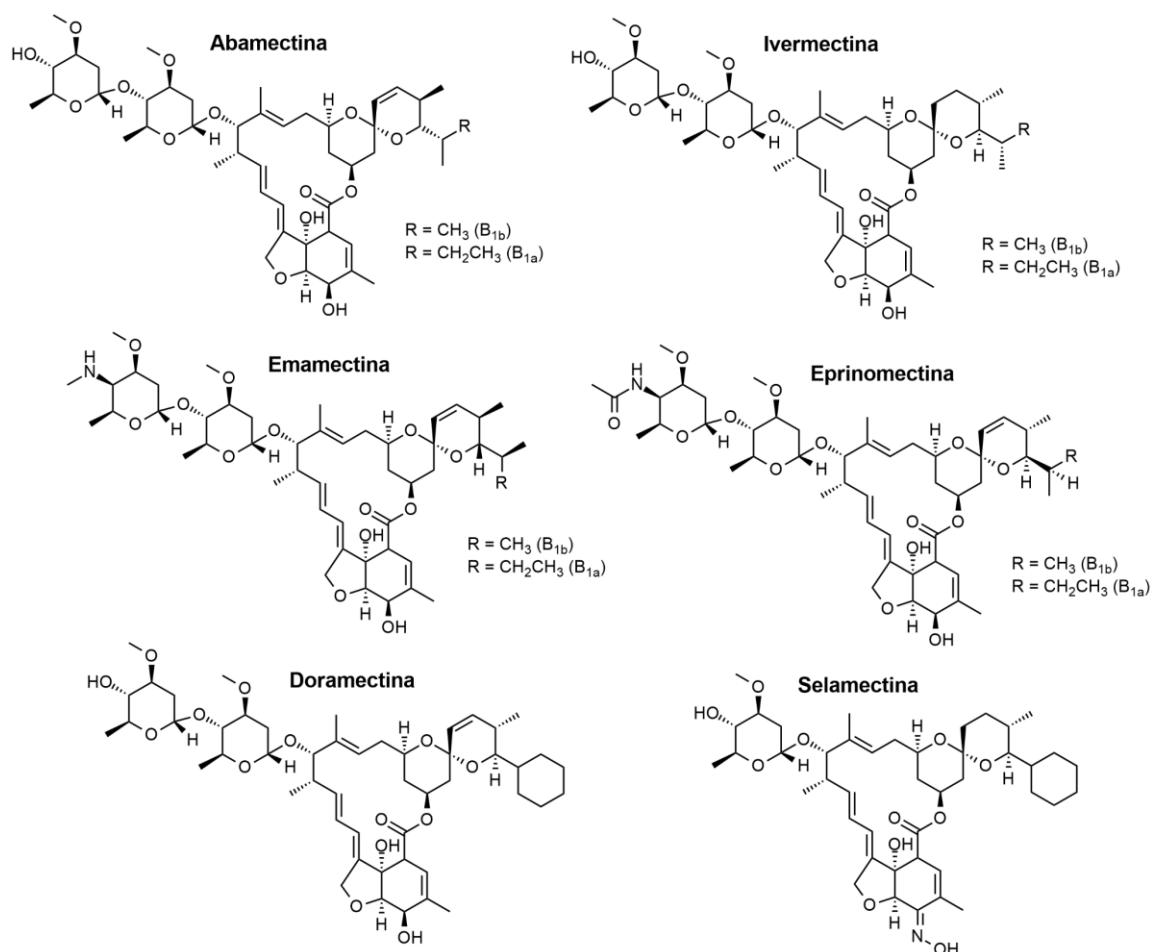


Figura 1 – Estruturas das avermectinas comercialmente disponíveis.

Fonte: Os autores.

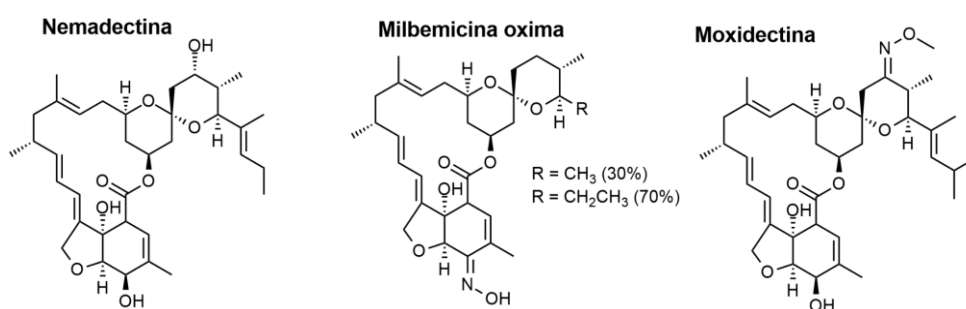


Figura 2 – Estruturas das milbemicinas comercialmente disponíveis.

Fonte: Os autores.

2.1 HISTÓRICO DAS AVERMECTINAS E MILBEMICINAS

As avermectinas foram descobertas em 1975 a partir do caldo de fermentação contendo a bactéria do solo *Streptomyces avermitilis* (Figura 3), preparado nos laboratórios do Instituto

Kitasato no Japão. Em seguida, este composto foi levado aos laboratórios da Merck & Co. Inc., EUA, onde estudos demonstraram as atividades da abamectina contra diversos nematoides e ectoparasitas. Além do amplo espectro de atividades, foi identificado a capacidade da abamectina frente a parasitas dentro e fora do corpo, dando surgimento ao termo endectocida. As avermectinas foram consideradas uma classe de sucesso terapêutico, pois eram eficazes por via oral, tópica e parenteral, mesmo em doses baixas, com amplo índice terapêutico. Além disso, não demonstravam resistência cruzada com quaisquer antiparasitários que eram comumente utilizados (ÔMURA; CRUMP, 2014; PRICHARD; GEARY, 2019).

A outra subfamília das LMs, denominada milbemicina, foi descoberta antes das avermectinas, em 1967, a partir do caldo de fermentação da bactéria do solo *Streptomyces hygroscopicus* (Figura 3) com atividade inseticida e acaricida. Apesar de identificar a atividade, sua estrutura química só foi elucidada em 1972. A partir dessa milbemicina, obteve-se a milbemicina oxima, aprovada como anti-helmíntico para cães em 1990. Em 1983, foi descoberto outra milbemicina, denominada nemadectina, um produto da fermentação ativa de *Streptomyces cyaneogriseus* descrito como potente anti-helmíntico. A moxidectina, descoberta em 1989, foi um derivado químico da nemadectina altamente eficaz contra infecções de parasitas de bovinos (PRICHARD; GEARY, 2019).

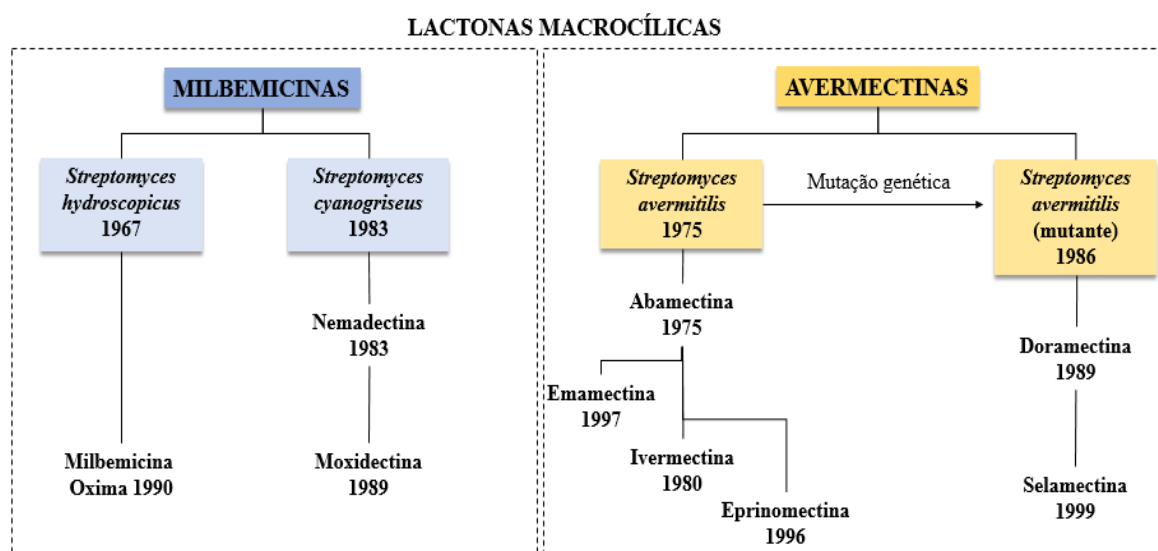


Figura 3 – Desenvolvimento histórico das lactonas macrocíclicas de diferentes bactérias *Streptomyces* para produtos terapêuticos.

Fonte: Adaptado de Prichard e Geary (2019).

2.2 PROPRIEDADES QUÍMICAS DAS LACTONAS MACROCÍCLICAS

As avermectinas são compostas por um anel macrocíclico de 16 membros, com um grupo éster que dá a classificação de lactona, conjugado a um anel benzofurano, um espirocetal e uma funcionalidade sacarídica ligada ao C13, conforme representado na Figura 4. As milbemicinas têm estrutura semelhante, entretanto, não apresentam o grupo sacarídeo ligado ao C13. O *S. avermitilis* produz uma série de avermectinas homólogas, nas quais utilizou-se a nomenclatura A_{1a}, A_{1b}, A_{2a}, A_{2b}, B_{1a}, B_{1b}, B_{2a} e B_{2b} para descrever os compostos (Quadro 1) (ASHOUR, 2019; DANAHER *et al.*, 2006).

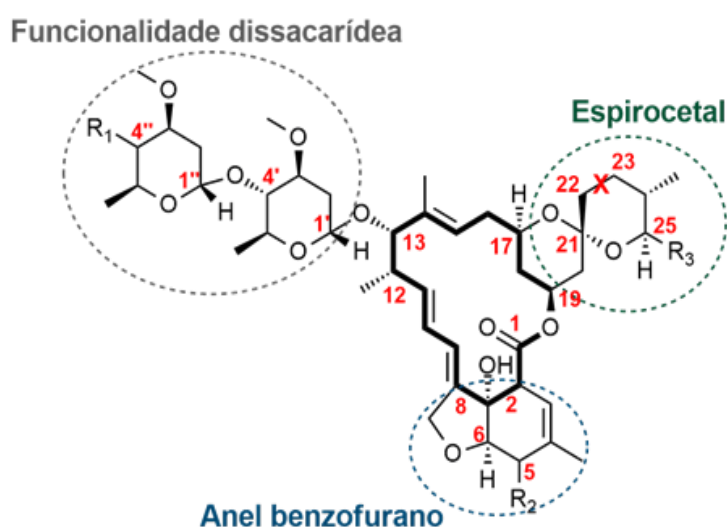


Figura 4 – Estrutura química base das avermectinas.

Fonte: Adaptado de Danaher *et al.* (2006).

Quadro 1 – Estrutura das séries homólogas de avermectinas produzidas por *S. avermitilis*.

Avermectina	R ₁	R ₂	R ₃	C ₂₂ –X– C ₂₃
A _{1b}	OH	OCH ₃	CHCH ₃ CH ₃	-CH=CH-
B _{1a}	OH	OH	CHCH ₃ CH ₂ CH ₃	-CH=CH-
B _{1b}	OH	OH	CHCH ₃ CH ₃	-CH=CH-
A _{2a}	OH	OCH ₃	CHCH ₃ CH ₂ CH ₃	-CH ₂ -CH-OH
A _{2b}	OH	OCH ₃	CHCH ₃ CH ₃	-CH ₂ -CH-OH
B _{2a}	OH	OH	CHCH ₃ CH ₂ CH ₃	-CH ₂ -CH-OH
B _{2b}	OH	OH	CHCH ₃ CH ₃	-CH ₂ -CH-OH

Fonte: Adaptado de Danaher *et al.* (2006).

As estruturas do grupo A são metoxiladas na posição 5, enquanto o grupo B tem uma hidroxila não derivada nessa posição. Os compostos do 1 subconjunto apresentam uma ligação dupla entre C22 e C23 e no subconjunto 2, os compostos têm um grupo hidroxila em C23, devido à hidratação da ligação dupla. Em C25 tem a presença de um grupo *s*-butil no subconjunto a e um grupo isopropil no subconjunto b (PRICHARD; GEARY, 2019).

Os compostos A_{2a}, B_{1a} e B_{2a}, são os principais produtos da fermentação, sendo que o composto B_{1a} (conhecido como abamectina) apresentou maior atividade quando comparado aos outros homólogos, além de ser produzido em maior quantidade. A ivermectina é um derivado da abamectina produzido pela hidrogenação da ligação dupla entre C22 e C23, dando a conformação de cadeira, típica do grupo B₂. Com isso, a ivermectina possui uma excelente atividade antiparasitária (característica comum do grupo B₁) e baixa toxicidade (característica comum do grupo B₂). A abamectina é a mistura de avermectina B_{1a} (>90%) e B_{1b} (<10%), enquanto a ivermectina é composta por B_{1a} (90%) e B_{1b} (10%) (ASHOUR, 2019; DANAHER *et al.*, 2006; PRICHARD; MÉNEZ; LESPINE, 2012).

Outra avermectina comercial é a emamectina, derivada da abamectina com uma substituição da hidroxila em C4'' por um grupo epi-amino-metil e na posição C25 apresenta um grupo metileno a mais. A epiromectina é derivada da avermectina B1 com um grupo epiacetilamoni-desoxi em C4'', foi desenvolvida pela Merck com um perfil favorável de segurança de resíduo gerado no leite. A doramectina é biossintetizada a partir de uma mutação em *S. avermitilis* com estrutura semelhante a abamectina, diferindo apenas na posição C25, com um substituinte cicloexil. A selamectina é um derivado oxima da doramectina, com apenas um anel sacarídeo na posição C13, eficiente contra dirofilariose e segura para tratar pulgas em cães e gatos. Devido ao seu anel monossacarídeo, é um intermediário interessante entre as avermectinas e as milbemicinas (PRICHARD; GEARY, 2019).

As milbemicinas, além de não serem glicosiladas, se diferem por serem protonadas na posição C13 do macrociclo. A nemadectina e a moxidectina possuem uma cadeia lateral olefínica em C25 e uma hidroxila ligada ao C5 do anel benzofurano, enquanto a milbemicina oxima possui um grupo =N-OH em C5. A moxidectina tem um grupo metoxime na posição C23, essa característica estrutural não é observada em nenhuma outra avermectina ou milbemicina (PRICHARD; GEARY, 2019).

2.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DAS LACTONAS MACROCÍCLICAS

As propriedades físico-químicas das lactonas macrocíclicas estão diretamente relacionadas aos grupos funcionais presentes em sua estrutura química. Visto isso, a porção espirocetal presente nas mesmas é responsável por fornecer-lhes estrutura rígida e, ainda, diversidade estereoquímica, na qual as LMs naturais apresentam exclusivamente configuração *R* no C₂₁. Essa configuração influencia diretamente em sua geometria e na atividade inseticida, por exemplo, uma vez que isômeros *S* apresentam espectro de atividade biológica menor quando comparado aos de configuração *R* (MCKELLAR; GOKBULUT, 2012; SUN *et al.*, 2014; VÁZQUEZ-QUINTAL; RODRÍGUEZ-VIVAS; MUÑOZ-RODRÍGUEZ, 2022).

De modo geral, as lactonas macrocíclicas são moléculas relativamente grandes com elevados pesos moleculares, exemplificado pela doramectina (C₅₀H₇₄O₁₄ – MM: 899,12 g.mol⁻¹), pouco solúveis em água e muito solúveis em solventes orgânicos, como o octanol, acetona, éter dietílico, dentre outros. Além disso, as LM apresentam elevados coeficientes de partição (K_{o/w}) que contribuem para seu alto índice de lipofilicidade. Esta propriedade físico-química é uma das mais importantes para as LM, visto que é responsável por determinar a velocidade de absorção destas por qualquer via de aplicação no organismo (LESPINE, 2013).

A alta lipofilicidade desses compostos está diretamente ligada aos anéis de lactona e benzofurano dessas estruturas. Nessa perspectiva, a presença de substituintes alquil no C₂₅, na fração espirocetal, aumenta o caráter lipofílico das avermectinas, bem como a presença de um grupo sacarídeo no C₁₃ das mesmas. A ausência de grupo sacarídeo nas milbemicinas, as tornam mais lipofílicas. No caso da moxidectina, por exemplo, outros fatores também contribuem para sua lipofilicidade, como a presença da metoxima e a cadeia olefínica em C₂₃ e C₂₅, respectivamente. Com isso, infere-se que as diferenças nos índices lipofílicos entre as LMs refletem diretamente em algumas de suas características farmacocinéticas (MCKELLAR; GOKBULUT, 2012; VÁZQUEZ-QUINTAL; RODRÍGUEZ-VIVAS; MUÑOZ-RODRÍGUEZ, 2022).

Finalmente, constata-se que a subfamília das avermectinas são instáveis em meios ácidos e básicos. Sob condições brandas de ácidos, ocorre uma clivagem no grupo dissacarídeo presente em C₄, resultando em uma molécula com um grupo monossacarídeo, e sob condições mais fortes, o dissacarídeo é totalmente perdido sendo formada então uma aglicona. Em contrapartida, em meio básico, o C₂ das avermectinas pode sofrer epimerização. Além disso, ambas as subfamílias das LMs podem sofrer oxidação, embora seja necessário a presença de

solventes específicos para que isso ocorra, como éteres e álcoois secundários (IMPERIALE *et al.*, 2009; VÁZQUEZ-QUINTAL; RODRÍGUEZ-VIVAS; MUÑOZ-RODRÍGUEZ, 2022).

3 ATIVIDADE DAS LACTONAS MACROCÍCLICAS NO CONTROLE DE PARASITOS INTERNOS E EXTERNOS DE ANIMAIS

Dentre os fármacos de escolha para o tratamento de parasitoses, as lactonas macrocíclicas são um grupo importante, principalmente por sua atividade de amplo espectro contra nematódeos e artrópodes, e sua característica química que permite formulações de diferentes tipos, como oral, injetável, *pour on*, *bolus*, etc. (VERCRUYSE; REW, 2002).

No controle de parasitos de animais de produção, as mais empregadas no grupo das avermectinas são a ivermectina, a abamectina, a doramectina, e mais recentemente a eprinomectina, esta última como opção para animais em lactação. Dentre as milbemicinas, a moxidectina tem aplicação para o controle de parasitos de animais de produção em ruminantes (BOWMAN, 2010; SHOOP; MROZIK; FISHER, 1995; SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2017).

As lactonas macrocíclicas também apresentam muitas aplicações no controle de parasitos de animais de companhia. Inicialmente foram desenvolvidos produtos quimioprofiláticos contra a infecção por *Dirofilaria immitis* para serem aplicados mensalmente e depois disso, algumas formulações comerciais estão disponíveis associadas a outros compostos, contra nematoides gastrointestinais. Também apresentam atividade inseticida e acaricida em formulações tópicas de selamectina, moxidectina, milbemicina oxima ou ivermectina aprovadas para tratamento e controle de pulgas, certos carrapatos ixodídeos e causadores de sarna (NOLAN; LOK, 2012).

No Quadro 2 são encontrados os fármacos, seu espectro de ação e a indicação de dosagem para uso veterinário.

Quadro 2- Fármacos do grupo das lactonas macrocíclicas, seu espectro de ação e indicação para uso veterinário.

Fármaco	Animais	Forma de administração	Dose utilizada
Ivermectina	Ovinos	Via oral	0,2 mg kg ⁻¹
	Bovinos	SC, <i>pour on</i>	0,2 a 0,5 mg kg ⁻¹
	Suínos	SC	0,3 mg kg ⁻¹
	Equinos	Via oral	0,2 mg kg ⁻¹
	Felinos	Via oral	0,024 mg kg ⁻¹
	Cães	Via oral	0,006 mg kg ⁻¹
Abamectina	Equinos	Via oral	0,2 mg kg ⁻¹
	Bovinos	SC	0,2 mg kg ⁻¹
Doramectina	Suínos	IM	0,3 mg kg ⁻¹
	Bovinos	SC, <i>pour on</i>	0,2 a 0,5 mg kg ⁻¹
Selamectina	Felinos e Caninos	<i>Pour on</i>	6 mg kg ⁻¹
Eprinomectina	Bovinos	<i>Pour on</i>	0,5 mg kg ⁻¹
Moxidectina	Ovinos	Via oral	0,2 mg kg ⁻¹
	Bovinos	Via oral, <i>pour on</i>	0,2 a 0,5 mg kg ⁻¹
	Equinos	Via oral	0,4 mg kg ⁻¹
	Felinos	Via oral	1 mg kg ⁻¹
	Caninos	Via oral	2,5 mg kg ⁻¹
Milbemicina	Felinos	Via oral	2 mg kg ⁻¹
	Caninos	Via oral	0,5 mg kg ⁻¹

Fonte: Adaptado de Bowman (2010).

SC – via subcutânea; IM – via intramuscular.

As lactonas macrocíclicas aumentam a ação inibidora neuronal que é mediada pelo GABA nos mamíferos, isso promove uma hiperpolarização do neurônio, ou seja, inibe a transmissão nervosa. Nos insetos existe a ação desses compostos em canais de cloro GABA-independentes, aumentando a condutância da membrana do músculo, por meio do bloqueio, para a resposta do ácido ibotênico, que é um ativador específico do portão glutamato. Como consequência, acontece o aumento da permeabilidade da membrana aos íons de cloro, o que diminui a resistência da membrana celular, gerando ataxia e paralisia em insetos e nematódeos (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2017).

3.1 ATIVIDADE DAS LACTONAS MACROCÍCLICAS NO CONTROLE DE ECTOPARASITOS

As avermectinas e as milbemicinas representam a classe de medicamentos com maior movimentação comercial. Esse grupo apresenta alta atividade no controle de ectoparasitos, sendo muito importante, principalmente, para os animais de produção. Esses compostos apresentam amplo espectro de ação, apresentando atividade sistêmica contra artrópodes. Estes fármacos agem nos canais de cloro controlados pelo ácido gama-aminobutírido (GABA), aumentando o fluxo desses íons durante as sinapses em vermes redondos e na placa ou botão neuromuscular em artrópodes. Tal fato gera hiperpolarização das membranas nervosas, levando a paralisia flácida e morte do parasito. Também podem promover o bloqueio do bombeamento da faringe, o que leva o parasito a morte por falta de alimentação (ALBUQUERQUE, 2007; CARDOSO, 2017; RUBENSAM, 2010),

De acordo com Oliveira, Russo e Cruz (2012), a ivermectina apresenta ação eficaz no combate a nematódeos, ácaros, carrapatos, larvas de moscas e piolhos, além de permanecer por longo período no corpo do hospedeiro, sendo principalmente utilizado para o controle de *Rhipicephalus sanguineus*. Contudo, há a desvantagem do medicamento apresentar intoxicação em caso de superdosagem, e em algumas raças de cães da linhagem do Collie, o uso é contra-indicado por conta do acúmulo da droga no sistema nervoso central. Ainda segundo Andrade *et al.* (2017), a ivermectina na dose de 0,2 mg/kg é eficaz para o tratamento de *Sarcoptes scabiei* em cães naturalmente infestados.

Para o controle de *Haematobia irritans*, os inseticidas são os produtos de primeira escolha, contudo, o uso contínuo e desordenado desses produtos tem causado problemas de resistência. As avermectinas em formulações injetáveis não são indicadas para o tratamento de adultos de *H. irritans*, sendo recomendável uso de formulações “pour-on” (BOWMAN, 2010). Os resultados de um trabalho realizado por Martins *et al.* (2002), demonstram que a formulação dorsal de doramectina possui eficácia satisfatória, contudo condições ambientais para o desenvolvimento e as diferenças nas migrações do parasito podem alterar esses resultados.

A eprinomectina na dose de 500 mcg/kg por via tópica parece ser um composto útil em *H. irritans*, sendo uma alternativa em casos de populações resistentes. Além disso, é eficaz no controle de *Dermatobia hominis* quando utilizada na concentração de 1% e empregada na dose de 200 mcg/Kg (NASCIMENTO *et al.*, 2015; SCOTT *et al.*, 2008).

A selamectina pode ser utilizada contra os estágios imaturos de pulgas, além de ser usada para a prevenção de dirofilariose, *Sarcoptes scabiei*, *Otodectes cynotis*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Dermacentor variabilis* e *Trichodectes canis* (FERNANDES, 2014).

Delayte *et al.* (2006), declaram que a moxidectina encontra-se disponível para a prevenção de dirofilariose canina e também é utilizada para a terapia da demodicidose canina generalizada. Ainda possui ação comprovada contra *Psoroptes ovis* em ovinos (FARIA, 2011). Segundo Silva *et al.* (2008), a milbemicina pode ser usada nas doses de 0,5 a 3,8 mg/kg para o tratamento de sarna demodécica, sendo que o tratamento pode chegar em até 30 semanas.

3.2 ATIVIDADE DAS LACTONAS MACROCÍCLICAS NO CONTROLE DE NEMATÓIDES

O uso das lactonas macrocíclicas em nematóides é bastante frequente, sendo muito empregado em animais de produção para o controle dos principais parasitos gastrintestinais de ruminantes, equinos e suínos. Em animais de companhia seu uso é restrito ao controle de filariose canina e associado a outros princípios ativos no controle de nematoides gastrintestinais (BOWMAN, 2010).

Como citado anteriormente, a atividade das LMs é baseada na paralisia flácida do parasito, contudo no caso dos nematoides esse grupo de fármacos apresenta outra característica relevante que é o bloqueio do bombeamento faringeal, impedindo que ocorra a ingestão de alimento e resultando na desnutrição e na morte (MADDISON; PAGE; CHURCH, 2011).

Vale ressaltar, que a atuação das lactonas macrocíclicas vai depender de alguns fatores como a via de administração, a formulação, a concentração, condição corpórea e ao animal específico a que se destina. Além disso, a espécie de parasito e o local anatômico em que é localizado no hospedeiro também deve ser levada em consideração, juntamente com o tempo de exposição da droga (BORGES, 2003; FINK; PORRAS, 1989; SHOOP; MROZIK; FISHER, 1995).

Segundo Bowman (2010) e Rebelo (2014), as lactonas macrocíclicas são utilizadas nos principais nematoides gastrintestinais de animais domésticos. Em ruminantes apresentam atividade nas principais espécies dos gêneros *Ostertagia*, *Cooperia*, *Haemonchus* e *Trichostrongylus*, e em equinos é utilizada para controle de estrongilídeos, incluindo as fases larvais. Taylor, Coop e Wall (2017) afirmam que essas moléculas atuam em formas adultas e larvares de nematódeos gastrintestinais e pulmonares de ruminantes, equinos e suínos, mas que

não possuem eficácia em trematódeos e cestódeos. Além disso, esses últimos autores citam a eficácia das avermectinas em filarídeos e espirurídeos de cães e equinos, como *Dirofilaria*, *Spirocerca* e *Habronema* spp.

No grupo das avermectinas, eprinomectina é a única disponível para uso em vacas no período da lactação, por não apresentar resíduo no leite (BOWMAN, 2010; TAYLOR; COOP; WALL, 2017)

Nos animais de companhia, as lactonas macrocíclicas foram desenvolvidas pela primeira vez como quimioprofiláticos contra a infecção por dirofilariose (*Dirofilaria immitis*) para serem aplicados mensalmente para a morte retroativa de larvas de terceiro e quarto estágio. Ivermectina e moxidectina estão presentes em formulações como quimioprofiláticos (DELAYTE *et al.*, 2006).

A selamectina é citada por Taylor, Coop e Wall (2017) como preventivo de filariose, mas também é relatada com eficácia em ancilostomatídeos e ascarídeos de cães e gatos.

Produtos contendo lactonas macrocíclicas em diversas formulações são aprovados para prevenção de dirofilariose em cães ou gatos. Algumas formulações comerciais associadas também promovem ação contra nematódeos gastrointestinais, como *Ancylostoma* spp. (NOLAN; LOK, 2012).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O parasitismo é uma das maiores preocupações na criação de rebanhos no mundo, principalmente nos países tropicais e subtropicais, que possuem as condições climáticas para o seu desenvolvimento. É sabido que o prejuízo à pecuária brasileira causada por parasitos é de bilhões de dólares anuais, entre prejuízos com nematoides e ectoparasitos e o controle dessas parasitoses faz-se necessário ser de forma estratégica, com o conhecimento de dados epidemiológicos sobre as parasitoses e detalhamento sobre medidas de manejo empregadas no local.

Quando se trata de animais de companhia, cães e gatos são hospedeiros primários de inúmeros parasitos, que além de trazerem prejuízos à sua saúde, muitas vezes são zoonoses, acarretando problemas também a saúde humana, o que reforça o conceito atual de saúde única.

A descoberta do grupo das lactonas macrocíclicas nos anos 90 trouxe grande avanço à contribuição na ciência, e em especial da Parasitologia, devido ao amplo espectro de ação de

suas moléculas, a elevada eficácia contra nematoides e artrópodes, além da possibilidade de poder ser empregada em diferentes espécies de animais, o que teve um êxito na área das ciências veterinárias. Além disso, a chegada das lactonas macrocíclicas revolucionaram o tratamento das parasitoses já que possuem a característica de serem altamente eficazes em doses baixas e muito seguras, devido à sua baixa toxicidade.

Devido a principal forma de controle das parasitoses ser por meio do uso de anti-parasitários, seu uso indiscriminado conduziu ao desenvolvimento de resistência de populações desses parasitos aos fármacos, tornando o controle parasitário mais limitado. A resistência às lactonas macrocíclicas já é descrita em diversas partes do mundo, principalmente em nematódeos de ruminantes e equinos e no controle de ectoparasitos em ruminantes, como em *Haematobia irritans* e *Rhipicephalus microplus*. Em animais de companhia, o desenvolvimento de resistência também tem sido registrada, de forma mais lenta e em especial para infecções por *Dirofilaria immitis* em cães. Nos parasitos de animais de companhia a emergência de populações resistentes demora a ocorrer devido a prática do tratamento individualizado ou em pequenos grupos de animais, o que dificilmente influencia a dinâmica de outra população parasitária.

Mesmo com o aparecimento de populações resistentes principalmente no âmbito das parasitoses em ruminantes e equinos, existem inúmeras vantagens do uso das lactonas macrocíclicas, como a alta eficácia na maioria das espécies de nematoides e ectoparasitos de humanos e animais, incluindo parasitos extra intestinais como as microfilárias em sangue; diferentes formas de apresentação, podendo ser encontradas em forma injetável, oral e também de aplicação tópica; segurança garantida, já que os ativos tem reduzida possibilidade de efeitos colaterais e portanto são bem tolerados pela maioria das espécies de hospedeiros; e atualmente por apresentarem ação em populações resistentes a outros grupos de antiparasitários, como os benzimidazóis.

5 REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, T. A. de. **Obtenção de uma cepa de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) resistente à ivermectina**. 2007. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

ANDRADE, G. M. de *et al.* Eficácia da ivermectina comprimido no tratamento da sarna sarcóptica em cães naturalmente infestados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 4, p. 385-388, 2017.

ASHOUR, D. S. Ivermectin: from theory to clinical application. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 54, n. 2, p. 134-142, 2019.

BORGES, F. A. **Farmacocinética e atividade endectocida de uma nova formulação contendo avermectinas em bovinos**. 2003. 88 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

BOWMAN, D. D. **Parasitologia veterinária de Georgis**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.432p.

CAMPBELL, W. C. History of avermectin and ivermectin, with notes on the history of other macrocyclic lactone antiparasitic agents. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 13, n. 6, p. 853-865, 2012.

CARDOSO, L. D. **Efeito da ivermectina e do triclorfone em banho terapêutico para acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*, Lichtenstein, 1823) parasitados por *Clinostomum complanatum***. 2017. 50 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual Norte Fluminense (UENF), Campos dos Goytacazes, 2017.

DANAHER, M. *et al.* Review of methodology for the determination of macrocyclic lactone residues in biological matrices. **Journal of Chromatography B**, v. 844, n. 2, p. 175-203, 2006.

DELAYTE, E. H. *et al.* Eficácia das lactonas macrocíclicas sistêmicas (ivermectina e moxidectina) na terapia da demodicose canina generalizada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, .1, p. 31-38, 2006.

FARIA, A. M. **Tratamentos convencionais e fitoterápicos para o controle de sarna sarcóptica nos animais domésticos (revisão de literatura)**. 2011. 33 f. Trabalho acadêmico (Seminário - Patologia, Clínica e Cirurgia Animal) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

FERNANDES, F. B. **Controle de *Ctenocephalides* spp. em cães com dermatite alérgica à picada de pulga**. 2014. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

FINK, D. W.; PORRAS, A. G. Pharmacokinetics of ivermectin in animals and humans. *In*: CAMPBELL, W. C. **Ivermectin and Abamectin**. Nova York: Springer-Verlag, 1989. p. 113-130.

IMPERIALE, F. A. *et al.* Thermal stability of antiparasitic macrocyclic lactones milk residues during industrial processing. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 26, n. 1, p. 57-62, 2009.

LESPINE, A. Lipid-like properties and pharmacology of the anthelmintic macrocyclic lactones. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 9, n. 12, p. 1581-1595, 2013.

- MADDISON, J. E.; PAGE, S. W.; CHURCH, D. B. **Farmacologia Clínica de Pequenos Animais**. São Paulo: Elsevier Ciências da Saúde, 2011. 600p.
- MARTINS, J. R. *et al.* Ação da doramectina injetável sobre *Haematobia irritans* em bovinos naturalmente infestados: resultados de observações simultâneas no Brasil e Argentina. **Ciência Rural**, v. 32, n. 4, p. 633-636, 2002.
- MCKELLAR, Q. A.; GOKBULUT, C. Pharmacokinetic features of the antiparasitic macrocyclic lactones. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 13, n. 6, p. 888-911, 2012.
- MEROLA, V. M.; EUBIG, P. A. Toxicology of avermectins and milbemycins (macrocyclic lactones) and the role of P-glycoprotein in dogs and cats. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 42, n. 2, p. 313 - 333, 2012.
- NASCIMENTO, C. G. do *et al.* Eprinomectina 1% injetável no controle de *Dermatobia hominis* em bovinos naturalmente infestados. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 37, n. 1, p. 81-84, 2015.
- NOLAN, T. J.; LOK, J. B. Macrocyclic lactones in the treatment and control of parasitism in small companion animals. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 13, n. 6. p. 1078–1094, 2012.
- OLIVEIRA, L. B. de; RUSSO, S. L.; CRUZ, R. S. Prospecção tecnológica o uso da ivermectina no controle do carrapato em cães. **Cadernos de Prospecção**, v. 5, n. 2, p. 98-103, 2012.
- ÔMURA, S.; CRUMP, A. Ivermectin: panacea for resource-poor communities? **Trends in Parasitology**, v. 30, n. 9, p. 445-455, 2014.
- PRICHARD, R. K.; GEARY, T. G. Perspectives on the utility of moxidectin for the control of parasitic nematodes in the face of developing anthelmintic resistance. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 10, p. 69-83, 2019.
- PRICHARD, R. K. Macrocyclic lactone resistance in *Dirofilaria immitis*: risks for prevention of heartworm disease. **International Journal for Parasitology**. v. 51, n. 13–14, p. 1121-1132, 2021.
- PRICHARD, R. K.; MÉNEZ, C.; LESPINE, A. Moxidectin and the avermectins: consanguinity but not identity. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 2, p. 134-153, 2012.
- REBELO, T E. S. **Novos fármacos antiparasitários em medicina veterinária**. 2014. 145 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade da Beira Interior. Covilhã, Portugal, 2014.
- RUBENSAM, G. **Determinação dos resíduos de avermectinas e milbemicinas em leite bovino por cromatografia líquida e detecção por fluorescência e espectrometria de massas**. 2010. 106 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

SCOTT, F. B. *et al.* Eficácia mosquicida da eprinomectina no controle de *Haematobia irritans* em bovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 1, p. 75-77, 2008.

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, R. P. B. da *et al.* Sarna demodécica canina e suas novas perspectivas de tratamento – revisão. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 11, n. 2, p. 139-151, 2008.

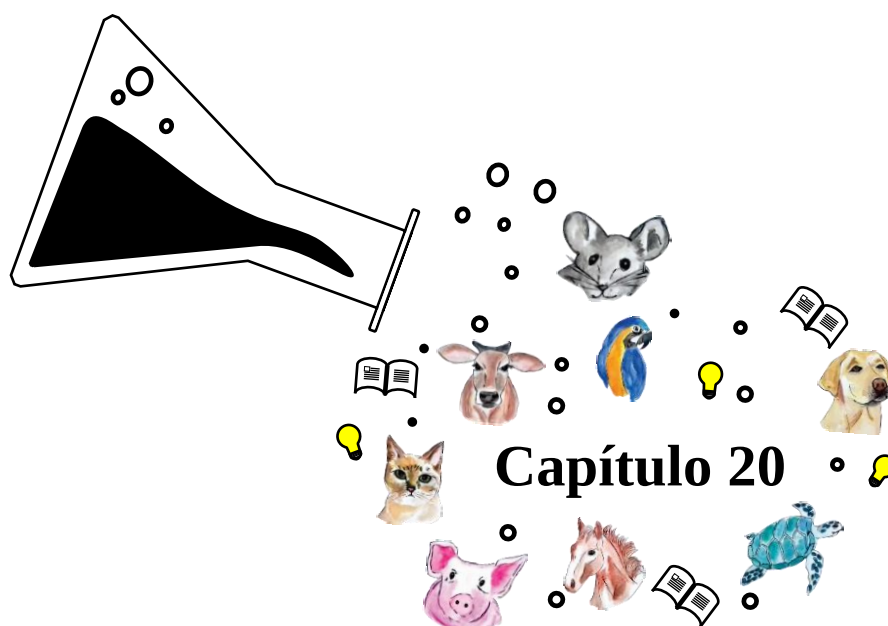
SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à medicina veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 972p.

SUN, P. *et al.* Effect of stereochemistry of avermectin-like 6, 6-spiroketal on biological activities and endogenous biotransformations in *Streptomyces avermectinus*. **ChemBioChem**, v. 15, n. 5, p. 660-664, 2014.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Parasitologia veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 1052p.

VÁZQUEZ-QUINTAL, P. E.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R. I.; MUÑOZ-RODRÍGUEZ, D. Métodos analíticos para determinar lactonas macrocíclicas en diferentes tipos de matrices. Una revisión. **Química Nova**, v. 45, n. 2, p. 178-193, 2022.

VERCRUYSSSE, J.; REW, R. S. **Macrocylic lactones in antiparasitic therapy**. Oxforshire: CABI, 2002. 432p



**Produção de *fingerprints* químicos de extratos, resinas e
óleos vegetais para o desenvolvimento de produtos
veterinários**

Luan Rezende Peccini ¹
Walter Cesar Celeri Bigui ²
João Victor Andrade ³
Fábio Demolinari de Miranda ⁴
Mário Ferreira Conceição Santos ⁵
Adilson Vidal Costa ⁶
Vagner Tebaldi de Queiroz ⁷

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

² Universidade Federal de Espírito Santo, e-mail: walter.bigui@edu.ufes.br

³ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: joao.andrade.75@edu.ufes.br

⁴ Universidade Federal de Espírito Santo e-mail: fademolinari@gmail.com

⁵ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: mario.f.santos@ufes.br

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: avcosta@hotmail.com

⁷ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: vagner.queiroz@ufes.br

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui aproximadamente um terço da flora mundial que, além de extensa em número de espécies, é altamente diversificada e possibilita a exploração de seus recursos naturais (BIESKI *et al.*, 2022). Em 2020, o Brasil arrecadou o somatório de US \$404 milhões com a exportação de produtos naturais, entre eles, óleos essenciais, resinas, extratos vegetais e goma (OEC, 2020).

Na literatura são encontrados diversos trabalhos que comprovam a atividade antimicrobiana de produtos naturais. Fantatto *et al.* (2022) reportaram a atividade acaricida e anti-helmíntica do extrato etanólico (EE) e do óleo essencial (OE) contra o carrapato (*Rhipicephalus microplus*) e o nematóide causador da doença hemoncose (*Haemonchus contortus*). Os autores realizaram a análise do EE e do OE de inflorescências de macela do campo (*Achyrocline satureioides*) por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE-EM) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). No perfil químico do EE foi identificada a presença de flavonóides, sendo a maioria luteolina, quercetina e metil quercetina. Para o OE, os compostos majoritários foram o cariofileno, humuleno e α -pineno.

Figueiredo *et al.* (2019) reportaram o efeito acaricida de extratos (etanólico; acetato de etila) de folhas de breu (*Protium spruceanum*) contra adultos e larvas de carrapatos (*R. microplus*). A caracterização química foi realizada por meio de GC-EM, identificando a presença dos compostos glicerol, galactopirranose, *D*-glicose, ácido hexadecanóico, isômero inositol, ácido octadecanóico, isômero da catequina e catequina, em ambos os extratos.

As formulações comerciais à base de produtos naturais, como alternativa aos produtos sintéticos, são realidade em alguns países. Na Suécia, o MyggA[®] Natural, usado como repelente contra artrópodes hematófagos, contém como substância ativa principal o *p*-mentano-3,8-diol (PMD) do eucalipto citriodora (*Corymbia citriodora*) e terpenos de óleos essenciais de quatro espécies vegetais diferentes. Nos Estados Unidos, o BioUD[®] é um biopesticida formulado com undecan-2-ona extraído do tomate selvagem (*Lycopersicon hirsutum subsp. glabratum* CH Mull) e o TT-4302, repelente contra mosquitos, com formulação à base de plantas e contendo geraniol. No Reino Unido, o Citriodiol[®], utilizado como repelente contra insetos, é formulado a partir do OE do *Eucalyptus citriodora* contendo PMD (ADENUBI *et al.*, 2018).

Entretanto, é fundamental a padronização das matérias-primas que apresentam os compostos bioativos para assegurar a atividade biológica das formulações comerciais à base de produtos naturais. A idade e o estágio do ciclo vegetativo, o horário da colheita da planta, o tipo

de clima e a composição do solo, bem como o método de extração representam alguns fatores que podem influenciar na composição química dos produtos naturais (BUROW; HALKIER, 2017; MAIA; DONATO; FRAGA, 2015). A padronização dos constituintes químicos pode ser realizada com o auxílio de métodos analíticos que possibilitam a análise qualitativa e/ou quantitativa de extratos, resinas e óleos vegetais.

Os *fingerprints* químicos para a caracterização de produtos naturais podem ser obtidos a partir da cromatografia de camada delgada comparativa (CCDC); CG-EM; CLAE acoplada aos detectores arranjo de diodo (CLAE-DAD), CLAE-EM e Ressonância Magnética Nuclear (RMN) (GHOLKAR *et al.*, 2021; RIBEIRO; BONILA; LUCENA, 2018; SOUSA *et al.*, 2007). Nessa perspectiva, serão abordados diferentes métodos analíticos que podem ser úteis para obtenção de *fingerprints* dos constituintes químicos presentes em produtos naturais.

2 PRODUTOS NATURAIS

Os produtos naturais são substâncias produzidas por um ser vivo, e que apresentam atividade biológica ou farmacológica, podendo ser utilizado para o desenvolvimento de produtos veterinários (VIEGAS JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006). Esses produtos podem ser obtidos de plantas, na forma de extratos, resinas e óleos vegetais, que contêm as substâncias responsáveis pela ação terapêutica (ANVISA, 2014).

2.1 EXTRATOS

Os extratos vegetais são preparações concentradas (consistência sólida, líquida ou semissólida) que podem ser obtidas a partir de matérias-primas vegetais secas, que passaram por um método de extração, normalmente utilizando solvente. Os extratos de consistência sólida são denominados extratos secos e são obtidos pela evaporação do solvente utilizado no processo de extração. Os extratos líquidos ou fluidos são definidos como a preparação líquida obtida por extração com líquido devidamente escolhido. Enquanto os extratos semissólidos são chamados de extrato mole. A preparação semissólida é obtida por evaporação parcial do solvente, utilizando unicamente etanol, água ou mistura de ambos (ANVISA, 2019).

Soares *et al.* (2021) avaliaram a atividade bactericida do extrato etanólico da artemísia chinesa (*Artemisia annua*) e da artemisinina contra bactérias (*Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae* e *Flavobacterium columnare*) que afetam diretamente a piscicultura.

Os constituintes químicos majoritários, identificados por CG-EM, presentes nas diferentes frações obtidas a partir do extrato, se encontram representados na Figura 1.

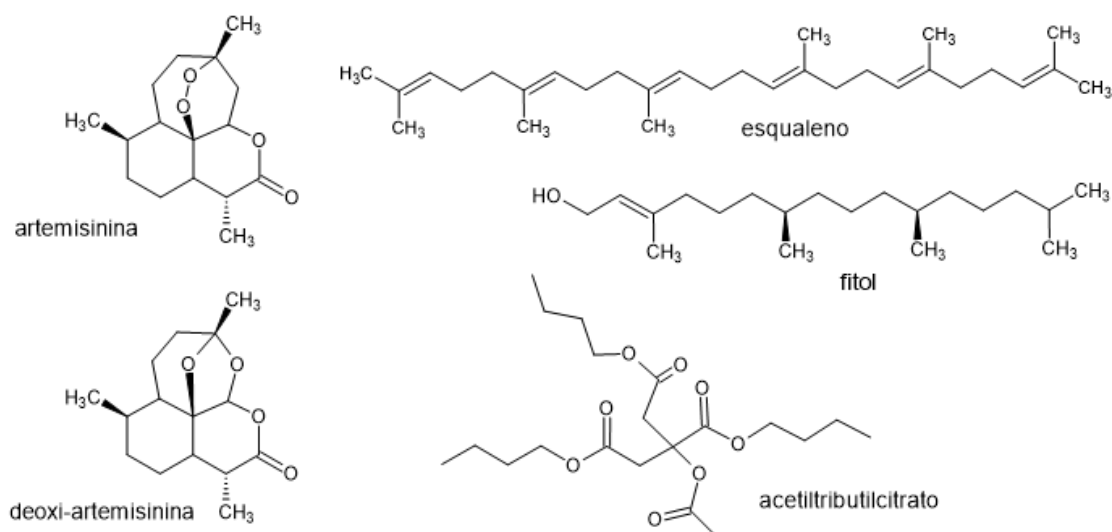


Figura 1 – Fórmulas estruturais de alguns componentes químicos encontrados no extrato de *Artemisia annua*.

Fonte: Os autores.

2.2 RESINAS

As resinas naturais podem ser constituídas por materiais sólidos ou semissólidos. Elas representam uma mistura complexa de terpenos e, de forma geral, apresentam-se solúveis em solventes de caráter apolar e insolúvel em solventes polares. As resinas são mais comumente encontradas nas famílias Leguminosae, Burseraceae e Pinaceae (COPPEN, 1995).

A própolis é uma substância resinosa, utilizada para revestir e selar fendas nas colmeias das abelhas (*Apis mellifera*). Esta resina apresenta atividades antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, cicatrizante, anestésica, antiviral e fitotóxica (SALGUEIRO, 2016; TORETI *et al.*, 2013). Os constituintes químicos presentes na própolis (Figura 2) pertencem a diversas classes de metabólitos, entre elas, flavonóides, fenilpropanóides, ligninas e curaminas (HUANG *et al.*, 2014).

As oleorresinas são extratos semissólidos formados por uma resina e um óleo volátil e/ou óleo fixo (ANVISA, 2019). Ziech *et al.* (2013) investigaram a atividade bactericida da oleorresina do óleo de copaíba (*Copaifera reticulata* Ducke) em isolados de *Staphylococcus coagulase* provenientes de casos de otite externa em cães e comprovaram a atividade desta oleorresina até mesmo no controle de cepas resistentes da bactéria.

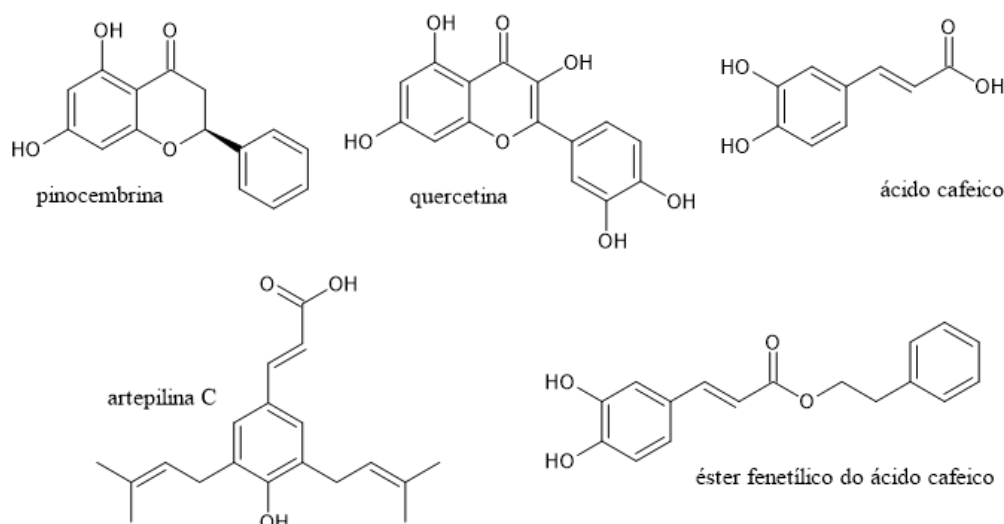


Figura 2 – Fórmulas estruturais de alguns componentes químicos presentes na própolis.
Fonte: Os autores.

2.3 ÓLEOS VEGETAIS

Os óleos de origem natural diferenciam-se em óleos fixos e óleos essenciais (OEs). Os óleos fixos são líquidos à temperatura ambiente e apresentam baixa volatilidade. Estes são constituídos por triacilgliceróis, esterificados de ácidos graxos saturados e/ou insaturados (ANVISA, 2019). Os triacilgliceróis são formados a partir da reação do glicerol com ácidos graxos de acordo com a Figura 3a, na qual estes ácidos graxos podem ser iguais ($R_1 = R_2 = R_3$) ou diferentes (NELSON; COX, 2014). Dentre os ácidos graxos, que originam os grupos acil, mais comumente encontrados nos óleos fixos destacam-se o palmítico (ácido hexadecanoico, $C_{16}H_{32}O_2$), oleico (ácido cis-9-octadecenoico, $C_{18}H_{34}O_2$), linoleico (ácido cis-cis-9,12-octadecadienoico, $C_{18}H_{32}O_2$) e esteárico (ácido octadecanoico, $C_{18}H_{36}O_2$) (HIDALGO, 2012; MOURA *et al.*, 2019). Devido à diversidade estrutural, os óleos fixos podem ser utilizados para diversos fins industriais, entre eles, a fabricação de sabão, detergentes, revestimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos (GUEDES, 2018).

Os OEs ou óleos voláteis são misturas complexas de substâncias orgânicas que apresentam baixa massa molecular, alta volatilidade e forte odor (ANVISA, 2019; BAKKALI *et al.*, 2008). Na Figura 3b podem ser encontradas as fórmulas estruturais de alguns dos constituintes químicos encontrados nos OEs. Normalmente, estes se apresentam como uma mistura contendo, em média, cerca de 20 a 60 substâncias pertencentes a diferentes funções químicas, entre elas, hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres e óxidos (OLIVEIRA, 2013). Os OEs podem ser extraídos a partir de diversas partes da planta, entre elas, folhas, cascas, caules, raízes, flores e frutas (CALO *et al.*, 2015). Na literatura são relatadas

várias atividades biológicas para essa classe de produtos naturais, entre outras, bactericida, antiviral, fungicida, acaricida e moluscicida (BAKKALI *et al.*, 2008; COSTA *et al.*, 2015). Queiroz *et al.* (2020) relataram que o 1,8-cineol (Figura 3a) associado ao óleo mamona (óleo fixo) que foi capaz de controlar a reprodução de fêmeas ingurgitadas de carrapato bovino (*Rhipicephalus microplus*).

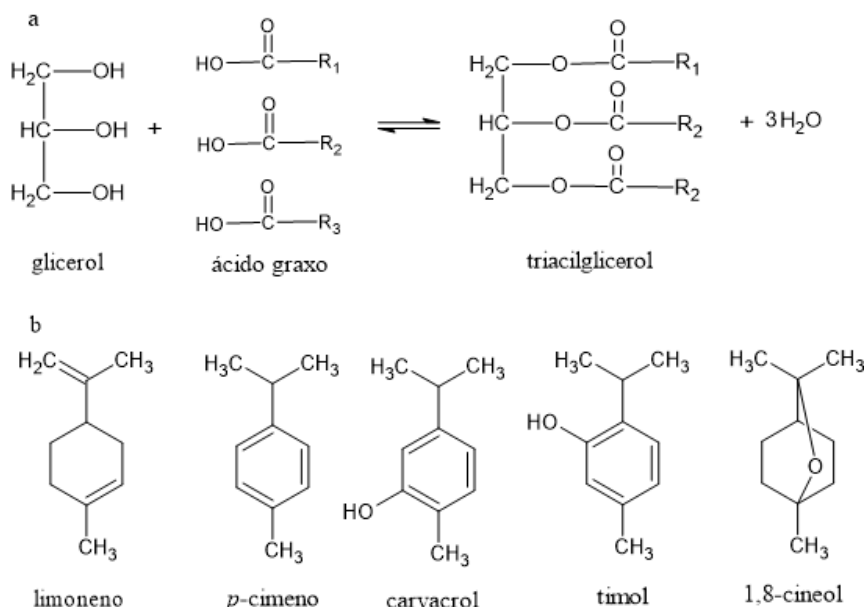


Figura 3 – (a) Reação de formação dos triacilgliceróis; (b) Estrutura química de alguns constituintes químicos encontrados em óleos essenciais.

Fonte: Os autores.

Alguns fatores podem afetar o rendimento e o teor dos constituintes químicos presentes nos OEs, entre eles, o clima, o tipo de solo, a altitude, a luminosidade, o estágio de desenvolvimento da planta, a hora de coleta, a forma de plantio, adubação, uso de agrotóxicos, irrigação, o tipo de material (fresco ou seco) utilizado, o método de extração e o tipo de solvente (FERRAZ *et al.*, 2018; SCHINDLER; SILVA; HEINZMANN, 2018; SEFIDKON *et al.* 2007). Deste modo, torna-se importante realizar a padronização destes fatores para assegurar a qualidade e o controle da matéria-prima contendo os compostos bioativos de interesse para o desenvolvimento das formulações comerciais (SOUZA *et al.*, 2006).

2.4 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Considerando que o método de extração e o tipo de solvente a ser utilizado podem influenciar no rendimento e no teor dos compostos químicos obtidos a partir dos produtos naturais, é fundamental a definição destes fatores antes do início do procedimento de obtenção

dos compostos bioativos. A extração por solvente e a hidrodestilação normalmente são métodos de extração utilizados em trabalhos envolvendo extratos, resinas e óleos vegetais (ANVISA, 2019; SEFIDKON *et al.*, 2007).

2.4.1 Método de Soxhlet

A extração de óleo fixo, resina e extratos vegetais pode ser realizada pelo método de Soxhlet ou extração contínua sólido-líquido. Neste método a amostra está sempre em contato com o solvente, maximizando a extração. Porém, existem algumas desvantagens, dentre elas, longo tempo de extração, decomposição térmica de alguns compostos, perda de compostos voláteis e utilização de solventes de alto custo em muitos casos. (BRUM; ARRUDA; REGITANO-D'ARCE, 2009; GUEDES, 2018; HERBST, 2021).

Na Figura 4 encontram-se ilustradas as etapas realizadas em laboratório para a obtenção de óleo fixo e extratos utilizando a extração com solvente em aparelho Soxhlet. Inicialmente a amostra e o balão são pesados (1), a amostra é transferida para um cartucho e colocada no aparelho de Soxhlet (2). O solvente extrator é adicionado no balão (3). Em seguida, é realizada a montagem do aparelho conferindo as vedações dos adaptadores e o processo de aquecimento é iniciado.

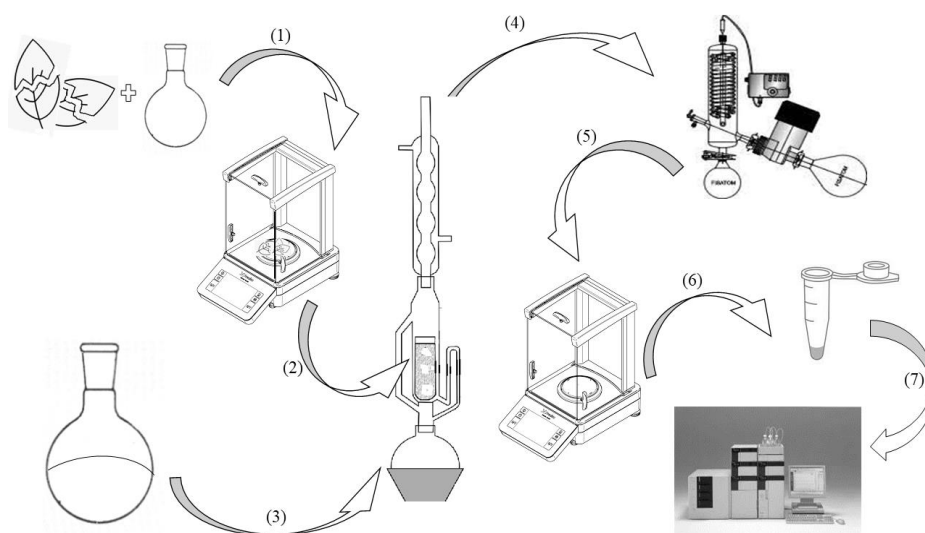


Figura 4 – Principais etapas da extração de óleos fixos e preparo de extratos utilizando aparelho Soxhlet.

Fonte: Os autores.

Após o término do aquecimento o balão é transferido para o evaporador rotatório para que a evaporação do solvente seja realizada (4). Após todo o solvente ser evaporado, o balão é pesado para se verificar o teor de óleo/extrato obtido (5). A amostra obtida é transferida para

recipiente apropriado (6) e acondicionada até o momento da caracterização química (7) (ANVISA, 2019). Pesquisas científicas relatam a utilização deste método para extração de óleo fixo como, óleos de babaçu e pinhão-manso (MOURA *et al.*, 2019), óleo de *Sus scrofa domesticus* (DIAS *et al.*, 2019), óleo obtido das sementes de *Moringa oleifera* (GUEDES, 2018), extrato de bagaço de malte (HERBST, 2021) e resinas de gengibre (ZANDONÁ FILHO; MURTA, 1999).

2.4.2 Método de hidrodestilação

A hidrodestilação e a destilação por arraste de vapor são métodos que podem ser utilizados para a obtenção de óleos essenciais (OEs). Entretanto, é importante enfatizar a diferença existente entre os mesmos. Na hidrodestilação o material vegetal é imerso em água no interior de um balão. O balão é aquecido e a água e os componentes presentes no OE são, então, condensados e separados utilizando um aparelho Clevenger. Por outro lado, na destilação por arraste de vapor, o vapor de água passa pelo material vegetal, ou seja, este não fica imerso em água. O vapor faz com que os OEs presentes no material vegetal sejam liberados e, em seguida, ocorre a condensação e o OE é separado (SEFIDKON *et al.*, 2007).

A extração do OE pelo método de hidrodestilação possui algumas vantagens como, baixo custo e fácil manuseio. Por outro lado, é necessário um longo tempo de extração (2-3 horas) e dependendo da natureza do material vegetal pode ocorrer perda de compostos voláteis bem como a decomposição de alguns constituintes químicos termossensíveis (CAMELO, 2014).

Na Figura 5, encontram-se ilustradas as etapas envolvidas no processo de extração de OEs por hidrodestilação. Inicialmente a amostra é pesada (1) e transferida para um balão contendo água destilada (2). O balão é acoplado a um sistema Clevenger e transferido para uma manta aquecedora que irá assegurar o processo de aquecimento até ebulição da água (3). Após realizado o processo de hidrodestilação, o hidrolato (OE e água) é recolhido, o OE é separado e armazenado sob condições apropriadas (4) até que a caracterização química (5) seja realizada (ANVISA, 2019).

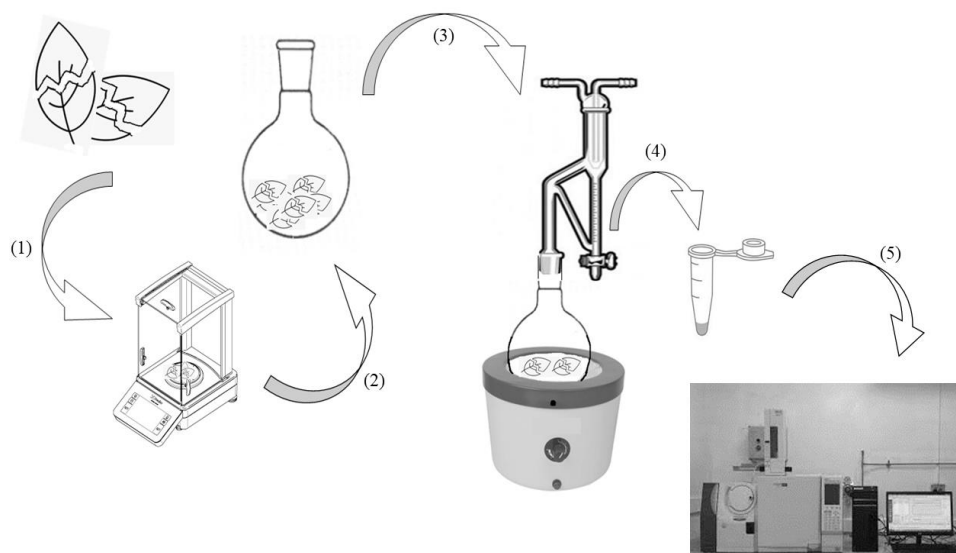


Figura 5 – Principais etapas da extração de óleos essenciais por hidrodestilação.

Fonte: Os autores.

Trabalhos na literatura relatam a utilização e eficiência deste método de extração para OEs de diferentes espécies vegetais, entre elas, *Cymbopogon winterianus* (COSTA *et al.*, 2015), *Piper gaudichaudianum* (SCHINDLER, SILVA, HEINZMANN, 2018), *Nectandia megapotamica*, *Nectandia grandiflora* e *Nectandia lanceolata* (FERRAZ *et al.*, 2018).

3 PADRONIZAÇÃO DE EXTRATOS, RESINAS E ÓLEOS VEGETAIS

Conforme mencionado anteriormente, durante os processos extrativos é necessário monitorar os compostos bioativos de interesse para o desenvolvimento das formulações comerciais. Uma vez que, a avaliação qualitativa e quantitativa dos biomarcadores que compõem os produtos naturais é de interesse na indústria farmacêutica (SOUSA *et al.*, 2007). Atualmente, o mercado tem demonstrado grande interesse na padronização de extratos vegetais. As características químicas desses extratos com possível potencial biológico fazem com que eles possam ser utilizados como terapias para tratar várias doenças. Assim, a padronização é o primeiro passo para que produtos derivados de plantas venham a ser aceitos como recursos terapêuticos, garantindo sua qualidade, segurança e eficácia (SANTOS *et al.*, 2021). Portanto, o desenvolvimento de métodos de extração unidos a análises desses extratos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cromatografia gasosa (CG) têm sido empregadas para estabelecer os parâmetros de qualidade necessários aos produtos de origem vegetal. Essas ferramentas proporcionam vantagens pois, através dos métodos analíticos são atingidos os

níveis de credibilidade que justifiquem os investimentos financeiros no desenvolvimento de produtos além de evitar possíveis adulterações.

3.1 ABORDAGENS ANALÍTICAS

Abordagens analíticas podem ser utilizadas para a caracterização e determinação da qualidade de extratos, resinas e óleos vegetais, técnicas analíticas como CLAE-DAD têm sido amplamente utilizadas para o controle de qualidade, devido às suas vantagens como versatilidade, eficiência e rapidez (GALEOTTI *et al.*, 2019; SOUSA *et al.*, 2007). Diversas agências reguladoras internacionais, como a Organização Mundial da Saúde (OMS) e a *Food and Drug Administration* (FDA) têm aceitado as análises dos principais compostos de plantas medicinais por métodos analíticos como CLAE-DAD, CLAE-EM, CG-EM e cromatografia de camada delgada comparativa (CCDC) para avaliação do controle de qualidade (RIBEIRO; BONILA; LUCENA, 2018; SOUSA *et al.*, 2007).

3.1.1 Cromatografia de camada delgada comparativa (CCDC)

A CCDC é a primeira escolha e o método mais comum e versátil para análise de extratos vegetais antes dos métodos instrumentais de cromatografia líquida (CLAE) e gasosa (CG) serem estabelecidos para quantificação dos biomarcadores. A CCDC ainda é frequentemente usada para a análise de fitoterápicos, uma vez que a técnica se mostra de fácil manipulação por meio de uma avaliação semiquantitativa juntamente com outras técnicas cromatográficas. A identificação nesta técnica pode ser efetuada pela observação de manchas e a obtenção do valor do fator de retenção. Caso este seja idêntico a algum padrão conhecido significa que a amostra desconhecida contém o mesmo. Uma comparação visual do tamanho e intensidade das manchas permite uma estimativa semiquantitativa. Essa estimativa quantitativa será possível na cromatografia de camada delgada comparativa de alta performance (CCD-CAE), versão sofisticada da CCDC. É uma técnica de separação flexível, confiável e econômica. A vantagem da automação, digitalização, otimização completa, princípio de detecção seletiva, preparação mínima da amostra, permitem que ele seja uma ferramenta analítica poderosa para obter informações cromatográficas de misturas complexas de produtos vegetais (ISLAM *et al.*, 2021).

3.1.2 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)

Sabe-se que muitas formulações medicamentosas possuem componentes ativos voláteis. Assim, a análise de voláteis compostos por cromatografia gasosa é muito importante na análise dessas formulações ou óleos vegetais voláteis. A análise por cromatografia gasosa (CG) de óleos voláteis tem uma série de vantagens. Em primeiro lugar, o cromatograma do óleo volátil fornece uma impressão digital (*fingerprint*) que pode ser usado para identificar a origem da amostra. A composição e a concentração relativa dos compostos presentes no óleo volátil são características de uma determinada planta em particular. Sendo assim, a presença de impurezas no óleo volátil é facilmente detectada. Em segundo lugar, a obtenção do óleo volátil é simples e seus componentes podem ser facilmente identificados e padronizados usando um espectrômetro de massas (EM) como detector. Os componentes quantificados podem ser usados para monitorar certas características do óleo vegetal volátil. Mudanças na sua composição podem ser usadas para indicar alterações das mais variadas desde oxidação, adulterações e fermentação microbiana. As vantagens do CG-EM estão claramente em sua alta sensibilidade de detecção e na possibilidade de identificação dos compostos por comparação da fragmentação do espectro de massas obtido. Além disso, a seletividade de colunas capilares permite a separação de muitos compostos voláteis, simultaneamente, em intervalos relativamente curtos. Essas características tornam o CG-EM uma ferramenta analítica útil no campo de pesquisa de produtos oriundos de plantas. Entretanto, a mais séria desvantagem do CG é na análise das amostras polares e compostos não voláteis. Para análises dessas matrizes é necessário usar derivatização, o que torna o processo de análise por CG-EM tedioso e demorado. Assim, a cromatografia líquida (CLAE) torna-se outra ferramenta necessária para se obter uma análise mais abrangente (SILVA *et al.*, 2020).

Os constituintes químicos presentes nos OEs podem apresentar variabilidade em função da sazonalidade, diferenciando-os em determinados períodos do ano e, assim, afetando sua bioatividade (SAMPAIO; EDRADA-EBEL; COSTA, 2016). Lima *et al.* (2018) realizaram a coleta, a extração e a caracterização química do OE de alfavaca (*Ocimum gratissimum*) por CG-EM em diferentes épocas do ano. Os autores relataram variações nos constituintes químicos presentes no OE para os diferentes meses de coleta. Estes também observaram que houve alteração no efeito carrapaticida das amostras de OE testadas contra *Rhipicephalus microplus* em função da composição química do OE, enfatizando a importância da padronização dos compostos bioativos para o desenvolvimento de formulações comerciais eficazes.

3.1.3 Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada aos detectores arranjo de diodo e espectrometria de massas (CLAE-DAD e CLAE-EM)

Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é um método muito popular para a análise de produtos de origem vegetal como resinas e extratos porque, além de fácil manuseio, não é limitado pela volatilidade ou estabilidade da amostra. De forma geral a CLAE pode ser usada para analisar quase todos os compostos presentes em plantas. E nas últimas décadas, são inúmeros os trabalhos que usa a CLAE para análise e padronização de amostras vegetais (SANTOS *et al.*, 2021). As colunas de fase reversa (RP) usadas na CLAE são as colunas mais utilizadas na separação analítica de compostos em matriz vegetal. Melhores condições de separação em CLAE envolvem fatores como diferentes composições da fase móvel, ajuste de pH, pressão da bomba e fase estacionária. Assim, é necessário um projeto experimental otimizado para separação ajustada da amostra vegetal (JUMDE; MANKAR, 2022).

A principal vantagem da CLAE reside em sua versatilidade para a análise de produtos naturais em várias matrizes de plantas por meio do detector de arranjo de diodos (DAD). Com informações espectrais do UV obtido pelo DAD, a análise qualitativa e quantitativa de amostras complexas de plantas acaba sendo rápida, fácil e de baixo custo (CARNEIRO *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2021). Por exemplo, por meio da CLAE-DAD é possível verificar a pureza do pico comparando com o espectro de UV e o tempo de retenção do padrão disponível do composto conhecido com o presente na amostra investigada. Além disso a CLAE-DAD é muito usada na padronização de extratos, resinas e óleos vegetais através da validação do método analítico utilizado (SOUZA *et al.*, 2013).

No entanto, o detector DAD é incapaz de detectar compostos sem grupos cromóforos, assim a análise em amostras de óleos vegetais, que geralmente contém terpenos em sua composição que não possuem tais grupos ficam prejudicadas. Amostras com estas características podem ser analisadas com a introdução da espectrometria de massa com ionização por eletrospray (CLAE-EM), o acoplamento de cromatografia líquida e espectrometria de massa abriu um amplo caminho para a aplicação da CLAE de forma rotineira na análise de produtos de origem vegetal. As impressões digitais cromatográficas da CLAE podem então ser aplicadas para obtenção de *fingerprint* de extratos de plantas com informações, inclusive estruturais, e análises qualitativas *online* tornam-se possíveis (SILVA *et al.*, 2017). Além disso, a técnica CLAE-DAD-EM possibilita reunir a cromatografia como método de separação e ambos os detectores DAD e EM como método de identificação. DAD e EM podem

fornecer informações a partir UV e EM para cada pico individual em um cromatograma, tornando-se uma abordagem poderosa para a rápida identificação de constituintes fitoquímicos em extratos, óleos e resinas vegetais (SHEN; HE; SHI, 2021).

3.1.4 Ressonância magnética nuclear (RMN)

A técnica de Ressonância Magnética Nuclear de alta resolução (RMN) pode fornecer informações estruturais de forma mais exata do que outras técnicas que fornecem um *fingerprint* dos extratos vegetais, como CLAE-UV, CG-EM e CLAE-EM. Desse modo, a RMN é uma das ferramentas amplamente utilizadas para obtenção de perfis químicos e metabolômica de plantas, devido também a sua natureza não destrutiva, recuperação de amostra e quantificação relativa possível sem o uso de padrão interno. Espectros de RMN de maior qualidade e reprodutíveis podem ser obtidos de acordo com as seguintes diretrizes: Os extratos devem ser devidamente preparados antes da análise; os tubos de RMN devem ser devidamente limpos; os solventes devem ser armazenados e manuseados com cuidado para evitar contaminação a presença de partículas paramagnéticas. RMN de ^1H é o método mais indicado para se obter o *fingerprint* de extratos vegetais, porque é rápido e simples (GHOLKAR *et al.*, 2021).

A técnica tem sido usada como uma importante ferramenta analítica para muitas aplicações na metabolômica de plantas como: controle de qualidade, identificação dos metabólitos no extrato, quimiotaxonomia e quantificação dos principais metabólitos. Como a RMN tem menor sensibilidade do que a espectrometria de massas, se faz necessário em alguns casos um equipamento de alto campo, mas no controle de qualidade de plantas medicinais e afins esse requisito pode ser ignorado. Pois o *fingerprint* obtido a partir do espectro de RMN de ^1H será diferente entre amostras normais e adulteradas. Até o momento, foram relatadas inúmeras aplicações de metabolômica baseada em RMN. Cerca de 150 metabólitos podem ser identificados quando se utiliza a RMN para fins metabolômico, muitos desses compostos sendo inéditos, o que permite observar o perfil metabólico das plantas sob diferentes condições (GHOLKAR *et al.*, 2021).

O vetiver (*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty), Poaceae, é uma planta aromática medicinal de alto valor econômico. O OE de vetiver apresenta-se como uma composição complexa, com mais de 300 substâncias. O valor de acidez do OE de vetiver é diretamente proporcional à concentração de ácidos graxos e ácido zizanóico e, inversamente, ao teor do

khusimol, um dos principais compostos majoritários do OE (GAVIRA *et al.*, 2022; LAL *et al.*, 2022).

Silva (2016) realizou o estudo do perfil químico do OE extraído de raízes frescas de vetiver por RMN de ^{13}C (Figura 6), confirmando o khusimol como constituinte majoritário. Entretanto, na amostra em questão não foi detectada a presença do ácido zizanóico, tornando-a inadequada para aplicações na perfumaria. Por outro lado, a caracterização do perfil químico da amostra pode ser útil para destacar o potencial da mesma para outras finalidades, entre elas, atividade carrapaticida. Os autores detectaram amostras contendo diferentes teores de ácido zizanóico e khusimol (alta e baixa acidez). Em seguida, avaliaram o efeito das amostras de OE sobre duas espécies de carrapato *Amblyomma cajennense* e *Rhipicephalus microplus*. As amostras de OE (alta e baixa acidez) apresentaram efeito semelhante, reduziram a produção de ovos pelas fêmeas do carrapato, a eclosão dos ovos e a sobrevivência das larvas, com consequente redução na eficiência reprodutiva do carrapato. Os autores concluíram que os OEs de vetiver são candidatos promissores a agentes acaricidas e representam também valor agregado ao óleo de vetiver com alta acidez, que é pouco valorizado comercialmente na indústria cosmética.

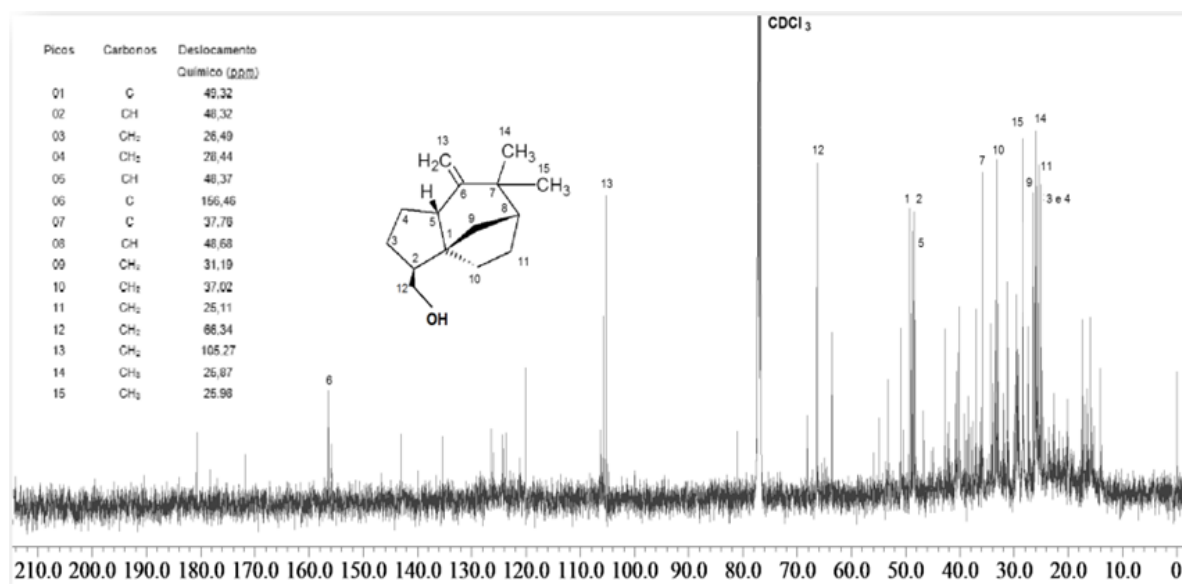


Figura 6 - Espectro de RMN de ^{13}C da amostra de óleo essencial extraído de raízes frescas de vetiver, com a identificação do álcool khusimol.

Fonte: Silva (2016).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os produtos naturais apresentam propriedades biológicas diversificadas com potencial para controlar inúmeros patógenos que afetam constantemente a pecuária. O uso de produtos naturais para o controle de doenças parasitárias tem crescido nos últimos anos. Entretanto, a utilização dos produtos naturais para o desenvolvimento de formulações comerciais visando o controle de pragas e doenças ainda representa um desafio visto que vários fatores podem afetar a concentração dos compostos bioativos presentes em extratos, resinas e óleos vegetais.

A utilização de *fingerprints* é uma forma de se obter o perfil químico em estudos realizados com produtos naturais e, assim, caracterizar estes produtos. As técnicas analíticas apresentadas neste estudo (CCDC, CG-EM, CLAE-DAD, CLAE-EM e RMN) têm demonstrado grande potencial para a produção de *fingerprints* em produtos naturais. Por meio destas técnicas, os compostos bioativos presentes nos extratos, resinas e óleos vegetais que apresentam aplicações no controle de patógenos que causam prejuízos à pecuária podem ser identificados e quantificados possibilitando a padronização das matérias-primas e o desenvolvimento de formulações comerciais.

5 REFERÊNCIAS

- ADENUBI, O. T. *et al.* Pesticidal plants as a possible alternative to synthetic acaricides in tick control: a systematic review and meta-analysis. **Industrial Crops and Products**, v. 123, n. 13. p. 779-806, 2018.
- ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). Farmacopéia Brasileira. 6. ed. Brasília: Fiocruz, 2019. 903p.
- ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). **Resolução da diretoria colegiada- RDC nº 26, de 13 de maio de 2014**. 2014. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf> Acesso em: 29 jun. 2022.
- BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils - a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.
- BIESKI, I. G. C. *et al.* Potencial econômico e terapêutico dos óleos essenciais mais utilizados no Brasil. **Revista Fitos**, v. 15, supl 1, p. 125–137, 2022.
- BRUM, A. A. S.; ARRUDA, L. F. de.; REGITANO-D´ARCE, M. A. B. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 849-854, 2009.

BUROW, M.; HALKIER, B. A. How does a plant orchestrate defense in time and space? Using glucosinolates in *Arabidopsis* as case study. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 38, p. 142-147, 2017.

CALO, J. R. *et al.* Essential oils as antimicrobials in food systems - a review. **Food Control**, v. 54, p. 111–119, 2015.

CAMELO, A. L. M. **Uso da mefs e hidrodestilação no estudo dos compostos orgânicos voláteis da espécie *Plectranthus grandis*, análise citotóxica e validação de métodos por CG-EM.** 2014. 107 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

CARNEIRO, L. J. *et al.* Development and validation of a rapid and reliable RP-HPLC-PDA method for the quantification of six diterpenes in *Copaifera duckei*, *Copaifera reticulata* and *Copaifera multijuga* oleoresins. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 4 p. 729-737, 2018.

COPPEN, J. J. W. **Non-wood forest products 6:** gums, resins and latexes of plant origin. 6. ed., Roma: Food and agriculture organization of the United Nations, 1995. 152p.

COSTA, A. V. *et al.* Efeito moluscicida do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) sobre *Lymnaea columella* (Say, 1817) e *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny, 1835). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 4, p. 707–712, 2015.

DIAS, D. Q. *et al.* GC–MS analysis of the fixed oil from *Sus scrofa domesticus* Linnaeus (1758) and antimicrobial activity against bacteria with veterinary interest. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 219, n. 2, p. 23–27, 2019.

FANTATTO, R. R. *et al.* Acaricidal and anthelmintic action of ethanolic extract and essential oil of *Achyrocline satureioides*. **Experimental Parasitology**, v. 236-237, n. 1, p. 1-8, 2022.

FERRAZ, E. O. *et al.* Seasonality effects on chemical composition, antibacterial activity and essential oil yield of three species of *Nectandra*. **PLoS ONE**, v. 13, n. 9, p. 1–13, 2018.

FIGUEIREDO, J. C. G. *et al.* Effects of leaf extracts of *Protium spruceanum* against adult and larval *Rhipicephalus microplus*. **Experimental and Applied Acarology**, v. 79, p. 447-458, 2019.

GALEOTTI, F. *et al.* Recent advances in analytical approaches for the standardization and quality of polyphenols of propolis. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 13, n. 19, p. 487-500, 2019.

GAVIRA, C. *et al.* Evaluation of vetiver volatile compound production under aeroponic-grown conditions for the perfume industry. **Molecules**, v. 27, n. 6, p. 1-14, 2022.

GHOLKAR, M. S. *et al.* ¹H nuclear magnetic resonance-based metabolite profiling of guava leaf extract: an attempt to develop a prototype for standardization of plant extracts. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 21, n. 1, p. 1-20, 2021.

GUEDES, C. C. S. **Atividades biológicas do óleo fixo e fração proteica de sementes de *Moringa oleifera***. 2018. 72 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

HERBST, G. **Obtenção e caracterização de extratos de bagaço de malte via extração por líquidos pressurizados**. 2021. 98 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2021.

HIDALGO, P. S. P. **Caracterização molecular de óleos fixos de alguns frutos da região Amazônica**. 2012. 128 f. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2012.

HUANG, S. *et al.* Recent advances in the chemical composition of propolis. **Molecules**, v. 19, n. 12, p. 19610-19632, 2014.

ISLAM, M. K. *et al.* Development of an HPTLC-based dynamic reference standard for the analysis of complex natural products using Jarrah honey as test sample. **PLOS ONE**, v. 16, n. 7, p. 1-14, 2021.

JUMDE, H. S.; MANKAR, S. D. Review on development of analytical method and validation by reverse phase–high performance liquid chromatography. **Asian Journal of Pharmacy and Technology**, v. 12, n. 2, p. 179-182, 2022.

LAL, R. K. *et al.* Genetic variability and stability pattern in vetiver (*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty). **Acta Ecologica Sinica**, v. 42, n. 3, p. 233-242, 2022.

LIMA, A. S. *et al.* Seasonal analysis and acaricidal activity of the thymol-type essential oil of *Ocimum gratissimum* and its major constituents against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 117, n. 1, p. 59-65, 2018.

MAIA, T. F.; DONATO, A. de; FRAGA, M. E. Antifungal activity of essential oils of plants. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 17, n. 1, p. 105-116, 2015.

MOURA, C. V. R. *et al.* Physicochemical characterization of oleaginous vegetable oils adaptable to the brazilian northeast with potential for biodiesel production. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 3, p. 573–595, 2019.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed., Porto Alegre: Artmed, 2014. 1250p.

OEC (OBSERVATORY OF ECONOMIC COMPLEXITY). **Essential oil; Lac; gums, resins and other vegetable saps and extracts**. 2020. Disponível em: <<https://oec.world/en>> Acesso em: 27 jun. 2022.

OLIVEIRA, M. L. M. de. **Modulação da resposta imune-inflamatória e cicatricial em modelos experimentais promovida pelo óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham., rico em timol, e pelo óleo fixo de *Cucurbita pepo* L. rico em ácidos graxos insaturados ω -6 e ω -**

9.2013.143 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2013.

QUEIROZ, V. T. de. *et al.* 1,8-cineole and castor oil in sodium lauryl ether sulphate disrupt reproduction and ovarian tissue of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 34, n. 3, p. 316-326, 2020.

RIBEIRO, S. M.; BONILA, O. H.; LUCENA, E. M. P. Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de *Croton* spp. da Caatinga. **Iheringia**, v. 73, n. 1, p. 31-38, 2018.

SALGUEIRO, F. B. **Caracterização da própolis verde brasileira: substâncias fenólicas, atividade biológica e análise quimiométrica**. 2016. 172 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2016.

SAMPAIO, B. L.; EDRADA-EBEL, R.; COSTA, F. B. da. Effect of the environment on the secondary metabolic profile of *Tithonia diversifolia*: a model for environmental metabolomics of plants. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1-11, 2016.

SANTOS, M. F. C. *et al.* Isolation of diterpenes from *Araucaria* sp. brazilian brown propolis and development of a validated high-performance liquid chromatography method for its analysis. **Journal of Separation Science**. v. 44, n. 16, p. 3089-3097, 2021.

SCHINDLER, B.; SILVA, D. T. da; HEINZMANN, B. M. Efeito da sazonalidade sobre o rendimento do óleo essencial de *Piper gaudichaudianum* Kunth. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 1, p. 263-273, 2018.

SEFIDKON, F. *et al.* The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad. **Food Chemistry**, v. 100, n. 3, p. 1054-1058, 2007.

SHEN, M.; HE, Y.; SHI, S. Development of chromatographic technologies for the quality control of traditional chinese medicine in the chinese pharmacopoeia. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 11, n. 2, p. 155-162, 2021.

SILVA, J. J. M. da. *et al.* Development of a validated ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method for determination of acid diterpenes in *Copaifera* oleoresins. **Journal of Chromatography A**. v. 1515, n. 36, p. 81-90, 2017.

SILVA, J. J. M. da. *et al.* Reliable methods for analyses of volatile compounds of *Copaifera* oleoresins combining headspace and gas chromatography. **Chemistry & Biodiversity**, v. 17, n. 1, p. 1-15, 2020.

SILVA, S. M. da. **Estudos metabolômicos da espécie *Chrysopogon zizanioides* (L.) roberty (*Capim vetiver*)**. 2016.195 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais) - Centro de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2016.

SOARES, M. P. *et al.* *In vitro* antibacterial activity of ethanol extract of *Artemisia annua* and its bioactive fractions against fish pathogens. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 4, p. 1797–1801, 2021.

SOUSA, J. P. B. de. *et al.* A reliable quantitative method for the analysis of phenolic compounds in brazilian propolis by reverse phase high performance liquid chromatography. **Journal of Separation Science**, v. 30, n. 16, p. 2656-2665, 2007.

SOUZA, A. B. *et al.* Development and validation of a rapid RP-HPLC method for analysis of (-)-copalic acid in copaiba oleoresin. **Biomedical Chromatography**, v. 27, n. 3, p. 280-283, 2013.

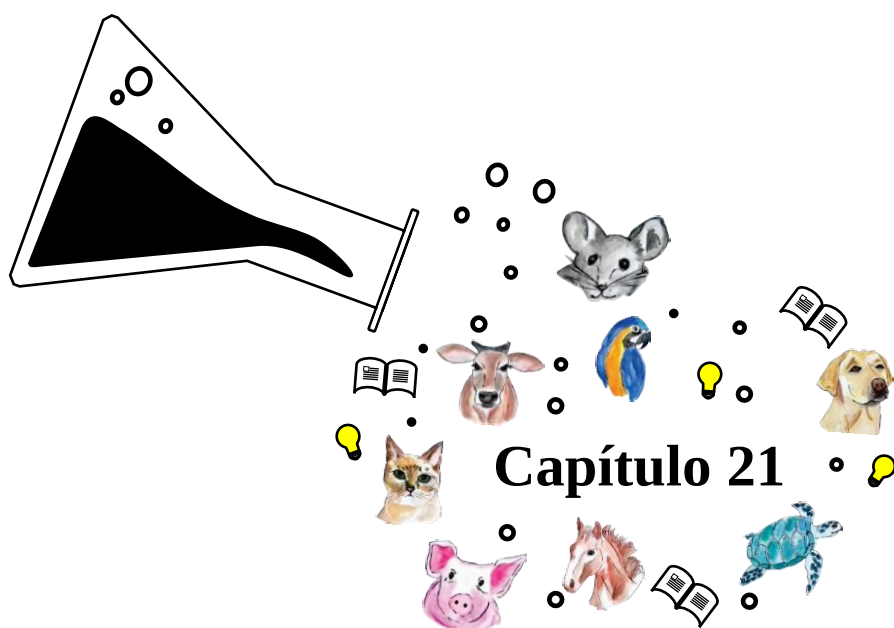
SOUZA, T. M. *et al.* Phytochemical screening of *Achillea millefolium* harvested at Araraquara – SP. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. esp., p. 151–154, 2006.

TORETI, V. C. *et al.* Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, n.1, p. 1-13, 2013.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326–337, 2006.

ZANDONÁ FILHO, A.; MURTA, A. L. Extração do óleo e resinas de gengibre encontrado no litoral paranaense (*Zingiber officinale* Roscoe). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 17, n. 2, p. 211–228, 1999.

ZIECH, R. E. *et al.* Atividade antimicrobiana do oleorresina de copaíba (*Copaifera rnetculata*) frente a *Staphylococcus coagulase* positiva isolados de casos de otite em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 7, p. 909–913, 2013.



Tratamento com células tronco na medicina veterinária

Thaís Gonçalves Tavares¹
Márcio Phillip Andrade Correia²
Théo Matos Arantes Moraes³
Luisa Demoner Vicentini⁴
Emerson Alex Oliveira Souza⁵
Leonardo Oliveira Trivilin⁶
Jankerle Neves Boeloni⁷

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

² Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: phillipandradec@outlook.com

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

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

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

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

⁷ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: jankerle@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

A célula tronco é definida como uma célula indiferenciada que a partir de um estímulo apresenta capacidade única de se diferenciar em qualquer outro tipo de célula especializada (BORGES; CALVET, 2014). Além disso, outra forma de classificar esse tipo celular é pela sua potencialidade, dividindo-as em totipotentes ou embrionárias, quando originam todos os tipos celulares do tecido embrionário e extraembrionário; pluripotentes, quando originam os tecidos do embrião; multipotentes, quando geram tipos celulares específicos; oligopotentes, que formam células mais restritas; e unipotentes, quando formam apenas um tipo celular maduro (ARBEX; NEVES; GANTUS, 2019).

Ademais, quanto às fontes das células tronco, destaca-se as embrionárias (CTE) advindas do embrioblasto do blastocisto (ARBEX; NEVES; GANTUS, 2019), sendo capazes, de acordo com McLaren (2001), de se expandir de forma indefinida quando cultivadas *in vitro*, sem que ocorra perda das suas propriedades potenciais de diferenciação, o que segundo Schwindt, Barnabé e Mello (2005), não ocorre com as células tronco adultas, e a maior dificuldade no uso desse tipo celular é inibir sua indiferenciação. Outrossim, os autores esclarecem que as células adultas estão presentes no organismo em maior quantidade e são multipotentes (SCHWINDT; BARNABÉ; MELLO, 2005).

Destarte, visto a promissora capacidade de renovação, proliferação e diferenciação das células tronco, essas vêm sendo utilizadas na tentativa terapêutica de diversas enfermidades, tanto na medicina humana, quanto na veterinária, sendo que a grande vantagem de sua utilização é o fato de que o mínimo de rejeição ocorre quando a fonte doadora é o próprio indivíduo, ou seja, terapias autólogas (BOBIS; JARROCHA; MAJKA, 2006). No entanto, apesar desses benefícios, os protocolos de isolamento, cultivo e expansão das células são intempéries, uma vez que são complexos, sendo necessário assim, mais estudos sobre a forma de atuação desse tipo celular (ALVES *et al.*, 2017).

Portanto, objetivou-se com esse capítulo abordar o uso atual das células tronco na terapêutica veterinária de diversas enfermidades como neurológicas, dermatológicas, cardiovasculares, osteoarticulares e neoplásicas, bem como as perspectivas futuras quanto sua utilização nessas e demais afecções.

2 CÉLULAS TRONCO NA TERAPÊUTICA VETERINÁRIA DE DOENÇAS

2.1 DOENÇAS E LESÕES NEUROMUSCULARES

O tratamento com células tronco mesenquimais (CTM) vem sendo utilizado em diversas doenças neuromusculares nas diferentes espécies animais. As principais enfermidades tratadas são: sequelas de cinomose, lesão medular, paraplegia, doença aguda do disco toracolombar e doença do disco intervertebral (BESALTI *et al.*, 2016).

A cinomose é uma doença que inclui pesquisas a respeito da utilização de terapia celular com CTM no tratamento das sequelas neurológicas ocasionadas no paciente, podendo ser essas lesões degenerativas e/ou inflamatórias, como paralisia, paraplegia, tetraplegia, perda da cognição, alterações de equilíbrio e locomoção, mioclonias e convulsões (MACHADO, 2019). Segundo o estudo de Brito (2015), é considerado ineficaz o tratamento com injeção de células mononucleares de medula óssea alogênicas durante a fase virêmica da doença. Entretanto, essa mesma terapêutica demonstrou ser uma alternativa viável e segura no tratamento de sequelas neurológicas de cinomose, acarretando em alívio dos sintomas e melhor qualidade de vida (BRITO, 2015).

Pesquisa realizada por Marques (2016) utilizando terapia celular com CTM advindas do tecido adiposo via intravenosa em sete cães que apresentavam sequelas neurológicas decorrentes da cinomose, observou que três animais apresentaram recuperação total e quatro animais recuperação parcial, no entanto, percebeu-se que a terapia possuía baixa eficácia no tratamento dos animais que apresentaram como consequência da cinomose ataxia cerebelar, ataxia vestibular e mioclonias. Contudo, o estudo realizado por Baldotto (2019), verificou a eficácia no tratamento com CTM derivadas do tecido adiposo pela via intratecal em dez cães que apresentavam como sequela da cinomose, encefalomielite. A técnica se mostrou eficaz, uma vez que sete dos animais apresentaram melhora considerável dos sinais neurológicos em relação a coordenação, postura e crises epiléticas. Visto isso, pode-se perceber que a resposta da terapia celular nas sequelas de cinomose pode ser influenciada pelo tipo de célula, pela fase da doença e pela via de administração utilizada, sendo essas variáveis o desafio no sucesso da técnica (BALDOTTO, 2019; MARQUES, 2016).

Inúmeros estudos são conduzidos comparando o uso da terapêutica farmacológica conservadora com a terapia realizada a partir da utilização de células tronco. E como resultado dessas investigações obtêm-se que o emprego das CTM possui grande potencial no tratamento

após lesões neuromusculares, principalmente lesão medular, que se caracteriza por ser uma das lesões mais comuns tanto em humanos quanto em animais, e frequentemente acarreta em dificuldades no decorrer da vida do paciente, visto que a medicação convencional não é tão promissora (BESALTI *et al.*, 2016; BHAT *et al.*, 2019; PENHA *et al.*, 2014).

Além disso, comparou-se também a eficácia da descompressão cirúrgica isolada e combinada com o transplante de CTM, derivadas do tecido adiposo, alogênicas em cães com doença aguda do disco toracolombar e lesão medular. E a partir da experimentação concluiu-se que a associação de transplante de CTM advindas do tecido adiposo com a descompressão cirúrgica pode favorecer a recuperação locomotora em cães paraplégicos de forma mais rápida, além de diminuir o período de internação pós-cirúrgica (BACH *et al.*, 2019). Ademais, a terapia de aplicação autóloga de CTM originadas na medula óssea de cães de maneira intradiscal para tratamento de doença do disco intervertebral é considerada viável e bem sucedida em cães (STEFFEN *et al.*, 2017).

Outra forma de se utilizar a terapêutica em destaque no sistema neuromuscular é na recuperação da função motora do membro paralisado em cães com lesão medular completa após implantação de tecido de rede neural advindo das próprias CTM da medula óssea canina modificadas pelo gene TrkC em uma estrutura de esponja de gelatina 3D. A partir disso, sugere-se que o tecido citado possa servir como amplificador/retransmissor do sinal neural, estrutural e funcional para restaurar a função motora do membro paralisado no cão com lesão medular completa, isso ocorre, pois, esse transplante promove regeneração das fibras nervosas do membro acometido (WU *et al.*, 2018).

Embora as pesquisas utilizando CTM no tratamento de sequelas de cinomose, lesões medulares e hérnia de disco em cães tenham obtido resultados promissores, ainda se faz necessário estudos a fim de descobrir uma forma de otimizar ainda mais os efeitos terapêuticos que são observados nas terapias com CTM. Além disso, deve-se analisar se as abordagens de terapia utilizando CTM em conjunto com a engenharia de tecidos são positivas no tratamento de lesão medular, principalmente em situações em que se tem a ocorrência de lesões devido a trauma espinhal, pois, sabe-se que muitas vezes o desenvolvimento da doença nesse caso é bem diferente das enfermidades induzidas de maneira experimental (VOGA *et al.*, 2020).

2.2 DOENÇAS DERMATOLÓGICAS

A cicatrização do tecido cutâneo envolve várias etapas rigorosamente arranjadas e coordenadas que possuem como objetivo a restauração do tecido lesionado. Qualquer modificação nessas etapas, pode resultar em cicatrização ineficaz, acarretando em dermatopatias crônicas (OJEH *et al.*, 2015).

As doenças dermatológicas têm despertado grande atenção dos médicos veterinários devido seu caráter, algumas vezes atópico e não responsivo a tratamentos tradicionais. Os sinais clínicos de dermatites atópicas em cães são: prurido intenso e feridas em pele associadas a sinais inflamatórios. Devido às características de potencial regenerativo, anti-inflamatório e de imunomodulação, as células tronco têm demonstrado importância no tratamento dessas dermatopatias. Exemplificando, a terapia com infusão de soro com células tronco mesenquimais (CTM) alogênicas derivadas do tecido adiposo (TA) tem provado diminuição significativa nos sinais clínicos de cães com dermatite atópica refratária (VILLATORO *et al.*, 2018).

Além disso, as CTM também apresentam ação antimicrobiana, em virtude da secreção de peptídeos antimicrobianos, como catelicidinas e lipocalina-2. Além de estimular a resposta inata do paciente. A propriedade antimicrobiana pode ser intensificada quando associada a antibióticos. Um estudo demonstrou que ratos com infecções crônicas causadas por *Staphylococcus aureus* e tratados com associação de antibióticos e CTM ativadas, provenientes do tecido adiposo (TA), obtiveram um processo de cicatrização mais eficiente, quando comparados aos animais que foram tratados apenas com terapia antibacteriana (JOHNSON *et al.*, 2017).

Ademais, a utilização de CTM alogênicas derivadas da medula óssea (MO), realizando aplicações intradérmicas em feridas cutâneas experimentais de cães, evidenciou o fechamento mais rápido da lesão, com aumento na concentração de colágeno e maior marcação positiva imunohistoquímica para células da epiderme, tecido de granulação e formação de novos vasos sanguíneos. Além de diminuir significativamente as taxas de citocinas pró-inflamatórias, como IL-2 e IFN- γ , nesses animais (KIM *et al.*, 2013).

O mesmo observa-se em cavalos adultos com feridas naturais em membros, não responsivas à terapêutica farmacológica por três meses. Os animais receberam tratamento com células tronco do sangue periférico com aplicações locais intradérmicas, onde apresentaram excelente cicatrização com a formação de tecidos de granulação e formação de crosta, seguido

de reparo tecidual final (SPAAS *et al.*, 2013). O mesmo resultado positivo ocorreu no tratamento com CTM de uma potra com ferida cutânea decorrente de decúbito por longos períodos. Essa ferida foi anteriormente tratada com pomada de ozônio, acarretado em uma cicatrização inicial, porém, ocorrendo recidiva da lesão após um mês. A segunda escolha foi o tratamento com CTM do cordão umbilical de equino, essas células foram adicionadas a um gel de carboximetilcelulose estéril e aplicadas de forma tópica na lesão a cada quatro dias por quatro vezes. Após o tempo de tratamento, foi observado a cicatrização total e crescimento de pelos no local da lesão. Não foi observado cicatrização exuberante e recidiva (LANCI *et al.*, 2019).

Apesar dos resultados positivos de tratamento com células tronco em doenças dermatológicas, ainda são necessários mais estudos para suprir as lacunas em torno dessa terapêutica e suas possíveis reações adversas, para que assim essa nova terapia seja comumente aplicada em rotinas de hospitais e clínicas veterinárias (VOGA *et al.*, 2020).

2.3 DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Na medicina, as doenças cardiovasculares continuam sendo um problema de saúde crescente e global, constituindo uma das principais causas de morbidade e mortalidade em humanos (FAKOYA *et al.*, 2021). As terapias com células tronco são direcionadas principalmente, para regeneração do miocárdio decorrente de infarto (ECKERT *et al.*, 2013; WERNLY *et al.*, 2019). O infarto primário do miocárdio é raramente observado nos animais de companhia, embora cães e gatos apresentam alta prevalência de várias doenças cardíacas não isquêmicas também encontradas em humanos, incluindo cardiomiopatia hipertrófica felina, cardiomiopatia dilatada canina, doença valvar mitral e displasia/cardiomiopatia arritmogênica do ventrículo direito (HOFFMAN; DOW, 2016).

As doenças isquêmicas miocárdicas foram projetadas em cães para que estes pudessem ser utilizados como modelos para humanos (GUGJOO; AMARPAL; SHARMA, 2019). Muitos estudos com isquemia cardíaca em cães envolvendo terapias com células tronco mostraram resultados favoráveis, na forma de aumento da vascularização e melhora da função cardíaca (BARTUNEK *et al.*, 2007; MEMON *et al.*, 2005; PERIN *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2005). As células progenitoras residentes no coração do cão se autorrenovam, mostram atividade multipotente e clonogênica e, mediante ativação por meio de fatores de crescimento (como fator de crescimento de hepatócitos e fator-1 de crescimento semelhante à insulina), promovem

regeneração do miocárdio infartado, melhorando dessa forma a função cardíaca (LINKE *et al.*, 2005).

Outros animais, geralmente de pequeno porte, também são utilizados nas pesquisas como modelos de doenças cardiovasculares (RAJABZADEH; FATHI; FARAHZADI, 2019). Dhein *et al.* (2006) descobriram que o transplante autólogo de células tronco mesenquimais derivadas da medula óssea (CTM-MO) melhora a função cardíaca na cardiomiopatia não isquêmica em modelo de coelho. Davies *et al.* (2010) relataram que o transplante de células tronco do sangue do cordão umbilical (CTM-SCU) de humanos em modelo ovino com insuficiência cardíaca direita neonatal, melhorou a função cardíaca ventricular direita, tanto a função sistólica quanto diastólica. Nagaya *et al.* (2005) descobriram que o transplante de CTMs melhorou a cardiomiopatia dilatada em ratos, possivelmente por induzir a miogênese, angiogênese e prevenir a fibrose miocárdica, demonstrando haver enorme efeito benéfico no transplante de células, inclusive na diferenciação de cardiomiócitos, células endoteliais vasculares e no fornecimento de mediadores antiapoptóticos, angiogênicos e mitogênicos. Roura *et al.* (2015) mostraram que as (CTM-SCU) são consideradas candidatas terapêuticas atraentes contra distúrbios humanos que progridem com déficit vascular. Ammar *et al.* (2015) compararam CTM-MO com células derivadas do tecido adiposo (CTM-TA) e demonstraram que ambas foram igualmente eficazes em mitigar a disfunção cardíaca em ratos induzida por doxorubicina, por meio da diminuição da deposição de colágeno e promoção da angiogênese.

Em cães, principalmente os de raça grande e gigante, a condição comumente observada relacionada ao coração é a cardiomiopatia dilatada. Nessa condição a terapia com células tronco mesenquimais foi avaliada (HOFFMAN; DOW, 2016). Um único estudo utilizou CTM-TA alogênicas por via venosa coronariana retrógrada para em casos de cães da raça Doberman com cardiomiopatia dilatada oculta. A terapia pareceu segura, mas o tempo médio de sobrevivência e a evolução ecocardiográfica não mudaram após a terapia celular no acompanhamento de dois anos dos animais (POGUE *et al.*, 2013). Da mesma forma, o tratamento da cardiomiopatia dilatada com células alogênicas derivadas de cardiosferas também não apresentou efeitos benéficos após o transplante dessas células na artéria coronária em cães. Cardiosferas são aglomerados multicelulares obtidos a partir do crescimento celular de explantes cardíacos cultivados em substratos não aderentes e as células derivadas da cardiosfera são consideradas um tipo de células progenitoras cardíacas que podem se diferenciar em cardiomiócitos, células endoteliais e células musculares lisas (HENSLEY *et al.*, 2017). Nesse sentido, são necessários mais estudos que melhorem a compreensão da patologia molecular associada à remodelação

cardíaca em cada modelo para utilização das células tronco com eficácia clínica (GUGJOO; AMARPAL; SHARMA, 2019). Além disso, CTMs geneticamente modificadas também podem ser utilizadas em casos específicos, como por exemplo o transplante de CTMs modificadas com gene mHCN4 que proporcionou um marca-passo biológico estável em cães com bloqueio atrioventricular e estimulação eletrônica induzidos experimentalmente (LU *et al.*, 2013).

Em cães de raças menores a doença cardíaca mais comum é a doença valvar degenerativa, que é frequentemente complicada por dilatação e disfunção ventricular (FOX, 2012). Petchdee e Sompeewong (2016) investigaram o efeito da administração intravenosa de células tronco derivadas de dentes decíduos de filhotes na doença valvar degenerativa, e seus resultados evidenciaram melhora da fração de ejeção ventricular esquerda.

Ao longo das últimas duas décadas, várias células tronco foram identificadas com base em seu potencial regenerativo como tratamentos promissores para doenças cardiovasculares (FAKOYA *et al.*, 2021). Com base nesses achados, é proposta a perspectiva em que o tratamento ou os efeitos terapêuticos associados à terapia com células tronco, como mecanismos parácrinos, podem desempenhar um papel importante no futuro. A otimização do processamento de células tronco e a melhor compreensão da sinalização parácrina, bem como seu efeito na cardioproteção e remodelação cardíaca, podem melhorar a pesquisa das doenças cardiovasculares e os resultados nos pacientes (WERNLY *et al.*, 2019).

2.4 DOENÇAS OSTEOARTICULARES

As doenças osteoarticulares são comumente relatadas na medicina veterinária, destacando-se em cães (BLACK *et al.*, 2007; SHAH *et al.*, 2018) e em equinos (FERRIS *et al.*, 2014; NICPON; MARYCZ; GRZESIAK, 2013). Existem diversas doenças que podem acometer os tecidos osteoarticulares, sendo que as osteoartrites (SHAH *et al.*, 2018), lesões meniscais, lesões cartilaginosas, lesões de ligamentos (FERRIS *et al.*, 2014) e doenças degenerativas, como a espavina óssea em cavalos, apresentam estudos utilizando células tronco como tratamento (NICPON; MARYCZ; GRZESIAK, 2013). Os sinais clínicos gerais mais evidentes são: a claudicação, dor e incapacidade funcional do membro, em casos mais graves (FERRIS *et al.*, 2014; SHAH *et al.*, 2018).

O principal sinal clínico encontrado em equinos atletas que sofreram severo desgaste osteoarticular é a claudicação intensa. Esse desgaste está relacionado à atividade física a que esses animais são submetidos diariamente. Ainda, relata-se que esses animais são descartados

precocemente devido a essas graves lesões (ROSSDALE *et al.*, 1985). Este descarte indevido pode estar relacionado a necessidade de tratamentos tradicionais longos com corticoides, pois esses esteroides são limitados no exame *antidoping* de equinos atletas (HO *et al.*, 2006; ROSSDALE *et al.*, 1985). A característica histológica do tecido articular também contribui na dificuldade do tratamento e no reparo tecidual ineficiente. Pois tem propriedade de ser avascular e possuir baixa concentrações de células reparadoras (FRISBIE; STEWART, 2011). Por esses motivos, há necessidade de tratamentos alternativos, como aqueles que utilizam células tronco, para que se consiga um tratamento efetivo desse tecido, sem que haja necessidade de retirar esses animais de competições (NICPON; MARYCZ; GRZESIAK, 2013).

Ademais, as doenças osteoarticulares, em muitos casos, são consideradas crônicas e progressivas. E o tratamento ocorre de forma paliativa com o intuito de diminuir a dor e melhorar a qualidade de vida do paciente. Por esses motivos, novas terapias foram necessárias a fim de tentar diminuir a cronicidade e a severidade dessas doenças (SHAH *et al.*, 2018). O tratamento com células tronco mesenquimais tem comprovado ser a nova forma terapêutica dessas doenças, demonstrando resultados esperançosos e positivos em cães (SHAH *et al.*, 2018) e equinos (FERRIS *et al.*, 2014; NICPON; MARYCZ; GRZESIAK, 2013).

Cães com osteoartrite leve a severa, submetidos ao tratamento com células tronco mesenquimais alogênicas derivadas do tecido adiposo (CTM-TA), com aplicações intra-articular (IA) e intravenosa (IV), manifestaram excelente melhora no quadro clínico. Destacando que animais com quadro leves apresentaram melhor recuperação após tratamento. Bem como os animais mais jovens, que possuem recuperação mais efetiva quando comparado aos animais mais idosos (SHAH *et al.*, 2018).

O mesmo ocorre em cavalos com claudicação severa tratados com CTM-TA intra-articular em casos de espavina óssea. Esses pacientes apresentam melhora no quadro clínico geral com a diminuição progressiva de claudicação. E quando se compara aos tratamentos tradicionais com corticoides, esses apresentam recidivas dos sinais clínicos em 180 dias, diferente do tratamento com CTM-TA, onde não se observa o retorno dos sinais clínicos. Tornando essa terapia com a característica de efeito a longo prazo, sem causar reações adversas (NICPON; MARYCZ; GRZESIAK, 2013).

Dessa maneira, a terapia com células tronco em doenças osteoarticulares tem provado grande potencial terapêutico e conseqüentemente tem refletido positivamente na diminuição do uso crônico de fármacos anti-inflamatórios, uma vez que são drogas com efeitos colaterais potencialmente tóxico, principalmente quando utilizados por longos períodos. Entretanto, mais

estudos são necessários a fim de elucidar melhor todos os mecanismos de ação das células tronco (VOGA *et al.*, 2020).

2.5 NEOPLASIAS

A terapia com células tronco voltada para as neoplasias vem sendo amplamente estudada. Nos dias atuais, ainda existem muitas lacunas a serem preenchidas no que tange a aplicação clínica dessa terapia com células tronco, todavia, essa modalidade de terapia, que é utilizada há décadas, é vista como promissora (REYA *et al.*, 2001).

Dentro dessa área de estudo é importante o conceito de células tronco cancerosas, que são células raras com potencial indefinido de auto renovação e que impulsionam a tumorigênese, ou seja, a formação da neoplasia (REYA *et al.*, 2001). Essas células não são utilizadas como terapia celular visando o tratamento, porém, são cada vez mais estudadas como marcadores prognósticos ou como células para a terapia alvo, visto que estão diretamente relacionadas com a origem dos neoplasmas (SCHULENBURG *et al.*, 2006). Elas são ainda resistentes à quimioterapia convencional e o estudo como marcador prognóstico ainda é complexo, uma vez que o isolamento dessas células é difícil devido à pequena quantidade disponível. Estudos indicam que a população em um tumor dessas células pode representar apenas 1% a 4% de todas as células deste tumor (RASHEED; WANG; MATSUI, 2010).

Além do uso como marcadores das células tronco tumorais, células tronco de origens diversas vêm sendo estudadas para tratamento neoplásico, isso porque existem alguns indícios que suportam a ideia de que as células tronco, com destaque para as mesenquimais, são atraídas para o tumor por fatores produzidos pela própria neoplasia, como citocinas e quimiocinas. Com isso, no local da lesão estas células se distribuem de maneira seletiva, produzindo proteínas inibitórias do crescimento, fazendo com que o microambiente se torne desfavorável para a replicação das células tumorais, além de aumentar a sensibilidade dessas células aos fármacos quimioterápicos (LING *et al.*, 2010). Devido a essas características, cada vez mais estudos são conduzidos no sentido da utilização das células tronco mesenquimais como tratamento alvo contra neoplasias (ALCÂNTARA, 2014).

Um tratamento conceituado e aplicado na rotina clínica da medicina humana, mas que devido aos custos possuem limitações na veterinária, é a utilização de células tronco hematopoiéticas frente a diversas neoplasias de origem hematopoiéticas como as leucemias e linfomas (SILVA, 2014). Existem recomendações para aplicação clínica de transplante de

células tronco hematopoiéticas autólogas em humanos para o mieloma múltiplo, linfomas Hodgkin e não Hodgkin, leucemias mieloides agudas, neuroblastoma e câncer de ovário, enquanto o transplante alogênico pode ser utilizado em leucemias mieloides agudas ou crônicas, leucemia linfoides agudas ou crônicas, síndromes mielodisplásicas, doenças mieloproliferativas e mieloma múltiplo (COPELAN, 2006).

O tratamento com as células tronco hematopoiéticas é utilizado como terapia de resgate em casos refratários e sua recomendação se baseia principalmente, em avaliações citogenéticas da medula no momento do diagnóstico. Além de atuar diretamente frente a neoplasia, esse tratamento auxilia na renovação das linhagens celulares acometidas da medula óssea (LAMEGO *et al.*, 2010), possibilitando assim, realizar tratamento quimioterápico mais agressivo. As células tronco mesenquimais podem ser utilizadas para prevenir e tratar a doença do enxerto-hospedeiro que podem ocorrer em casos de transplante de células tronco hematopoiéticas (ALCÂNTARA, 2014; SAGAR *et al.*, 2007), que é uma enfermidade sistêmica de rápida progressão, onde ocorre imunossupressão e injúria tissular em vários órgãos, com destaque para pele, fígado e intestinos (PINTO, 2012) e para recuperação funcional dos pacientes transplantados com células tronco hematopoiéticas (ALCÂNTARA, 2014; SAGAR *et al.*, 2007).

Algumas possíveis utilizações das células tronco ainda não são aplicadas na rotina clínica, visto a ausência de informações científicas. Um desses exemplos é em caso de tumores de mama, no qual uma pesquisa utilizando camundongos demonstrou o potencial da terapia com células tronco mesenquimais que superexpressavam IFN- β . Esse tratamento foi capaz de inibir o crescimento de tumores de mama, bem como a ocorrência de metástase (LING *et al.*, 2010). Na veterinária, um estudo desenvolvido *in vitro* relatou que células tronco mesenquimais com rhBPM-2 obtidas da medula óssea de fetos caninos foram capazes de inibir a proliferação de células do osteossarcoma canino por mecanismos de indução da apoptose e supressão tumoral (RICI *et al.*, 2012).

Outro tipo de terapia celular que pode ser aplicada nos casos de neoplasias, é aquela visando a regeneração do tecido após o tratamento específico para a neoplasia. Isso porque, em alguns casos, o neoplasma tem grande tamanho e não pode ser ocluído primariamente devido à tensão na linha de sutura. Isso é comum em casos de neoplasias na região de face dentro da medicina veterinária (MILGRAM *et al.*, 2011). Sendo assim, as células tronco, principalmente as mesenquimais advindas de medula óssea, tem mostrado grande potencial de regeneração de diversos tecidos, com destaque nesses casos para o reparo ósseo (PITTENGER; MACKAY;

BECK, 1999). Um exemplo advém de um estudo que utilizou células tronco mesenquimais da polpa dentária para regeneração de defeito ósseo na região da calvária de coelhos e obteve o percentual de 84% ($\pm 8\%$) de osso neoformado em comparação com o grupo controle que utilizou plasma rico em plaqueta autógena (BELMONTE, 2011).

3 PERSPECTIVAS FUTURAS

O tratamento com células tronco é visto de maneira muito promissora e espera-se que futuramente possa ser aplicado rotineiramente na terapêutica clínica (REYA *et al.*, 2001). Como abordado nesse capítulo, esse tratamento é uma realidade para terapêutica de algumas enfermidades, e deve crescer sua utilização nos próximos anos com o avanço das pesquisas em áreas como as doenças dermatológicas e doenças osteoarticulares, nas quais o tratamento com células tronco permite reduzir o uso crônico de substâncias com efeitos colaterais potencialmente tóxicos, como os anti-inflamatórios (VOGA *et al.*, 2020). Nos casos de neoplasias, espera-se que novas células tronco tumorais sejam identificadas e que a partir disso novos protocolos terapêuticos direcionados a células alvos surjam (RASHEED; WANG; MATSUI, 2010).

Além das doenças relatadas nesse capítulo, as células tronco mesenquimais também são relatadas como promissoras para outras enfermidades, como no caso de doença renal crônica. Um estudo induziu a hipertensão renovascular em ratos e utilizou como tratamento células tronco mesenquimais por via endovenosa, alcançando como resultado a melhora da morfologia renal e das áreas de fibrose na avaliação histopatológica, além de manter inalterado os exames bioquímicos renais com o animal em vida (ELIZABETH *et al.*, 2013).

Outro estudo testou a segurança e efeito do transplante alogênico intra-renal e endovenosa de células tronco mesenquimais derivadas da membrana amniótica felina em gatos com insuficiência renal crônica natural e obteve efeito renoprotetor com melhora da função renal, estabilização do quadro clínico e da progressão da doença (VIDANE, 2015).

Sendo assim, pode ser viável a utilização desse tratamento na rotina clínica no futuro. Outro caso são os das doenças hepáticas, onde as células tronco mesenquimais demonstraram efeitos citoprotetores hepáticos em modelos animais (camundongos) induzidos a lesões hepáticas. Por isso, acredita-se que com mais estudos sobre o tema é possível que no futuro essas terapias sejam aplicadas rotineiramente na clínica (CHO *et al.*, 2013).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De forma geral, são necessários mais estudos para aumentar e validar a aplicabilidade das células tronco na rotina clínica. Nas doenças osteoarticulares, por exemplo, seu uso pode diminuir de forma significativa a prescrição de anti-inflamatórios e as células tronco provaram ter alto potencial de regeneração nesses casos, mas ainda assim, faltam pesquisas, principalmente no que tange às reações adversas.

Para as doenças cardiovasculares os estudos são mais voltados para o infarto do miocárdio em humanos, sendo assim, a lacuna é muito grande na medicina veterinária para essas doenças. Nas doenças dermatológicas, principalmente as crônicas e refratárias ao tratamento tradicional, as células tronco se mostraram como uma possibilidade de recurso clínico, tendo efeito benéfico, todavia, pouco se sabe em relação às reações adversas.

Com relação às doenças neuromusculares, a maior parte das terapias celulares estudadas na atualidade são promissoras, tendo aplicabilidade em diversas enfermidades, mas ainda necessitam estudos de validação e segurança na área. Nos tratamentos antineoplásicos, existem mais estudos sobre as células tronco tumorais como marcadores prognósticos e células alvo para quimioterapia, do que para o tratamento antineoplásico propriamente dito, dessa forma, ainda é pequeno o conhecimento dessa área na medicina veterinária.

Por fim, o estudo com terapia celular vem sendo ampliado ao longo dos anos e se apresenta promissor contra diversas doenças. Porém, ainda é necessário maior número de pesquisas dentro da medicina veterinária para compreender as recomendações da terapia, o mecanismo de ação dessas células, os efeitos adversos imediatos e a longo prazo, a frequência e intervalo de ação e aplicação, a via de administração e outras informações inerentes à aplicação clínica desse tratamento, bem como o custo total dessa terapia para as diversas doenças e sua eficácia.

5 REFERÊNCIAS

ALCÂNTARA, D. **Interação entre células tronco de polpa dentária imatura e o osteossarcoma canino**. 2014. 111 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

ALVES, E. G. L. *et al.* Isolamento e cultivo de células tronco mesenquimais extraídas do tecido adiposo e da medula óssea de cães. **Ciência Animal Brasileira**, v. 18, n. e-34050, p. 1-14, 2017.

AMMAR, H. I. *et al.* Comparison of adipose tissue-and bone marrow-derived mesenchymal stem cells for alleviating doxorubicin-induced cardiac dysfunction in diabetic rats. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 6, n. 148, p. 1-14, 2015.

ARBEX, M. S.; NEVES, T. F.; GANTUS, M. A. V. Obtenção e isolamento de células-tronco da medula óssea. **Cadernos UniFOA**, v. 14, n. 39, p. 107-115, 2019.

BACH, F. S. *et al.* Comparison of the efficacy of surgical decompression alone and combined with canine adipose tissue-derived stem cell transplantation in dogs with acute thoracolumbar disk disease and spinal cord injury. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, n. 383, p. 1-11, 2019.

BALDOTTO, S. B. **Efeitos da terapia com células estromais mesenquimais multipotentes em cães com encefalomielite pelo vírus da cinomose.** 2019. 35 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2019.

BARTUNEK, J. *et al.* Pretreatment of adult bone marrow mesenchymal stem cells with cardiomyogenic growth factors and repair of the chronically infarcted myocardium. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 292, n. 2, p. H1095-H1104, 2007.

BELMONTE, G. C. **Análise do potencial das células-tronco mesenquimais de polpa de dente decíduo humano na regeneração óssea em crânio de coelhos.** 2011. 78 f. Tese (Doutorado em Biologia Oral) - Pós-Graduação em Biologia Oral, Universidade Sagrado Coração, Bauru, 2011.

BESALTI, O. *et al.* The use of autologous neurogenically-induced bone marrow-derived mesenchymal stem cells for the treatment of paraplegic dogs without nociception due to spinal trauma. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 78, n. 9, p. 1465-1473, 2016.

BHAT, I. A. *et al.* An allogenic therapeutic strategy for canine spinal cord injury using mesenchymal stem cells. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 3, p. 2705-2718, 2019.

BLACK, L. L. *et al.* Effect of adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on lameness in dogs with chronic osteoarthritis of the coxofemoral joints: a randomized, double-blinded, multicenter controlled trial. **Veterinary Therapeutics**, v. 8, n. 4, p. 272-284, 2007.

BOBIS, S.; JAROCHA, D.; MAJKA, M. Mesenchymal stem cells: characteristics and clinical applications. **Folia Histochemistry Cytobiologica**, v. 44, n. 4, p. 215-230, 2006.

BORGES, J. F. P.; CALVET, C. O. A aplicação de células-tronco na odontologia. **Revista de Investigação Biomédica**, v. 6, n. 1, p. 103-113, 2014.

BRITO, H. F. V. M. **Utilização de células mononucleares de medula óssea para o tratamento de sequelas neurológicas de cinomose canina.** 2015. 78 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

- CHO, K. A. *et al.* Mesenchymal stem cells restore CCL4-induced liver injury by an antioxidative process. **Cell Biology International**, v. 36, n. 12, p. 1267-1274, 2013.
- COPELAN, E. A. Hematopoietic stem-cell transplantation. **The New England Journal of Medicine**, v. 354, n. 17, p. 1813-1826, 2006.
- DAVIES, B. *et al.* Human cord blood stem cells enhance neonatal right ventricular function in an ovine model of right ventricular training. **The Annals of Thoracic Surgery**, v. 89, n. 2, p. 585-593, 2010.
- DHEIN, S. *et al.* Effects of autologous bone marrow stem cell transplantation on beta-adrenoceptor density and electrical activation pattern in a rabbit model of non-ischemic heart failure. **Journal of Cardiothoracic Surgery**, v. 1, n. 17, p. 1-11, 2006.
- ECKERT, M. A. *et al.* Evidence for high translational potential of mesenchymal stromal cell therapy to improve recovery from ischemic stroke. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 33, n. 9, p. 1322-1334, 2013.
- FAKOYA, A. O. J. *et al.* Evolution of stem cells in cardio-regenerative therapy. In: HAIDER, K. H. **Stem cells**. 1. ed. Switzerland: Springer Cham, 2021. p. 93-118.
- FERRIS, D. J. *et al.* Clinical outcome after intra-articular administration of bone marrow derived mesenchymal stem cells in 33 horses with stifle injury. **Veterinary Surgery**, v. 43, n. 3, p. 255-265, 2014.
- FOX, P. R. Pathology of myxomatous mitral valve disease in the dog. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 14, n. 1, p. 103-126, 2012.
- FRISBIE, D. D.; STEWART, M. C. Cell-based therapies for equine joint disease. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 27, n. 2, p. 335-349, 2011.
- GUGJOO, M. B.; AMARPAL, A.; SHARMA, G. T. Mesenchymal stem cell basic research and applications in dog medicine. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 10, p. 16779-16811, 2019.
- HENSLEY, M. T. *et al.* Intracoronary allogeneic cardiosphere-derived stem cells are safe for use in dogs with dilated cardiomyopathy. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 21, n. 8, p. 1503-1512, 2017.
- HO, E. N. M. *et al.* Comprehensive screening of anabolic steroids, corticosteroids, and acidic drugs in horse urine by solid-phase extraction and liquid chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1120, n. 1-2, p. 38-53, 2006.
- HOFFMAN, A. M.; DOW, S. W. Concise review: stem cell trials using companion animal disease models. **Stem Cells**, v. 34, n. 7, p. 1709-1729, 2016.
- JOHNSON, V. *et al.* Activated mesenchymal stem cells interact with antibiotics and host innate immune responses to control chronic bacterial infections. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-18, 2017.

- KIM, J. *et al.* The effects of topical mesenchymal stem cell transplantation in canine experimental cutaneous wounds. **Veterinary Dermatology**, v. 24, n. 2, p. 242-253, 2013.
- LAMEGO, R. M. *et al.* Transplante alogênico de células-tronco hematopoiéticas em leucemias agudas: a experiência de 10 anos do Hospital das Clínicas da UFMG. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. 2, p. 108-115, 2010.
- LANCI, A. *et al.* Heterologous wharton's jelly derived mesenchymal stem cells application on a large chronic skin wound in a 6-month-old filly. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, n. 9, p. 1-5, 2019.
- LING, X. *et al.* Mesenchymal stem cells overexpressing INF- β breast cancer growth and metástases through STAT3 sinaling in a syngenic tumor model. **Cancer Microenvironment**, v. 3, n. 1, p. 83-95, 2010.
- LINKE, A. *et al.* Stem cells in the dog heart are self-renewing, clonogenic, and multipotent and regenerate infarcted myocardium, improving cardiac function. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 25, p. 8966-8971, 2005.
- LU, W. *et al.* mHCN4 genetically modified canine mesenchymal stem cells provide biological pacemaking function in complete dogs with atrioventricular block. **Pacing and Clinical Electrophysiology**, v. 36, n. 9, p. 1138-1149, 2013.
- MACHADO, R. P. **Células-tronco no tratamento de animais com sequelas neurológicas ocasionadas pela cinomose**. 2019. 25 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Medicina Veterinária) - Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos, Gama, 2019.
- MARQUES, A. R. P. A. **Terapia com células estaminais derivadas do tecido adiposo em cães com sequelas neurológicas da esgana**. 2016. 85 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Lusófona de Humanidade e Tecnologias, Lisboa, 2016.
- MCLAREN, A. Ethical and social considerations of stem cell research. **Nature**, v. 414, n. 6859, p. 129-131, 2001.
- MEMON, I. A. *et al.* Combined autologous cellular cardiomyoplasty with skeletal myoblasts and bone marrow cells in canine hearts for ischemic cardiomyopathy. **The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 130, n. 3, p. 646-653, 2005.
- MILGRAM, J. *et al.* Axial pattern flap based on a cutaneous branch of the facial artery in cats. **Veterinary Surgery**, v. 40, n. 3, p. 347-350, 2011.
- NAGAYA, N. *et al.* Transplantation of mesenchymal stem cells improves cardiac function in a rat model of dilated cardiomyopathy. **Circulation**, v. 112, n. 8, p. 1128-1135, 2005.
- NICPON, J.; MARYCZ, K.; GRZESIAK, J. Therapeutic effect of adipose-derived mesenchymal stem cell injection in horses suffering from bone spavin. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 16, n. 4, p. 753-754, 2013.

OJEH, N. *et al.* Stem cells in skin regeneration, wound healing, and their clinical applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 10, p. 25476-25501, 2015.

OLIVEIRA-SALES, E. B. *et al.* Mesenchymal stem cells (MSC) prevented the progression of renovascular hypertension, improved renal function and architecture. **Public Library of Science**, v. 8, n. 11, p. 1-10, 2013.

PENHA, E. M. *et al.* Use of autologous mesenchymal stem cells derived from bone marrow for the treatment of naturally injured spinal cord in dogs. **Stem Cells International**, v. 2014, n.8, p. 1-8, 2014.

PERIN, E. C. *et al.* Comparison of intracoronary and transendocardial delivery of allogeneic mesenchymal cells in a canine model of acute myocardial infarction. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 44, n. 3, p. 486-495, 2008.

PETCHDEE, S.; SOMPEEWONG, S. Intravenous administration of puppy deciduous teeth stem cells in degenerative valve disease. **Veterinary World**, v. 9, n. 12, p. 1429-1434, 2016.

PINTO, D. O. A doença do enxerto-contrá-hospedeiro. In: INCA (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER) José Alencar Gomes da Silva. **Tópicos em transplante de células-tronco hematopoiéticas**. 1. ed. Rio de Janeiro: INCA, 2012. p. 45-70.

PITTENGER, M. F. *et al.* Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. **Science**, v. 284, n. 5411, p. 143-147, 1999.

POGUE, B. *et al.* Stem-cell therapy for dilated cardiomyopathy: a pilot study evaluating retrograde coronary venous delivery. **Journal of Small Animal Practice**, v. 54, n. 7, p. 361-366, 2013.

RAJABZADEH, N.; FATHI, E.; FARAHZADI, R. Stem cell-based regenerative medicine. **Stem Cell Investigation**, v. 6, n. 18, p. 1-11, 2019.

RASHEED, Z.; WANG, Q.; MATSUI, W. Isolation of stem cells from human pancreatic cancer xenografts. **Journal of Visualized Experiments**, v. 26, n. 43, p. 1-4, 2010.

REYA, T. *et al.* Stem cells, cancer, and cancer stem cells. **Nature**, v. 414, n. 6859, p. 105-111, 2001.

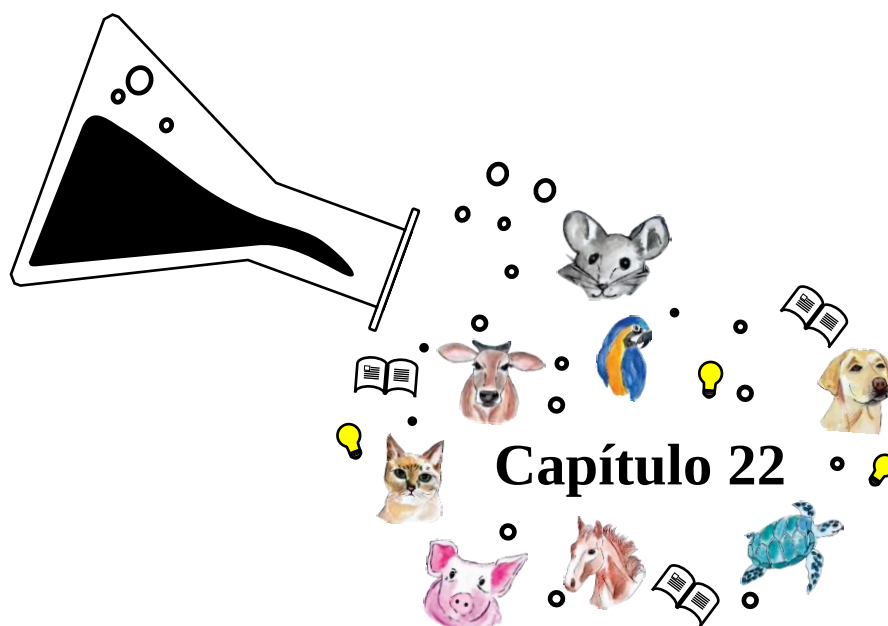
RICI, R. E. G. *et al.* Mesenchymal stem cells with rhBPM-2 inhibit the growth of canine osteosarcoma cells. **BMC Veterinary Research**, v. 8, n. 17, p. 1-9, 2012.

ROSSDALE, P. D. *et al.* Epidemiological study of wastage among racehorses 1982 and 1983. **The Veterinary Record**, v. 116, n. 3, p. 66-69, 1985.

ROURA, S. *et al.* Impact of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells on cardiovascular research. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1-6, 2015.

SAGAR, J. *et al.* Role of stem cells in cancer therapy and cancer stem cells: a review. **Cancer Cell International**, v. 7, n. 9, p. 1-11, 2007.

- SCHULENBURG, A. *et al.* Neoplastic stem cells: a novel therapeutic target in clinical oncology. **Cancer**, v. 107, n. 10, p. 2512-2520, 2006.
- SCHWINDT, T. T.; BARNABÉ, G. F.; MELLO, L. E. A. M. Proliferar ou diferenciar? Perspectivas de destino das células-tronco. **Jornal Brasileiro de Neurocirurgia**, v. 16, n. 1, p. 13-19, 2005.
- SHAH, K. *et al.* Outcome of allogeneic adult stem cell therapy in dogs suffering from osteoarthritis and other joint defects. **Stem Cells International**, v. 2018, p. 1-7, 2018.
- SILVA, A. L. S. da. **Pesquisas de células-tronco tumorais em pacientes com linfoma não-Hodgkin**. 2014. 119 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.
- SILVA, G. V. *et al.* Mesenchymal stem cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density, and improve heart function in a canine chronic ischemia model. **Circulation**, v. 111, n. 2, p. 150-156, 2005.
- SPAAS, J. H. *et al.* The effects of equine peripheral blood stem cells on cutaneous wound healing: a clinical evaluation in four horses. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 38, n. 3, p. 280-284, 2013.
- STEFFEN, F. *et al.* Bone marrow-derived mesenchymal stem cells as autologous therapy in dogs with naturally occurring intervertebral disc disease: feasibility, safety, and preliminary results. **Tissue Engineering Part C: Methods**, v. 23, n. 11, p. 643-651, 2017.
- VIDANE, A. S. **Modelo clínico de uso de células-tronco mesenquimais da membrana amniótica para o tratamento da insuficiência renal crônica em gatos**. 2015. 93 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.
- VILLATORO, A. J. *et al.* Allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cell therapy in dogs with refractory atopic dermatitis: clinical efficacy and safety. **Veterinary Record**, v. 183, n. 21, p. 654-654, 2018.
- VOGA, M. *et al.* Stem cells in veterinary medicine - current state and treatment options. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, n. 278, p. 1-20, 2020.
- WERNLY, B. *et al.* Regenerative cardiovascular therapies: stem cells and beyond. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 6, p. 1420-1433, 2019.
- WU, G. *et al.* Recovery of paralyzed limb motor function in canine with complete spinal cord injury following implantation of MSC-derived neural network tissue. **Biomaterials**, v. 181, p. 15-34, 2018.



Formas farmacêuticas convencionais e inovadoras destinadas à administração intramamária para tratamento da mastite bovina

Nayhara Madeira Guimarães¹
Geanne Aparecida de Paula²
Sthefany Brito Salomão³
Rita Cristina Gonçalves de Melo⁴
Letycia Fernandes Franklin Avila⁵
Vanessa Cola Thomazini⁶
Juliana Alves Resende⁷
Janaina Cecília Oliveira Villanova⁸

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: nayhara.mg2@gmail.com

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

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

⁴ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: rita07melo@gmail.com

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

⁶ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: vanessathomazini01@gmail.com

⁷ Universidade Federal do Espírito Santo, e-mail: juliana.resende@ufes.br

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

1 INTRODUÇÃO

A mastite bovina é uma doença caracterizada pela inflamação das glândulas mamárias em resposta, principalmente, a infecções bacterianas, sendo considerada um dos maiores obstáculos à exploração lucrativa da pecuária leiteira no Brasil (ASFAW; NEGASH, 2017). Bactérias do gênero *Staphylococcus* e *Streptococcus* são os principais microrganismos encontrados em materiais clínicos coletados em vacas doentes e linhagens de *Staphylococcus aureus* são predominantes. Outras espécies de interesse são *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Micrococcus* sp., *Streptococcus uberis*, *Corynebacterium* sp. e, em menor proporção, bactérias Gram-negativas (KUMMER, 2019).

Os principais prejuízos relacionados à mastite, para pequenos e grandes produtores, são a redução na produção leiteira e o aumento da quantidade de leite descartado, diminuindo as margens de lucros; a diminuição do rendimento para a fabricação de derivados lácteos; o prejuízo para a qualidade nutritiva do leite; e, a alta nos gastos relacionados aos medicamentos e cuidados veterinários (MUSHTAQ *et al.*, 2018).

Os protocolos para tratamento da mastite bovina se baseiam na administração de antibióticos pelas vias oral, endovenosa, intramuscular e, por infusão intramamária. A vantagem desta última recai sobre a necessidade de uma dose menor de insumo farmacêutico ativo (IFA) a ser administrado e na maior concentração deste no local de ação (MUSHTAQ *et al.*, 2018). Atualmente, as principais formas farmacêuticas destinadas à infusão intramamária encontradas no mercado são as pomadas, as suspensões e as soluções oleosas. Vale ressaltar o grande número de trabalhos que relatam o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos baseados na nanotecnologia para administração por esta via (BRASIL, 2019; YANG *et al.*, 2019).

Considerando a importância da mastite bovina para a saúde pública, o presente capítulo objetiva apresentar uma revisão da literatura acerca das formas farmacêuticas delineadas para administração intramamária, convencionais e inovadoras, a fim de subsidiar estudos de formulação de novos sistemas de liberação para esta via.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 MASTITE BOVINA: CAUSAS E TRATAMENTOS

A mastite bovina é uma condição caracterizada pela infecção e inflamação das glândulas mamárias das vacas, que compromete, qualitativa e quantitativamente, a produtividade dos rebanhos de pequenos e grandes produtores, levando à redução da produção, ou, ainda, às alterações nos parâmetros de qualidade do leite, tornando-o impróprio para consumo (BANDOCH; MELO, 2011; LOPES *et al.*, 2020; PROCÓPIO *et al.*, 2019). Além das perdas por descarte e da impossibilidade do uso do leite para a produção de derivados, é importante considerar as despesas do produtor com o tratamento do animal, envolvendo gastos com veterinário, mão de obra extra e medicamentos e, com medidas para evitar a contaminação do restante do rebanho. Cabe destacar que, em casos nos quais os animais não respondem ao tratamento e a doença se torna crônica, os animais devem ser sacrificados (ASFAW; NEGASH, 2017; GOMES; HENRIQUES, 2016; JAMALI *et al.*, 2018). Portanto, a mastite bovina apresenta, além de grande prevalência, alto dispêndio para os produtores (MELLO *et al.*, 2020; PROCÓPIO *et al.*, 2019).

Quanto à forma de manifestação da patologia, a mastite pode ser classificada em clínica e subclínica, segundo os sinais e sintomas apresentados no decorrer da infecção. A primeira é fácil de ser diagnosticada, uma vez que o animal manifestará os sintomas clássicos da inflamação (dor, edema, calor e rubor) que poderão ser identificados na palpação dos tetos. Ainda, na mastite clínica, podem haver alterações visíveis nas características do leite, como a formação de grumos e coágulos. Esses sinais são rapidamente notados pelos ordenhadores, agilizando o diagnóstico e permitindo que se inicie o tratamento de forma rápida e eficaz. Na mastite subclínica, entretanto, a manifestação pode ser silenciosa e não necessariamente ocorrem alterações externas visíveis que caracterizam o processo infeccioso e inflamatório, o que dificulta o diagnóstico e o tratamento, tornando-se, portanto, a forma mais prevalente da doença. Outras classificações menos comuns da mastite bovina são quanto ao agente etiológico (catarral, apstomatosa e flegmonosa) e as formas clínicas (ambiental e infecciosa) (FONSECA *et al.*, 2021; LOPES *et al.*, 2020).

A origem da infecção pode estar relacionada ou não há fatores ambientais, uma vez que os microrganismos podem estar presentes no local em que os animais se encontram. Nestes casos, os microrganismos são agentes infecciosos oportunistas. São condições favoráveis ao

desenvolvimento da mastite bovina relacionadas aos locais onde os animais são mantidos: acúmulo de matéria orgânica, excesso de umidade, altas temperaturas, exposição à chuva ou alagamentos (SANTOS; FONSECA, 2019). Condições de higiene no manejo também influenciam no decurso da mastite, sendo os principais, a falta de higiene de ordenhadeiras, uso de utensílios contaminados e contaminação das mãos dos ordenhadores (LOPES *et al.*, 2020; SANTOS *et al.*, 2020). Métodos profiláticos devem ser adotados, visando reduzir tanto os casos quanto a carga microbiana nos tetos das vacas. Adoção de práticas de higiene do habitat, equipamentos e utensílios; do ordenhador, como a lavagem correta das mãos; e, para o correto manejo da ordenha, incluindo a desinfecção dos tetos antes e após a ordenha (*pré-dipping e pós-dipping*, respectivamente) devem ser implementadas (LOPES *et al.*, 2020).

O estado geral de saúde e nutricional do gado também pode interferir no decurso da doença (LOPES *et al.*, 2020). Fatores predisponentes da mastite, relacionados aos animais, são o tamanho e a conformação do úbere e dos tetos e, a formação ineficiente de tampão tecidual oclusivo nos tetos durante o período seco (ALMEIDA, 2020). O período seco compreende o intervalo entre as lactações do animal, no qual ocorre a involução da glândula mamária e a renovação da síntese de produção láctea sob influência hormonal, após o parto. Nesse período a glândula mamária se encontra mais suscetível às infecções (KUMMER, 2019). O tratamento com uso de antibióticos pela via intramamária pode ocorrer no período seco ou de lactação dos animais. Na mastite subclínica, considerando o baixo índice de cura, recomenda-se que o tratamento seja iniciado ao final do período de lactação e no início período seco. Na mastite clínica o tratamento deve ser iniciado logo após o diagnóstico da infecção, estando o animal no período de lactação ou não (ALMEIDA, 2020; SANTOS; FONSECA, 2019).

De acordo com Kummer (2019) e Lopes *et al.* (2020) o tratamento no período seco visa o não surgimento de novas infecções durante o período de lactação. Consiste no esgotamento de todos os tetos após a última ordenha, seguido da antisepsia e da administração dos medicamentos. Segundo os autores, a eficácia do tratamento neste período pode ser aumentada, pois, possibilita a administração de concentrações mais efetivas dos fármacos, uma vez que não haverá produção de leite.

Existe uma gama de microrganismos identificados como causadores de mastite bovina, com destaque para os estafilococos, estreptococos e enterobactérias. Os microrganismos se instalam no parênquima da glândula mamária, se multiplicam e produzem toxinas e outras substâncias que dão início a um processo inflamatório, atraindo leucócitos e outros componentes do sangue para o leite, além de reduzir a capacidade das células produzirem e

secretarem leite (ASFAW; NEGASH, 2017; BRITO *et al.*, 2020; GOMES; HENRIQUES, 2016). Os principais microrganismos encontrados em materiais coletados em vacas doentes são *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *Micrococcus* sp., *S. uberis* e *Corynebacterium bovis* (ASFAW; NEGASH, 2017; FONSECA *et al.*, 2021; GOMES; HENRIQUES, 2016). Outros microrganismos do ambiente que podem ser encontrados são *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Streptococcus* spp. e *Pseudomonas* spp. (KUMMER, 2019).

O diagnóstico da mastite e a identificação do microrganismo infeccioso pode ser realizado na propriedade onde estão os animais. Os métodos auxiliares mais conhecidos são baseados no aumento do conteúdo celular da glândula mamária, como a contagem de células somáticas (CCS) e o *Califórnia mastitis Test* (CMT). A realização do teste *in loco* permite o acesso rápido as informações da doença, bem como na tomada de decisões quanto ao tratamento (SANTOS; FONSECA, 2019). O *Califórnia mastitis test* (CMT) consiste em um teste indireto, rápido e prático, com custos reduzidos. Em sua metodologia, as amostras de leite são coletadas e colocadas em um recipiente apropriado, onde são misturadas com um reagente (púrpura de bromocresol), que atua promovendo o rompimento da parede celular e liberando o material genético (DNA) das células somáticas presentes no leite (KUMMER, 2019). A reação ocorre entre o reagente e o material genético das células originando um gel, cuja concentração é relativa ao número de células somáticas presente na amostra de leite. O resultado do teste é avaliado em função do grau de gelatinização ou viscosidade, apresentando resultados: negativo, suspeito, fracamente positivo, positivo e fortemente positivo (COSER; LOPES; COSTA, 2012; KUMMER, 2019).

A cultura microbiológica do leite na fazenda (*On farm culture*) é uma metodologia que pode ser realizada nas propriedades rurais, em alguns casos pelo próprio produtor, desde que esse esteja treinado (FERREIRA *et al.*, 2018). A metodologia compreende a análise microbiológica das amostras de leite, que quantifica o crescimento microbiano, por meio da utilização de *kits* disponíveis comercialmente, sendo possível avaliar a presença ou não de determinadas espécies de bactérias envolvidas na mastite de maneira rápida, de modo que seja definido o tratamento ideal para infecção (REIS *et al.*, 2022).

A contagem de células somáticas (CCS) baseia-se na qualidade do leite, servindo como indicativo da saúde das glândulas mamárias dos animais. Essa metodologia é realizada a partir da quantificação das células somáticas, provenientes da descamação epitelial das glândulas mamárias, e células leucocitárias presentes no leite coletado, que em caso de infecções

transitam da corrente sanguínea para os tecidos do úbere a fim de combater o agente infeccioso. Essas células aumentam em número no leite em casos de inflamação/infecção, como na ocorrência de mastite (ALMEIDA, 2020; GUIMARÃES, [2018]).

Outras formas de detecção da mastite bovina incluem a anamnese do animal, no exame físico do úbere e na observação da aparência e das características físico-químicas do leite ordenhado, tais como odor, pH, coloração, presença de grumos, coágulos, pus, sangue, e mudanças nas características organolépticas do leite (KUMMER, 2019).

2.2 ADMINISTRAÇÃO INTRAMAMÁRIA DE INSUMOS FARMACÊUTICOS ATIVOS

O úbere bovino abriga quatro glândulas mamárias individuais, cada uma com um teto: estrutura nomeada de quartos. Desse modo, todo leite secretado por um teto é produzido pelo tecido glandular daquele quarto. Os quartos são separados em duas metades (direita e esquerda) pelo ligamento suspensório medial que liga o úbere à parede do corpo (CARVALHO, 2020; LIMA, 2015). Segundo Alany (2013), os quartos são separados por tecido conjuntivo, formando o quarto cranial e o quarto caudal e as glândulas mamárias, por sua vez, são as estruturas responsáveis por produzir e secretar o leite. Representações dos quartos e das glândulas são dadas nas Figuras 1 e 2.

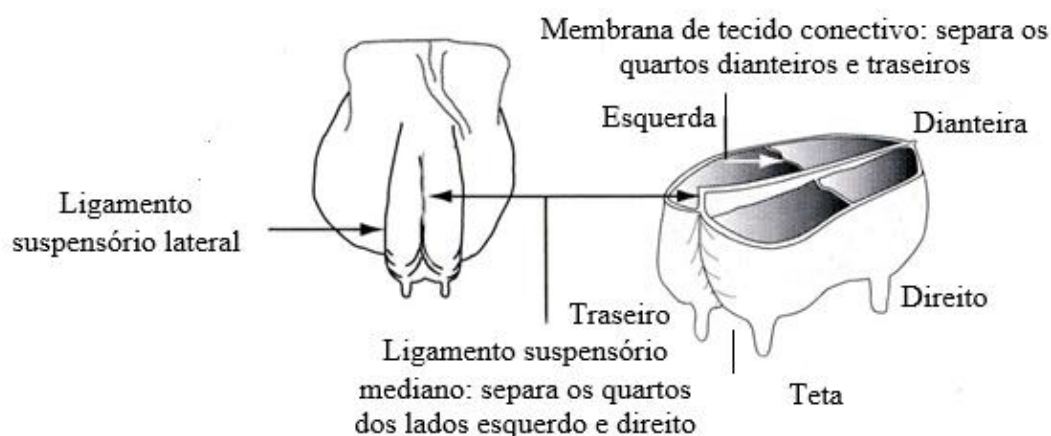


Figura 1 - Sistema de suporte do úbere da vaca e separação dos quartos mamários.

Fonte: Adaptado de Brito e Oliveira (2007).

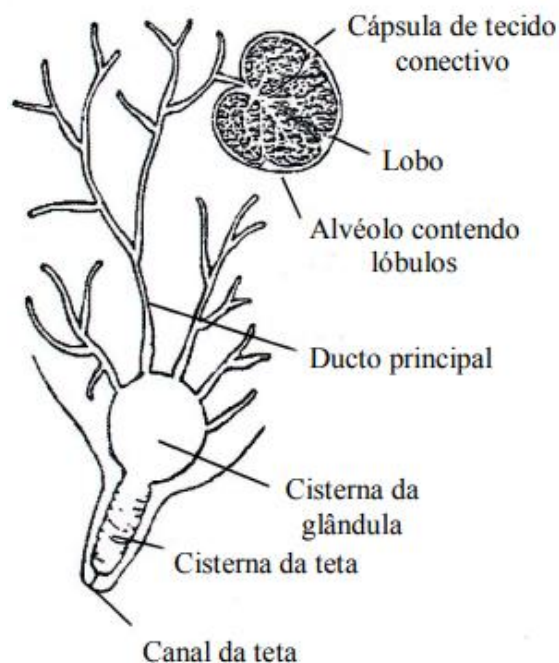


Figura 2 - Esquema da glândula mamária.

Fonte: Adaptado de Brito e Oliveira (2007).

Nas glândulas mamárias existe um tecido secretor, constituído por células epiteliais secretoras de leite, onde estão localizados os alvéolos, os quais são definidos como unidades secretoras de leite, responsáveis pela sua síntese e excreção para os ductos. A camada externa dos alvéolos é envolta por células mioepiteliais que, ao receberem um estímulo como a mão do ordenhador, estimulam a liberação do hormônio ocitocina que chega nos receptores destas células, fazendo com que haja contração e a expulsão do leite (CORRÊA, 2018; LIMA, 2015). O leite secretado segue para os ductos e em seguida para as cisternas da glândula e por meio dos tetos é liberado para o meio externo passando pela cisterna e canal do teto. A síntese para produção do leite é dependente de uma grande quantidade de nutrientes e de hormônios envolvidos na lactação, os quais chegam até as glândulas através da circulação sanguínea presente nos tecidos mamários (CORRÊA, 2018).

Por ser o local no qual a mastite bovina se manifesta, a administração de insumo farmacêutico ativo (IFAs) diretamente nas glândulas mamárias, mediante introdução do produto com aplicador pelo canal do teto, agrega vantagens, tais como redução da dose requerida para o efeito terapêutico; altas doses do IFA no local da infecção; possibilidade de administração de antimicrobianos diretamente no biofilme aderido às glândulas mamárias; minimização da ocorrência de efeitos adversos potencialmente relacionados à administração

sistêmica; e, facilidade de aplicação e baixo custo (CAGNARDI *et al.*, 2010; MARTINS *et al.*, 2016; TOZZETTI *et al.*, 2008).

Fatores como a solubilidade do fármaco, lipofilicidade, grau de ionização, tamanho de partícula e tipo de veículo, bem como fatores relacionados aos animais, como gravidade da mastite e volume de leite produzido pelo animal, interferem no sucesso da farmacoterapia pela via intramamária (GEHRING; SMITH, 2006; WANG *et al.*, 2015). As desvantagens da administração por esta via incluem a possibilidade de infecção ou lesão do canal do teto, a distribuição desigual do IFA nos quartos do úbere e persistência de resíduos de drogas no leite. Há relatos de que, após administração intramamária, podem ser encontrados resíduos de IFAs tanto no leite quanto em outros tecidos o que, em ambos os casos, requer medidas como o descarte do leite durante o tratamento e monitoramento (GEHRING; SMITH, 2006; TIROP; NYAMWEYA; 2013).

A administração intramamária deve ocorrer após o esgotamento completo dos quartos mamários e limpeza e desinfecção dos tetos com álcool etílico 70% p/p. Durante a administração, os tetos devem ser pressionados e massageados em direção ao úbere. Ao final da administração, os tetos devem ser mergulhados em solução antisséptica (LOPES *et al.*, 2020).

Comumente, o tratamento da mastite bovina é baseado na antibioticoterapia mediante administração sistêmica ou local de IFAs, devendo ser iniciado logo após o diagnóstico (ALMEIDA, 2020). Em alguns casos se faz necessário a associação de medicamentos de uso oral ou parenteral a outros administrados por via intramamária, a fim de que seja alcançada maior concentração dos IFAs no úbere e nas glândulas mamárias, com consequente melhora na resposta ao tratamento (LANGONI *et al.*, 2017). Usualmente, as estratégias terapêuticas para o tratamento das infecções intramamárias (IMIs) envolvem a administração de formas farmacêuticas convencionais de liberação imediata durante o período de lactação associadas ou não à formulações convencionais ou de ação prolongada durante o período seco (GRUET *et al.*, 2001).

2.3 FORMAS FARMACÊUTICAS CONVENCIONAS DE USO INTRAMAMÁRIO

Dentre as formas farmacêuticas convencionais conhecidas para administração intramamária, se destacam formas farmacêuticas líquidas e semissólidas, predominantemente

oleosas, uma vez que os antibióticos sintéticos são, na maioria, substâncias pouco solúveis em água (YANG *et al.*, 2019).

Solução é uma forma farmacêutica líquida na qual o fármaco e os demais componentes estão completamente dissolvidos no veículo formando um sistema termodinamicamente estável. As soluções, chamadas de dispersões moleculares, têm aspecto límpido e homogêneo e são, portanto, monofásicas (ALLEN JUNIOR; POPOVICH; ANSEL, 2013; THOMPSON; DAVIDOW, 2013). Soluções de uso intramamário são oleosas. No entanto, no México, há o registro de um produto (Mastiliber®), baseado em derivados vegetais do *Aloe vera*, *Agave mexicana*, *Malaleuca alternifolia*, *Symphytum consolidida* e *Citrus mexicana*, para tratamento e profilaxia da mastite clínica e subclínica, causada por *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *E. coli*, *Shigella*, *Klebsiella* spp., e *Mycoplasma micoides* (EL PRONTUARIO DE ESPECIALIDADE VETERINARIAS, [2022]). No Brasil, também há registro de uma solução baseada no *Aloe vera*, para uso no pós-dipping, com função antisséptica, hidratante, reconstituente tecidual, analgésica, calmante, refrescante e repelente (REINIGEND, [2022]).

Outro tipo de forma farmacêutica líquida, na qual partículas sólidas do fármaco são insolúveis ou minimamente solúveis e estão dispersas em um veículo (aquoso ou oleoso), é chamada suspensão. Suspensão é uma dispersão particulada que apresenta uma fase dispersante (contínua ou externa) e outra dispersa (descontínua ou interna), dando origem a um sistema termodinamicamente instável e que requer agitação imediatamente antes do uso, a fim de assegurar a homogeneidade de doses. A suspensão contém um agente doador de viscosidade e tensoativo, visando formar um sistema floculado, com formação de aglomerados frouxos e formação de grande volume de sedimento, que é de fácil redispersão. Considerando o tamanho das partículas da fase dispersa, as suspensões podem ser classificadas em coloidais (partículas menores que 1 µm) ou grosseiras (partículas com tamanho de 1 µm a 50µm). Suspensões de uso intramamário são preparadas em veículos aquosos ou oleosos (ALLEN JUNIOR; POPOVICH; ANSEL, 2013; THOMPSON; DAVIDOW, 2013).

Entre as formas farmacêuticas semissólidas, as pomadas e os cremes são usualmente administrados pela via intramamária. Pomadas se constituem como produtos consistentes, que possuem uma só fase - oleosa ou hidrofílica, na qual o IFA é disperso por levigação. Enquanto o creme é um sistema emulsionado, formado por uma fase oleosa e uma aquosa, mantidas em estabilidade pela adição de emulsificantes. São preparadas às custas de agitação e calor e possuem agentes espessantes, umectantes e emolientes. Possuem consistência variável, de fluida à viscosa, conforme o teor de água. Apresentam aspecto opaco, cor branco-leitosa, são

lisos, homogêneas, brilhantes e apresentam consistência mole e macia (ALLEN JUNIOR; POPOVICH; ANSEL, 2013; THOMPSON; DAVIDOW, 2013).

Há relatos do uso de géis aquosos delineados para o tratamento da mastite bovina. Géis são dispersões coloidais formadas a partir de uma fase dispersante e uma dispersa, com um ou mais princípios ativos, que na presença de um agente gelificante, comumente polímeros, fornecem consistência para a formulação, dando origem a uma forma farmacêutica semissólida, transparente, viscosa e brilhante (ALLEN JUNIOR; POPOVICH; ANSEL, 2013; THOMPSON; DAVIDOW, 2013). Forno-Bell *et al.* (2021) prepararam um gel contendo extrato liofilizado de *Aloe vera* (600 mg.mL⁻¹) ao qual associaram os antimicrobianos ceftiofur e cloxacilina, visando a obtenção de efeito sinérgico no tratamento da mastite bovina em período de lactação. Formulações contendo associação entre os três IFAs mostraram eficácia no tratamento da mastite causada por *S. aureus*.

2.4 FORMAS FARMACÊUTICAS INOVADORAS DE USO INTRAMAMÁRIO

Os tratamentos convencionais disponíveis atualmente para a mastite bovina não são totalmente efetivos por não apresentarem alta sensibilidade e seletividade e, por deixarem resíduos dos IFAs no leite. Assim, novas estratégias que otimizam a liberação e a eficácia terapêutica, reduzir a dose no local de ação e diminuir a toxicidade sistêmica, vêm sendo continuamente investigadas (GARG; RATH; GOYAL, 2015; GRUET *et al.*, 2001). Neste cenário, formas farmacêuticas inovadoras, fundamentadas em nanocarreadores, vêm sendo idealizadas para administração de ingredientes ativos naturais e sintéticos pela via intramamária. Neculai-Valeanu *et al.* (2021) relatam o desenvolvimento de novos sistemas veiculadores de fármacos e de novos ingredientes ativos que se configuram como opções promissoras para o tratamento da mastite bovina. Entre estes, os autores destacam as pesquisas relacionadas ao delineamento de nanomedicamentos, baseados em nanomateriais e nanopartículas, especialmente, aquelas obtidas por síntese verde e que veiculam derivados vegetais em substituição aos antimicrobianos sintéticos.

Nanopartículas (NPs) são caracterizadas como sistemas carreadores que possuem dimensões inferiores a 1.000 nm, parâmetro de grande relevância para aplicações clínicas, uma vez que agregam inúmeras vantagens. Nanoemulsões (NEs) são definidas como dispersões coloidais com tamanhos de gotículas variando entre 50 a 1.000 nm, compostas por duas fases imiscíveis (aquosa e oleosa), que na presença de um agente tensoativo (iônico ou não-iônico)

dão origem a uma única fase. NEs apresentam-se como sistemas termodinamicamente instáveis e, cineticamente estáveis (CARVALHO *et al.*, 2020; CHHIKARA, 2017).

As nanopartículas lipídicas sólidas (NPLSs) são sistemas coloidais obtidos de lipídeos sólidos, estabilizados por tensoativos, que apresentam estrutura esférica formada por duas camadas, com tamanho médio entre dez e 1.000 nm. As NPLSs são menos sensíveis a degradação química quando comparadas às NEs. Além de alcançarem sítios-ativos específicos no organismo devido à compatibilidade da matriz lipídica com os fosfolipídeos de membrana e da possibilidade de funcionalização da superfície das mesmas, sendo efetivas para transportar ingredientes ativos de natureza hidrofílica e lipofílica, como as NEs. Ao contrário das NPLSs, os carreadores lipídicos nanoestruturados (CLNs) são NPs cujo meio externo é aquoso, estabilizadas por agentes tensoativos na presença de lipídios sólidos estruturais. Nanopartículas poliméricas (NPPs) são aquelas NPs preparadas a partir de polímeros diversos - naturais ou sintéticos, com dimensões de um a 100 nm, originando as nanocápsulas ou nanoesferas. Possuem grande superfície, alta capacidade de carregamento, possibilidade de incorporar IFAs lipofílicos e hidrofílicos, bem como a capacidade de controlar a liberação dos mesmos. As superfícies das NPPs podem ser modificadas ou funcionalizadas com ligantes específicos para direcioná-las, especificamente, para células, tecidos e/ou órgãos. Enquanto que, as nanopartículas metálicas (NPMs) são as NPs preparadas na presença de íons metálicos, principalmente, prata (Ag), óxido de ferro (Fe₂O₃), ouro (Au), zinco (ZnO) e cobre (Cu). Finalmente, lipossomas são NPs formados por dupla camada lipídica composto por fosfolipídios, naturais ou sintéticos, com dimensões que variam entre 25 e 1000 nm (CARVALHO *et al.*, 2020; CHHIKARA, 2017; LINGAYAT; ZAREKAR; SHENDGE, 2017).

Dentre as alternativas terapêuticas baseadas em NPs que vêm sendo estudadas para administração intramamária se destacam as nanoemulsões, as nanopartículas lipídicas sólidas, os carreadores lipídicos nanoestruturados, as nanopartículas poliméricas, as nanopartículas metálicas e os lipossomas (Figura 3) (BULBAKE *et al.*, 2017; GOMES; HENRIQUES, 2016; MEENA *et al.*, 2018; OSONWA *et al.*, 2018).

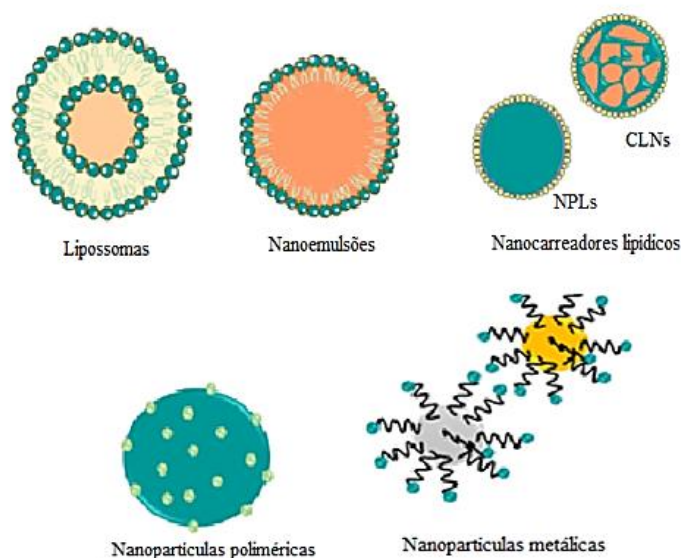


Figura 3 - Imagens representativas de sistemas nanoestruturados para entrega e direcionamento de agentes terapêuticos.

Fonte: Adaptado de Carvalho *et al.* (2020).

Wang *et al.* (2012) prepararam NPLSs de óleo de rícino hidrogenado contendo tilmicosina e avaliaram a atividade antibacteriana sobre *S. aureus* bem como a eficácia terapêutica *in vivo* dos sistemas terapêuticos mediante administração das NPLSs por injeção subcutânea em camundongos fêmeas infectados com *S. aureus*, por infusão no canal do teto. As NPLSs foram capazes de controlar a liberação do fármaco e aumentaram a eficácia terapêutica da tilmicosina, o que foi observado pela redução na contagem de unidades formadoras de colônia e pela diminuição da inflamação.

Santana *et al.* (2016) prepararam NPPs compostas por gotículas formadas por polímero hidrofóbico recobertas por membrana polimérica catiônica e dispersas em meio aquoso, originando nanocápsulas. As nanocápsulas contendo cloxacilina benzatina foram incorporadas em um veículo de suspensão e administradas por infusão intramamária em ovelhas. Animais tratados com o antibiótico em suspensões convencionais foram utilizados como controle. Os resultados mostraram que a nanoencapsulação do antibiótico promoveu o aumento da sua efetividade *in vivo*, auxiliando no controle da mastite subclínica infecciosa.

Alekish *et al.* (2018) avaliaram os efeitos antibacterianos das NPMs de óxido de zinco (NPMs-ZnO) visando uso no tratamento da mastite em ovelhas, frente as cepas bacterianas multirresistentes isoladas de animais com mastite subclínica. Os valores da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração bactericida mínima (CBM) observados para as NPMs de óxido de zinco (ZnO) foram 3,9 e 7,81 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para cepas de *S. aureus*,

respectivamente, e para *E. coli* CIM e CBM foram de 31,25 e 62,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. Os valores encontrados foram satisfatórios, apresentando efeitos antibacterianos, uma vez que ambas as cepas de *S. aureus* e *E. coli* foram suscetíveis às NPMs-ZnO. Os autores consideraram as NPMs adequadas para a finalidade pretendida. Foi estabelecido que a eficácia inibitória de NPMs-ZnO foi altamente dependente de sua concentração e tamanho.

Pinheiro Machado *et al.* (2019) preparam NPPs de poloxamer 188 e lecitina contendo própolis nas concentrações de 5 e 7% p/p, para administração intramamária contra mastite bovina. Os resultados mostraram que as NPs se mostraram promissoras para carrear altas concentrações do extrato de própolis. As NPs apresentaram atividade antimicrobiana acompanhada de citotoxicidade moderada às células estudadas.

Orellano *et al.* (2019) e Orellano *et al.* (2020) relataram o preparo de NPPs de quitosana para uso no tratamento da mastite bovina. Os estudos demonstraram que os nanocarreadores apresentaram potencial antimicrobiano frente aos patógenos causadores da mastite avaliados, uma vez que promoveram danos nas barreiras celulares das bactérias, além de inibição da formação de biofilme bacteriano, sem afetar a viabilidade das células bovinas. A quitosana é um polímero natural de natureza catiônico, ao qual é atribuída atividade antimicrobiana.

Zhou *et al.* (2019) prepararam um gel de tilmicosina incorporada em NPLSs a fim de melhorar a eficácia terapêutica da tilmicosina no tratamento da mastite bovina. A administração de 150 mg ao dia do nanogel nos tetos evidenciou sua eficiência ligeiramente maior quando comparada ao uso da tilmicosina comercialmente disponível, na dose de 300 mg/dia. Os resultados do estudo sugerem que com a administração do nanogel de tilmicosina podem reduzir a dose diária de tilmicosina para tratar a mastite.

Yadav *et al.* (2020) desenvolveram nanopartículas (NPPs) de quitosana contendo ciprofloxacina objetivando o tratamento da mastite bovina. As NPPs promoveram a liberação controlada do IFA na glândula mamária por um maior tempo, mantendo nível adequado no local de ação.

El-Aziz *et al.* (2021) analisaram a potencial atividade antimicrobiana e antibiofilme de nanopartículas metálicas de prata (NPAGs) sozinhas ou associadas ao óleo de canela sobre microrganismos isolados de mastite bovina, visando uso intramamário. Segundo os autores, ocorreram ação antimicrobiana e antibiofilme, sinérgica e aditiva, respectivamente, entre o óleo de canela combinado com as NPAGs. Al Dujaily e Mahmood (2021) analisaram a eficiência de NPAGs isoladas e em combinação com gentamicina no tratamento intramamário de mastite induzida por *S. aureus*. Os resultados mostraram a ocorrência de evolução dos sinais clínicos

frente ao tratamento com as NPs de Ag isoladas ou em combinação com a gentamicina. Quando administradas de forma isolada, as NPAs promoviam um estresse oxidativo nas células bacterianas, causando danos ao DNA e impedindo a reprodução bacteriana. Na administração conjunta das NPAs com a gentamicina observou-se a recuperação total com ausência de isolamento de *S. aureus* nas glândulas mamárias de cabras infectadas. Esses resultados podem indicar uma ação sinérgica entre as AgNPs e o fármaco gentamicina, pois essas partículas podem ser facilitadas pela ação desses antimicrobianos.

Ranjani *et al.* (2022) desenvolveram géis baseados em NPs de tamanho coloidais contendo derivados vegetais de *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum verum*, *Embllica officinalis*, *Terminalia belerica*, *Terminalia chebula* e *Cymbopogon citratus*. Os sistemas coloidais foram caracterizados físico-quimicamente e testados por meio de ensaios microbiológicos, validando sua atividade antibacteriana. Os resultados encontrados demonstraram que as NPs coloidais foram capazes de inibir o crescimento de cepas patogênicas de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, com atividade bacteriostática, bactericida e antibiofilme.

Outros exemplos de sistemas de liberação de fármacos inovadores para uso intramamário são os dispositivos para inserção e os sistemas de dispersão sólida (SDSs). Dispositivos para inserção de gelificação *in situ* podem ser projetados para permanecer em contato com tecidos biológicos por longos períodos de tempo (semanas a meses), devendo ser, portanto, biocompatíveis e atóxicos. Bhattarai *et al.* (2021) prepararam sistemas para inserção nos tetos a partir do óxido de polietileno (PEO) com diferentes concentrações de vários polímeros hidrofílicos e excipientes modificadores de liberação. As formulações de gelificação *in situ* continham a hidroxipropilmetilcelulose ou carboximetilcelulose e solventes em proporções específicas foram biocompatíveis em concentrações mais altas com células MAC-T em comparação com alginatos. Os autores observaram que quando combinados, os excipientes e solventes poliméricos dão origem a uma formulação de gelificação *in situ*, as quais são biocompatíveis com a estrutura mamária e não citotóxicas. Todas as formulações preparadas se apresentaram como potenciais veiculadores do fármaco modelo pela via intramamária, com vistas à liberação sustentada.

Wang *et al.* (2015) desenvolveram e avaliaram formulações de SDSs contendo lasalocida micronizada para tratamento da mastite bovina. Os SDSs foram administrados em um modelo bovino com o patógeno da mastite *S. uberis*, a fim de determinar a eficácia terapêutica das formulações. Os SDSs foram efetivos no aumento da solubilidade e da

dissolução da lasalocida, favorecendo o aumento da efetividade da formulação no tratamento intramamário, o que foi evidenciado pelo teste de solubilidade cinética.

2.5 PRODUTOS DESTINADOS À ADMINISTRAÇÃO INTRAMAMÁRIA PARA TRATAMENTO DA MASTITE BOVINA DISPONÍVEIS COMERCIALMENTE

Antimicrobianos sozinhos ou associados à anti-inflamatórios são as principais classes farmacológicas de interesse para administração intramamária. Há diversos medicamentos disponíveis no mercado nacional para tratamento da mastite bovina. Alguns exemplos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Principais antimicrobianos e formas farmacêuticas de administração IM disponíveis no mercado nacional para o tratamento da mastite bovina.

Antimicrobiano	IFAs	Forma farmacêutica	Nomes comerciais
Aminoglicosídeos	Gentamicina Neomicina	Suspensão Suspensão	Gentatec® Rilexine®
Beta-lactâmicos	Amoxicilina Ampicilina Benzilpenicilina Cefalexina Cefalônio	Suspensão Suspensão Suspensão Suspensão Suspensão	Amoclox® S Bovigam® L Mastijet® VS Ubrolexin® Cepravin®
Beta-lactâmicos	Cefoperazona Cefquinoma Ceftiofur Cloxacilina	Suspensão Pomada Suspensão Suspensão	Cefamix® Cobactan® VL Spectramast® LC Vaseclox® VS
Macrolídeos	Espiramicina e Neomicina Tilosina	Solução Solução	Newmast® Fumast® Tylan®
Polipeptídeos	Bacitracina	Suspensão	Neomastic®
Quinolonas	Ciprofloxacina	Suspensão	Ciprolac®
Sulfas	Sulfadiazina Trimetoprina	Suspensão Suspensão	Mastical® Supronal® L
Tetraciclinas	Oxitetraciclina Tetraciclina	Solução Suspensão	Promastic® Mastijet® Forte

Fonte: Adaptado de Beloni (2021).

Os produtos são disponibilizados em frascos multidoses com seringas e/ou ponteiras e cânulas descartáveis ou, são comercializados acondicionados em seringas de dose única, para administração individual nos tetos. As ponteiras, cânulas ou seringas unitarizadas devem ser descartadas após o uso. De acordo com a instrução normativa nº 26/2009, todos os medicamentos de administração intramamária devem ser estéreis, devendo ser utilizados logo após abertos (BRASIL, 2009).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A mastite bovina é uma patologia que demanda tratamento complexo e que quando não controlada, além de gerar grandes perdas econômicas para o setor produtivo de leite pode afetar tanto o bem estar animal quanto a saúde humana, se tornando um problema de saúde pública. Os microrganismos envolvidos na mastite podem causar infecções crônicas, dificultando o tratamento e a erradicação da doença em um rebanho, o que requer investimentos em pesquisas que visam o desenvolvimento de novos IFAs, assim como de formas farmacêuticas inovadoras. Há diversos produtos no mercado nacional e internacional destinados à administração intramamária, que pode ser vantajosa para tratar a mastite bovina por reduzir a necessidade de altas doses de IFAs, otimizar o contato e o tempo de contato destes com o biofilme formado nas glândulas mamárias e, minimizar efeitos adversos relacionados ao uso sistêmico. Soluções, suspensões, pomadas e cremes, estão disponíveis comercialmente para infusão intramamária. Porém, dado o grande interesse do setor agropecuário, novos sistemas de liberação, nanoparticulados ou não, vêm sendo desenvolvidos para veicular fármacos conhecidos ou novas moléculas, sintéticas ou naturais, sozinhas ou associadas, pela via intramamária, na tentativa de otimizar o tratamento da mastite bovina.

4 REFERÊNCIAS

ALANY, R. G. *et al.* **Intramammary delivery technologies for cattle mastitis treatment. springer.** In: RATHBONE M. J. and MCDOWELL A. (eds.), Long acting animal health drug products, fundamentals and applications, advances in delivery science and technology, p. 295-397, 2013.

AL DUJAILY, A. H.; MAHMOOD, A. K. The effectiveness of biogenic silver nanoparticles in the treatment of caprine mastitis induced by *Staphylococcus aureus*. **Iraqi Journal of Veterinary Sciences**, v. 35, n. 3, p. 73-78, 2021.

ALEKISH, M. *et al.* *In vitro* antibacterial effects of zinc oxide nanoparticles on multiple drug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*: an alternative approach for antibacterial therapy of mastitis in sheep. **Veterinary World**, v. 11, n. 10, p. 1428-1432, 2018.

ALLEN JUNIOR, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 9. ed. Porto Alegre: Artmed. 2013. 716p.

ALMEIDA, T. V. **Fatores de risco para mastite bovina e avaliação fenotípica de resistência antimicrobiana**. 2020. 81 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, Goiânia, 2020.

ASFAW, M.; NEGASH, A. Review on impact of bovine mastitis in dairy production. **Advances in Biological Research**, v. 11, n. 3, p. 126-131, 2017.

BANDOCH, P.; MELO, L. S. de. Prevalência de mastite bovina por *Staphylococcus aureus*: uma revisão bibliográfica. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 17, n. 1, p. 47-51, 2011.

BELONI, M. V. *et al.* Resistência antimicrobiana em *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite bovina em rebanhos brasileiros: uma revisão dos desafios no contexto da saúde única. In: SILVA, M. A. *et al.* **Tópicos especiais em ciência animal X**, 1. ed. Alegre: CAUFES, 2021, p. 198-216.

BHATTARAI, S. *et al.* On the biocompatibility and teat retention of in situ gelling intramammary formulations: cattle mastitis prevention and treatment. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 1732, p. 1-18, 2021.

BRASIL. Instrução normativa nº 26, de 9 de julho de 2009. Regulamento técnico para a fabricação, o controle de qualidade, a comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)**. Brasília, 10 jul. 2009. Seção1, p. 1-9.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. v. 1. 6. ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 903 p. 2019

BRITO, J. R. F.; OLIVEIRA, R. S. Saúde do úbere. uma revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 1, n. 1, p. 67-90, 2007.

BRITO, M. A. *et al.* **Mastite**: agência de informação Embrapa. Brasília: Embrapa. Disponível em:
<https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_202_21720039247.html>. Acesso em: 19 mai. 2022.

BULBAKE, U. *et al.* Liposomal formulations in clinical use: an updated review. **Pharmaceutics**, v. 9, n. 12, p. 1-33, 2017.

- CAGNARDI, P. *et al.* Cefoperazone sodium preparation behavior after intramammary administration in healthy and infected cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 9, p. 4105-4110, 2010.
- CARVALHO, N. T. M. V. **Análise do benefício clínico e económico da cultura bacteriana em vacaria no apoio ao tratamento da mastite clínica**. 2020. 51 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2020.
- CARVALHO, S. G. *et al.* Advances and challenges in nanocarriers and nanomedicines for veterinary application. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 580, p. 1-15, 2020.
- CHHIKARA, B. S. Current trends in nanomedicine and nanobiotechnology research. **Journal of Materials NanoScience**, v. 4, n. 1, p. 19-24, 2017.
- CORREIA, C. S. S. **Nanoprópolis no tratamento da mastite subclínica bovina: avaliação *in vivo* da eficácia via intramamária durante o período de lactação**. 2018. 90 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Agroecossistemas). Programa de Pós-graduação em Agroecossistemas, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis, 2018.
- COSER, S. H.; LOPES, M. A., COSTA, G. M. Mastite bovina: controle e prevenção. **Boletim Técnico**, v. 1, n. 93, p. 1-30, 2012.
- EL-AZIZ, N. K. A. *et al.* Antimicrobial and antibiofilm potentials of cinnamon oil and silver nanoparticles against *Streptococcus agalactiae* isolated from bovine mastitis: new avenues for countering resistance. **BMC Veterinary Research**, v. 17, n. 136, p. 1-14, 2021.
- EL PRONTUARIO DE ESPECIALIDADES VETERINARIAS. **Diccionario Veterinario PLM**, 2022. Disponível em: <<https://www.diccionarioveterinariopl.com/buscador/Mastiliber>>. Acesso em: 22 jun. 2022.
- FERREIRA, J. C. *et al.* Comparative analysis of four commercial on-farm culture methods to identify bacteria associated with clinical mastitis in dairy cattle. **PloS ONE**, v. 13, n. 3, p. 1-15, 2018.
- FONSECA, M. E. B. da. *et al.* Mastite bovina: revisão. **Pubvet**, v. 15, n. 2, p. 1-18, 2021.
- FORNO-BELL, N. *et al.* Efficacy prediction of four pharmaceutical formulations for intramammary administration containing *Aloe vera* (L.) Burm. f. combined with ceftiofur or cloxacillin in lactating cows as an alternative therapy to treat mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, n. 572568, p. 1-12, 2021.
- GARG, T.; RATH, G.; GOYAL, A. K. Colloidal drug delivery systems: current status and future directions. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 32, n. 2, p. 89-147, 2015.
- GEHRING, R.; SMITH, G. W. An overview of factors affecting the disposition of intramammary preparations used to treat bovine mastitis. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 29, n. 4, p. 237-241, 2006.

GOMES, F.; HENRIQUES, M. Control of bovine mastitis: old and recent therapeutic approaches. **Current Microbiology**, v. 72, n. 4, p. 377-382, 2016.

GRUET, P. *et al.* Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 50, n. 3, p. 245-259, 2001.

GUIMARÃES, B. **Contagem de células somáticas do leite: definição, importância e como reduzir**. Rehagro Blog. Outubro, [2018]. Disponível em: <https://rehagro.com.br/blog/contagem-de-celulas-somaticas-do-leite-definicao-importancia-e-como-reduzir/>. Acesso em: 07 jun. 2021.

KUMMER, R. M. **Manejo da ordenha e prevenção da mastite bovina**. 2019. 44 f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária. Porto Alegre, 2019.

JAMALI, H. *et al.* Invited review: incidence, risk factors, and effects of clinical mastitis recurrence in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 6, p. 4729-4746, 2018.

LANGONI, H. *et al.* Considerações sobre o tratamento das mastites. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 11, p. 1261-1269, 2017.

LIMA, J. A. M. **Avaliação do aumento da frequência de ordenhas no início da lactação sobre desempenho produtivo e dinâmica da renovação celular mamária em vacas leiteiras**. 2015. 119 f. Tese (Doutorado em Zootecnia). Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

LINGAYAT, V. J.; ZAREKAR, N. S.; SHENDGE, R. S. Solid lipid nanoparticles: a review. **Nanoscience and Nanotechnology Research**, v. 4, n. 2, p. 67-72, 2017.

LOPES, T. S. *et al.* Use of plant extracts and essential oils in the control of bovine mastitis. **Research in Veterinary Science**, v. 131, n. 1, p. 186-193, 2020.

MARTINS, T. *et al.* Intramammary treatment with gentamicin in lactating cows with clinical and subclinical mastitis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 4, p. 283-289, 2016.

MEENA, N. S. *et al.* Applications of nanotechnology in veterinary therapeutics. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 6, n. 2, p. 167-175, 2018.

MELLO, P. L. *et al.* *Staphylococcus* spp. isolated from bovine subclinical mastitis in different regions of Brazil: molecular typing and biofilm gene expression analysis by RT-qPCR. **Antibiotics**, v. 9, n. 12, p. 1-17, 2020.

MUSHTAQ, S. *et al.* Bovine mastitis: an appraisal of its alternative herbal cure. **Microbial Pathogenesis**, v. 114, p. 357-361, 2018.

NECULAI-VALEANU, A. S. *et al.* Nanomaterials and essential oils as candidates for developing novel treatment options for bovine mastitis. **Animals**, v. 11, n. 1625, p.1-21, 2021.

- ORELLANO, M. S. *et al.* Chitosan nanoparticles enhance the antibacterial activity of the native polymer against bovine mastitis pathogens. **Carbohydrate Polymers**, v. 213, p. 1-9, 2019.
- ORELLANO, M. S. *et al.* Role of micellar interface in the synthesis of chitosan nanoparticles formulated by reverse micellar method. **Colloids and Surfaces**, v. 599, p. 1-12, 2020.
- OSONWA, U. E. *et al.* Formulation and evaluation of therapeutic potential of nanoemulsion of a blend of antimicrobial oils. **Tropical Journal of Natural Product Research**, v. 2, n. 2, p. 67- 73, 2018.
- PINHEIRO MACHADO, G. T. *et al.* Development of propolis nanoparticles for the treatment of bovine mastitis: *in vitro* studies on antimicrobial and cytotoxic activities. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 99, n. 4, p. 713-723, 2019.
- PROCÓPIO, T. F. *et al.* Looking for alternative treatments for bovine and caprine mastitis: evaluation of the potential of *Calliandra surinamensis* leaf pinnulae lectin (CasuL), both alone and in combination with antibiotics. **Microbiology Open**, v. 8, n. 11, p. 1-11, 2019.
- RANJANI, S. *et al.* Novel polyherbal nanocolloids to control bovine mastitis. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 194, n. 1, p. 246–265, 2022.
- REINIGEND TECNOLOGIA EM HIGIENIZAÇÃO. Sanigard TCC, 2022. Disponível em: <<https://reinigend.com.br/sanigard-tcc>>. Acesso em: 17 out. 2022.
- REIS, N. F. F. *et al.* Farm microbiological milk culture: study case on cow performance, financial and economic aspects. **Ciência Rural**, v. 52, n. 11, p. 1-14, 2022.
- SANTANA, R. C. M. *et al.* Uso de antimicrobiano nanoparticulado para o tratamento da mastite subclínica de ovelhas de corte no período seco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 9, p. 826-830, 2016.
- SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Controle da mastite e qualidade do leite: desafios e soluções**. São Paulo: Edição dos autores. 2019. 301p.
- SANTOS, R. P. *et al.* Molecular typing and antimicrobial susceptibility profile of *Staphylococcus aureus* isolates recovered from bovine mastitis and nasal samples. **Animals**, v. 10, n. 11, p. 1-9, 2020.
- TIROP, L. J.; NYAMWEYA, N. N. Assessment of veterinary pharmaceutical products registered in Kenya based on their routes of administration and dosage forms. **A Journal of The Kenya Veterinary Association**, v. 37, n. 1, p. 1-8, 2013.
- THOMPSON, J. E.; DAVIDOW, L.W. **A prática farmacêutica na manipulação de medicamentos**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 752 p.
- TOZZETTI, D. S. *et al.* Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas – revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 6, n. 10, p. 1-7, 2008.

WANG, X. F. *et al.* Enhancement of antibacterial activity of tilmicosin against *Staphylococcus aureus* by solid lipid nanoparticles *in vitro* and *in vivo*. **The Veterinary Journal**, v. 191, n. 1, p. 115–120, 2012.

WANG, W. *et al.* Development of intramammary delivery systems containing lasalocid for the treatment of bovine mastitis: impact of solubility improvement on safety, efficacy, and milk distribution in dairy cattle. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 2015, n. 9, p. 631-642, 2015.

YADAV, R. K. *et al.* Evaluation of α -linolenic acid-based intramammary nanosuspension for treatment of subclinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n.3, p 2701-2706, 2020.

YANG, W. *et al.* Effective treatment of bovine mastitis with intramammary infusion of *Angelica dahurica* and *Rheum officinale* extracts. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2019, p. 1-8, 2019.

ZHOU, K. *et al.* Enhanced treatment effects of tilmicosin against *Staphylococcus aureus* cow mastitis by self-assembly sodium alginate-chitosan nanogel. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 10, p. 1-17, 2019.



ISBN: 978-65-86981-36-0

CDL



9 786586 981360