



REFERÊNCIAS, MÉTODOS E TECNOLOGIAS ATUAIS NA MEDICINA VETERINÁRIA 2

Alécio Matos Pereira
Cledson Gomes de Sá
Danrley Martins Bandeira
(Organizadores)

Atena
Editora

Ano 2021



REFERÊNCIAS, MÉTODOS E TECNOLOGIAS ATUAIS NA MEDICINA VETERINÁRIA 2

Alécio Matos Pereira
Cledson Gomes de Sá
Danrley Martins Bandeira
(Organizadores)

Atena
Editora

Ano 2021

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Assistentes editoriais

Natalia Oliveira

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremo

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

Imagens da capa

iStock

Edição de arte

Luiza Alves Batista

Revisão

Os autores

2021 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2021 Os autores

Copyright da edição © 2021 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



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

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

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

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

Profª Drª Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Arnaldo Oliveira Souza Júnior – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Crisóstomo Lima do Nascimento – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros
Prof. Dr. Humberto Costa – Universidade Federal do Paraná
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. José Luis Montesillo-Cedillo – Universidad Autónoma del Estado de México
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas
Profª Drª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Miguel Rodrigues Netto – Universidade do Estado de Mato Grosso
Prof. Dr. Pablo Ricardo de Lima Falcão – Universidade de Pernambuco
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Ribeiro Simon Cavalcanti – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva – Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Jayme Augusto Peres – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro – Universidade do Vale do Sapucaí
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Welma Emidio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Profª Drª Ana Grasielle Dionísio Corrêa – Universidade Presbiteriana Mackenzie
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann Junior – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Sidney Gonçalo de Lima – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Linguística, Letras e Artes

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Profª Drª Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Edna Alencar da Silva Rivera – Instituto Federal de São Paulo
Profª Drª Fernanda Tonelli – Instituto Federal de São Paulo,
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Referências, métodos e tecnologias atuais na medicina veterinária 2

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Mariane Aparecida Freitas
Indexação: Gabriel Motomu Teshima
Revisão: Os autores
Organizadores: Alécio Matos Pereira
Danrley Martins Bandeira
Cledson Gomes de Sá

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

R332 Referências, métodos e tecnologias atuais na medicina veterinária 2 / Organizadores Alécio Matos Pereira, Danrley Martins Bandeira, Cledson Gomes de Sá. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2021.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-5983-379-5
DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.795212008>

1. Medicina veterinária. I. Pereira, Alécio Matos (Organizador). II. Bandeira, Danrley Martins (Organizador). III. Sá, Cledson Gomes de (Organizador). IV. Título.
CDD 636

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

APRESENTAÇÃO

Novas tecnologias estão sendo inseridas todos os dias nas diversas profissões, e na medicina veterinária não é diferente, estudantes e profissionais já experientes estão tentando que se adequar aos novos tempos, onde a pesquisa realizada pelas universidades e outros centros de pesquisa voltado para medicina veterinária, desenvolve novas técnicas de abordagem aos problemas que sempre existiram, técnicas essas que visam melhorar o tratamento de enfermidades com métodos menos invasivos e mais eficazes no prognósticos dos pacientes.

No entanto o domínio de novas técnicas requer mais especialização dos médicos veterinários, um bom exemplo é a acupuntura que vem garantindo cada vez mais espaço dentro da Medicina veterinária, voltada principalmente para o tratamento de traumas musculares, com o objetivo de minimizar as dores e o sofrimento do animal até sua total recuperação.

Nesse contexto é mais fácil observar a importância do emprego de novas técnicas de abordagem na área clínica, esse capítulo trás dezesseis trabalhos abordando o emprego e a pesquisa de novas técnicas de tratamento das mais diversas patologias na qual os animais são acometidos, fazendo com que profissionais já estabelecidos no mercado de trabalho busquem atualizações e fazendo com que novos médicos saiam da academia cada vez mais especializados.

Alécio Matos Pereira
Danrley Martins Bandeira
Cledson Gomes de Sá

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

ACUPUNTURA ADJUVANTE AO TRATAMENTO DE TENDINITE EM UM EQUINO

Andriélly de Oliveira de Moura

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7952120081>

CAPÍTULO 2..... 3

ASSESSMENT OF BONE TURNOVER MARKERS VARIATIONS ALONG INDUCTION OF OSTEOPOROSIS IN THE GLUCOCORTICOID TREATED OVARECTOMIZED SHEEP MODEL

José Arthur de Abreu Camassa

Vera Raquel Vaz Barros

Pedro Miguel Sousa Babo

Rui Luís Gonçalves Reis

Maria Manuela Estima Gomes

Jorge Manuel Teixeira de Azevedo

Carlos Alberto Antunes Viegas

Maria Isabel Ribeiro Dias

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7952120082>

CAPÍTULO 3..... 25

CISTO ESPLÊNICO NÃO PARASITÁRIO EM *Mugil liza*

Juliana Murasaki

Maiara Boieng

Flávia Zandoná Puchalski

Elizabeth Schwegler

Juliano Santos Gueretz

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7952120083>

CAPÍTULO 4..... 31

EMPREGO DA ABORDAGEM SUBESCALÊNICA PARA REALIZAÇÃO DE BLOQUEIO DO PLEXO BRAQUIAL ÀS CEGAS EM CÃO – RELATO DE CASO

Maria Franciscarla Nascimento Moura

Fernanda Vieira Henrique

Jardel de Azevedo Silva

Andressa Krízia Soares Emiliano

Victor Manuel de Lacerda Freitas

Diana de Azevedo Lima

Tallyson Medeiros Gomes

Ermanno Lucena de Oliveira

Pedro Isidro da Nóbrega Neto

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7952120084>

CAPÍTULO 5..... 40

ESOFAGOTOMIA PARA CORREÇÃO DE OBSTRUÇÃO POR CORPO ESTRANHO EM

CÃO – RELATO DE CASO

Caroline Sena Macêdo
Luiz Gonzaga Gomes de Oliveira Junior
Naila Fernanda Moura dos Santos
Rebeca Samara Assis dos Santos
Hayla Isabely Nakauth dos Santos

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7952120085>

CAPÍTULO 6..... 43

ESTRESSE TÉRMICO POR ALTAS TEMPERATURAS NO CONFINAMENTO, ESTRATÉGIAS PARA AMENIZAR

Gustavo Cremona Batista
Cleia Maria Gisler Siqueira
Juliane Pintos Ferreira
João Pedro Gonçalves Severo
Amanda Ferreira Borba

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7952120086>

CAPÍTULO 7..... 51

GATOS DOMESTICOS CON HIDATIDOSIS POLIQUISTICA ABDOMINAL EN PATAGONIA SUR ARGENTINA

Jensen Oscar
Gertiser María Laura
Torrise Claudio
Maglioco Andrea Florencia
Fuchs Alicia Graciela
Avila Héctor Gabriel

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7952120087>

CAPÍTULO 8..... 61

IMPACTAÇÃO DE ÍLEO EM EQUINO DA RAÇA BRASILEIRO DE HIPISMO: RELATO DE CASO

Larissa Vieira Garcia
Júlia Girardi Townsend
Valesca Peter dos Santos
Micael Feliciano Machado Lopes
Fernando Guimarães Munhoz
Ilusca Sampaio Finger

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7952120088>

CAPÍTULO 9..... 63

ISOLAMENTO DE *Pseudomonas Aeruginosa* EM TESTUDINES

Karoline Vintureli Felício
Thiago Francisco Costa Solak
Rodrigo Antonio Martins de Souza
Fernanda Maria Silva Schmickler
Adriano de Oliveira Torres Carrasco

Amanda Keller Siqueira
Meire Christina Seki

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.7952120089>

CAPÍTULO 10..... 69

O EMPREGO DA INJEÇÃO INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDE (ICSI) EM DIFERENTES ESPÉCIES

Rógenes Ferreira Caetano
Dawys Elísio de Oliveira Peroba
Gabriela Liberalino Lima
Karen Noronha Sarmento
Márcio Calixto Matias
Ana Claudia Avila Mendonça de Lyra
Tânia Valeska Medeiros Dantas Simões
Gilsan Aparecida de Oliveira
Raíssa Karolliny Salgueiro Cruz
Valesca Barreto Luz

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.79521200810>

CAPÍTULO 11 79

TERAPIA CELULAR COM CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS EM ANIMAIS COM HIPOPLASIA DE MEDULA ÓSSEA

Victor Moraes Amorim
Patricia Furtado Malard
Hilana dos Santos Sena Brunel

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.79521200811>

CAPÍTULO 12..... 88

TRATAMENTO HOMEOPÁTICO, REABILITAÇÃO E REINTRODUÇÃO À VIDA-LIVRE DE CARACARA *PLANCUS* POLIFRATURADO EM FASE JUVENIL

Julio Cesar Fernandes de Lima
Thiago Francisco da Costa Solak
Milena Lozove Grein da Silva
Rodrigo Antonio Martins de Souza
Adriano de Oliveira Torres Carrasco

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.79521200812>

CAPÍTULO 13..... 94

TRATAMENTO TÓPICO CONTRA *Sarcoptes scabiei* EM *DIDELPHIS AURITA* COM EXTRATO AQUOSO DE PRÓPOLIS VERDE

Yasmin Stangl Von Czekus
Julia Hasselmann Barros
Mylena Katarina Marques Vitória
Marilaine Carlos de Sousa
Tiago da Cunha Peixoto
Kathleen Ramos Deegan
Leane Souza Queiroz Gondim

PaulaVELOZO Leal

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.79521200813>

CAPÍTULO 14..... 104

TRATAMENTO, REABILITAÇÃO E REINTRODUÇÃO À NATUREZA DE MAZAMA *BORORO* (DUARTE 1996) COM FRATURAS EM CHIFRES

Milena Lozove Grein da Silva

Thiago Francisco da Costa Solak

Julio Cesar Fernandes de Lima

Rhuann Carlo Viero Taques

Rodrigo Antonio Martins de Souza

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.79521200814>

CAPÍTULO 15..... 112

USO DA OZÔNIOterapia COMO ADJUVANTE NO TRATAMENTO DE SÍNDROME CÓLICA EQUINA: RELATO DE CASO

Láís Cecato Moura Leal

Kamila Ferraresi Zanotelli

Andressa da Silva Alves

Caroline Clemente de Almeida

Victória Galvão Leoni

Flávia de Almeida Lucas

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.79521200815>

CAPÍTULO 16..... 115

ANÁLISE COMPARATIVA SOBRE OS EFEITOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE COPAÍBA E ÓLEO DE GIRASSOL OZONIZADO EM UM MODELO EXPERIMENTAL DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM RATOS

Erick Ewdrill Pereira de Macêdo

Vanessa Foloni Torres

Júlia Bárbara Milsoni

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.79521200816>

SOBRE OS ORGANIZADORES 127

ÍNDICE REMISSIVO..... 128

ACUPUNTURA ADJUVANTE AO TRATAMENTO DE TENDINITE EM UM EQUINO

Data de aceite: 02/08/2021

Data de submissão: 06/05/2021

Andriélly de Oliveira de Moura

Universidade da Região da Campanha
URCAMP/Campus Alegrete-RS
Alegrete - Rio Grande do Sul
<http://lattes.cnpq.br/4281091097620081>

RESUMO: A acupuntura pode ser definida como a estimulação de pontos predeterminados e específicos no organismo para alcançar efeito terapêutico ou homeostático. A tendinite equina é um importante causador de perdas em equinos, em decorrência de diversos fatores, como o grande esforço físico, conformação, estresse, idade e lesões recorrentes, comprometendo assim o grau de exigência na atividade atlética e a futura performance do animal. O objetivo do presente trabalho é relatar um caso de tendinite dos flexores em um equino e o uso da acupuntura como nova alternativa terapêutica. Foi atendido um equino, macho, da raça Crioula, pesando 450 kg, com oito anos de idade. Durante a anamnese, a principal queixa do proprietário era de claudicação frequente, bem como o animal apresentava-se nervoso e agressivo. No exame clínico, o mesmo apresentava dor a palpação do membro torácico, sobre os tendões flexores, bem como calor, além de claudicação dos membros torácicos. Como exame complementar, realizou-se radiografia do membro torácico, sendo observada área de radiodensidade diminuída

na bainha do tendão flexor, sugerindo processo inflamatório crônico. Com base na anamnese, exame clínico e complementar, foi estabelecido o diagnóstico clínico de tendinite. A abordagem terapêutica pensada inicialmente, foram de 12 sessões de acupuntura e fisioterapia, além de Fenilbutazona (2,2 mg/kg⁻¹, v.o.), por 12 dias. Inicialmente, colocavam-se compressas geladas sobre o membro torácico por 30 minutos, objetivando vasoconstrição. Logo, compressas quentes sobre o membro por mais 30 minutos, objetivando vasodilatação. No período de uma hora entre as compressas, eram efetivados pontos de acupuntura. Observou-se rapidamente a cada sessão, melhora gradativa do paciente, com notável diminuição das dores, ausência de claudicação e um equino relaxado durante as sessões. A partir do terceiro dia, após avaliação clínica, suspendeu-se o uso da Fenilbutazona, permanecendo com o protocolo de acupuntura, iniciando a partir da sétima sessão, sessões de alongamentos em conjunto. Após 12 dias de tratamento e plena recuperação, o animal recebeu alta. A acupuntura e fisioterapia tem ganhado cada vez mais espaço dentro da Medicina Veterinária, tendo como objetivos, atenuar as dores decorrente de lesões, aliviar o estresse, bem como, auxiliar no sistema neuroendócrino, possuindo efeitos de modificação da concentração plasmática do cortisol e liberação de endorfinas. Conclui-se com o presente caso que o tratamento com base na utilização de acupuntura, anti-inflamatório e fisioterapia foi eficiente para a melhora clínica do animal.

PALAVRAS-CHAVE: Acupuntura; Equino;

Tendinite equina.

ACUPUNCTURE ASSISTANT TO THE TREATMENT OF TENDINITIS IN AN EQUINE

ABSTRACT: Acupuncture can be defined as the stimulation of predetermined and specific points in the body to achieve therapeutic or homeostatic effect. Equine tendonitis is an important cause of losses in horses, due to several factors, such as great physical effort, conformation, stress, age and recurrent injuries, thus compromising the degree of demand in the athletic activity and the future performance of the animal. The aim of the present study is to report a case of tendonitis of the flexors in an horse and the use of acupuncture as a new therapeutic alternative. A male Crioula horse, weighing 450 kg, was eight years old. During the anamnesis, the main complaint of the owner was frequent lameness, and the animal was nervous and aggressive. On clinical examination, he presented pain on palpation of the thoracic limb, on the flexor tendons, as well as heat, in addition to limping of the thoracic limbs. As a complementary exam, a chest X-ray was performed, with an area of decreased radiodensity in the flexor tendon sheath, suggesting a chronic inflammatory process. Based on anamnesis, clinical and complementary examination, a clinical diagnosis of tendonitis was established. The therapeutic approach initially thought was 12 sessions of acupuncture and physiotherapy, in addition to Phenylbutazone (2.2 mg / kg-1, v.o.), for 12 days. Initially, cold compresses were placed over the thoracic limb for 30 minutes, aiming at vasoconstriction. Then, hot compresses on the limb for another 30 minutes, aiming at vasodilation. Within an hour between compresses, acupuncture points were performed. It was observed quickly at each session, gradual improvement of the patient, with a noticeable decrease in pain, absence of lameness and a relaxed horse during the sessions. From the third day, after clinical evaluation, the use of Phenylbutazone was suspended, remaining with the acupuncture protocol, starting from the seventh session, stretching sessions together. After 12 days of treatment and full recovery, the animal was discharged. Acupuncture and physiotherapy have been gaining more and more space within Veterinary Medicine, aiming to alleviate pain resulting from injuries, relieve stress, as well as assist in the neuroendocrine system, with effects of modifying the plasma concentration of cortisol and releasing endorphins. It is concluded with the present case that the treatment based on the use of acupuncture, anti-inflammatory and physical therapy was efficient for the clinical improvement of the animal.

KEYWORDS: Acupuncture; Equine; Equine tendonitis.

REFERÊNCIAS

Angeli L A, Joaquim F G J, Luna L P S. **Acupuntura aplicada á medicina esportiva equina.** Rev. Acad., Curitiba, n.3,v.5, p. 325-333, jul./set. 2007.

Souza, Nicole ruas. **Relação entre a reatividade de pontos de acupuntura e atividade física com a afecções ortopédicas determinadas por exames de imagens em equinos.** 2015. 90f. Tese de pós graduação – Universidade Estadual Paulista / Facul. de Med. Veterinária e zootecnia. Botucatu – SP. 2015

ASSESSMENT OF BONE TURNOVER MARKERS VARIATIONS ALONG INDUCTION OF OSTEOPOROSIS IN THE GLUCOCORTICOID TREATED OVARIECTOMIZED SHEEP MODEL

Data de aceite: 02/08/2021

José Arthur de Abreu Camassa

Department of Veterinary Sciences, School of Agrarian and Veterinary Sciences (ECAV), University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal
<http://orcid.org/0000-0002-3734-2798>

Vera Raquel Vaz Barros

3B's Research Group, I3Bs – Research Institute on Biomaterials, Biodegradables and Biomimetics, University of Minho, Headquarters of the European Institute of Excellence on Tissue Engineering and Regenerative Medicine, AvePark, Parque de Ciência e Tecnologia, Zona Industrial da Gandra, Guimarães, Portugal
ICVS/3B's – PT Government Associate Laboratory, Braga/Guimarães, Portugal
<https://orcid.org/0000-0002-7973-7544>

Pedro Miguel Sousa Babo

3B's Research Group, I3Bs – Research Institute on Biomaterials, Biodegradables and Biomimetics, University of Minho, Headquarters of the European Institute of Excellence on Tissue Engineering and Regenerative Medicine, AvePark, Parque de Ciência e Tecnologia, Zona Industrial da Gandra, Guimarães, Portugal
ICVS/3B's – PT Government Associate Laboratory, Braga/Guimarães, Portugal
<http://orcid.org/0000-0003-4347-599X>

Rui Luís Gonçalves Reis

3B's Research Group, I3Bs – Research Institute on Biomaterials, Biodegradables and Biomimetics, University of Minho, Headquarters of the European Institute of Excellence on Tissue Engineering and Regenerative Medicine,

AvePark, Parque de Ciência e Tecnologia, Zona Industrial da Gandra, Guimarães, Portugal
ICVS/3B's – PT Government Associate Laboratory, Braga/Guimarães, Portugal
<http://orcid.org/0000-0002-4295-6129>

Maria Manuela Estima Gomes

3B's Research Group, I3Bs – Research Institute on Biomaterials, Biodegradables and Biomimetics, University of Minho, Headquarters of the European Institute of Excellence on Tissue Engineering and Regenerative Medicine, AvePark, Parque de Ciência e Tecnologia, Zona Industrial da Gandra, Guimarães, Portugal
ICVS/3B's – PT Government Associate Laboratory, Braga/Guimarães, Portugal
<http://orcid.org/0000-0002-2036-6291>

Jorge Manuel Teixeira de Azevedo

Department of Animal Science, ECAV, UTAD
Centre for Animal Sciences and Veterinary Studies (CECAV), UTAD, Vila Real, Portugal
<http://orcid.org/0000-0003-2383-5206>

Carlos Alberto Antunes Viegas

Department of Veterinary Sciences, ECAV, UTAD
CECAV, UTAD
Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences (CITAB), UTAD, Vila Real, Portugal
3B's Research Group, I3Bs – Research Institute on Biomaterials, Biodegradables and Biomimetics, University of Minho, Headquarters of the European Institute of Excellence on Tissue Engineering and Regenerative Medicine, AvePark, Parque de Ciência e Tecnologia, Zona Industrial da Gandra, Guimarães, Portugal
ICVS/3B's – PT Government Associate Laboratory, Braga/Guimarães, Portugal
<http://orcid.org/0000-0002-8796-5037>

Parte deste estudo foi publicado previamente na revista *Anais da Academia Brasileira de Ciências*: Coelho C. A., Bordelo J. P., Camassa J. A., Barros V. A., Babo P. S., Gomes M. E., Reis R. L., de Azevedo J. T., Requicha J. P., Faisca P., Carvalho P. P., Viegas C. A., Dias I. R. Evaluation of hematology, general serum biochemistry, bone turnover markers and bone marrow cytology in a glucocorticoid treated ovariectomized sheep model for osteoporosis research. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 92, n. 4, p. 1-16, e20200435, 2020.

ABSTRACT: Osteoporosis is a skeletal metabolic disorder characterized by a loss of bone mass and architectural microstructure in which bone strength is compromised, increasing the risk of fragility fractures. This study evaluated the variation of serum bone turnover markers (BTMs), selected minerals and 17β -estradiol levels (E_2) before and every 4 weeks until the 24th week after ovariectomy (OVX) and glucocorticoid (GC) administration in sheep model. Six animals have gone OVX and weekly dexamethasone injections along 24 weeks and compared with a sham control group. Osteopenia was confirmed by microcomputed tomography and bone histomorphometry at L4 vertebra. BTMs – total and bone alkaline phosphatases (BALP) activities and intact osteocalcin (OC) concentration showed lower values over time in the GC-treated OVX sheep than in the sham control group, except for intact OC concentration at the 16th post-operative week. Resorption marker C-terminal telopeptides of collagen type I (CTX) concentration always showed higher values in the GC-treated OVX sheep group than the sham control one. Intact OC and CTX values presented statistical difference between both groups ($P<0.001$ and $P<0.01$, respectively). In normal physiologic conditions, the correlations between BALP with Ca ($R=0.25$, $P=0.049$) and P ($R=-0.5196$, $P=0.0007$), support the involvement of this BTM with the mineralization process. Also, the correlations between BALP with OC ($R=0.4184$, $P=0.0077$), BALP with tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) ($R=-0.5083$, $P=0.001$) and OC with TRAP ($R=-0.3237$, $P=0.0444$) help to confirm their opposite function. From the hemodynamic point of view, these results confirm the reliability of these serum BTMs evaluation in sheep for orthopedic research.

KEYWORDS: Bone histomorphometry; serum bone turnover markers; lumbar vertebral micro-structure; osteoporosis; sheep

RESUMO: A osteoporose é um distúrbio metabólico esquelético caracterizado por perda de massa óssea e microestrutura arquitetônica em que a resistência óssea fica comprometida,

umentando o risco de fraturas por fragilidade. Este estudo avaliou a variação dos marcadores séricos de remodelação óssea (BTMs), minerais selecionados e níveis de 17β -estradiol (E2) antes e a cada 4 semanas até a 24^a semana após a realização de ovariectomia (OVX) e administração de glicocorticóides (GC) em modelo de ovelha. Seis animais foram submetidos a OVX e a injeções semanais de dexametasona ao longo de 24 semanas e comparados com um grupo de controle simulado. A osteopenia foi confirmada por microtomografia computarizada e histomorfometria óssea na vértebra L4. Os BTMs - atividades de fosfatases alcalinas total e óssea (BALP) e concentração de osteocalcina (OC) intacta apresentaram valores mais baixos ao longo do tempo nas ovelhas OVX e tratadas com GCs do que no grupo controle, exceto para concentração de OC intacta na 16^a semana pós-operatória. A concentração do marcador de reabsorção - telopeptídeos C-terminal do colágeno tipo I (CTX), apresentou sempre valores mais elevados no grupo de ovelhas OVX e tratadas com GCs do que no grupo controle. Os valores da OC intacta e CTX apresentaram diferença estatística entre os dois grupos ($P < 0,001$ e $P < 0,01$, respectivamente). Em condições fisiológicas normais, as correlações entre a BALP com Ca ($R = 0,25$, $P = 0,049$) e P ($R = -0,5196$, $P = 0,0007$), apoiam o envolvimento deste BTM com o processo de mineralização. Além disso, as correlações entre a BALP com OC ($R = 0,4184$, $P = 0,0077$), a BALP com fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP) ($R = -0,5083$, $P = 0,001$) e da OC com TRAP ($R = -0,3237$, $P = 0,0444$) ajudam a confirmar sua função oposta. Do ponto de vista hemodinâmico, esses resultados confirmam a confiabilidade da avaliação desses BTMs séricos em ovinos para pesquisa ortopédica.

PALAVRAS-CHAVE: Histomorfometria óssea, marcadores do metabolismo ósseo, vértebras lombares, microestrutura, osteoporose, ovelha.

INTRODUCTION

In humans osteoporosis is a skeletal disorder characterized by a loss of bone mass and structure in which bone strength is compromised, thus increasing the risk of fragility fractures. Human osteoporosis is divided in type I, or post-menopausal osteoporosis, mainly characterized by a loss of trabecular bone, increasing fractures of the vertebrae and typically affects women after menopause due to lack of endogenous oestrogens (RIGGS & MELTON 3rd, 1986; RIGGS et al., 2003). Type II, or senile osteoporosis, causes loss of cortical and trabecular bone in both men and women, as the disadvantageous result of ageing and it is characterized by hip, proximal humerus, proximal tibia and pelvis fractures (RIGGS & MELTON 3rd, 1986).

In healthy skeleton, constant bone remodelling occurs in which mature bone tissue is removed through a bone resorption process, and new tissue is formed in order to maintain bone strength and mineral homeostasis in continuum with a strict coordination between their phases (ANDERSEN et al., 2009). The bone remodelling cycle has three phases: the initiation, the transition (reversal) and the termination of bone formation as thoroughly described in literature (MATSUO & IRIE, 2008; ANDERSEN et al., 2009; BONEWALD 2011). The process of bone remodelling involves the osteoprotegerin (OPG)/receptor

activator of nuclear factor NF- κ B ligand (RANKL)/its membrane-bound receptor (RANK) system on osteoblasts and osteoclasts with OPG and RANKL constituting a ligand-receptor system that directly regulates osteoclast differentiation, and OPG acting as an inhibitor of osteoclastogenesis by competing with RANKL for the membrane receptor (MEIKLE, 2006; TEITELBAUM, 2007; LIU et al., 2015; IKEDA & TAKESHITA, 2016; KAPASA et al., 2017). The abnormality in the bone remodeling process, which conducts to osteoporosis, depends on the miss-coordination of multiple communication pathways between the osteoblast and the osteoclast lineages (FENG & MCDONALD, 2011). These cells activities are controlled by a variety of cytokines and hormones, in particular the lack of oestrogen induces an unbalanced remodelling, increasing bone loss and risk of osteoporosis (LERNER, 2006).

Ewes have been among widely used large animals for preclinical testing of new anti-osteoporotic pharmacologic strategies, research in biomaterials and in the development of orthopedic implants and prostheses for fixation of fragility fractures and joints replacement in the osteopenic/osteoporotic skeleton. The sheep subjected to bilateral ovariectomy (OVX) with 12 months postoperatively (or more), or by the combined treatment of OVX sheep associated to glucocorticoid (GC) applications for 6 months and, in some protocols, a calcium/vitamin-D deficient diet, have been used frequently as an animal model for this purpose (DIAS et al., 2018). The GCs cause bone and muscle loss and weakness (KLEIN, 2015). ZHANG et al. (2016) describes in detail the underlying mechanism of osteoporosis induced by GCs in OVX animals. ANDREASEN et al. (2015) concluded that GC-treated OVX aged sheep induced a significant bone loss, promoted by an arrest of the reversal bone remodeling phase, resulting in an uncoupling of bone formation and resorption, as demonstrated in postmenopausal women with GC-induced osteoporosis (ANDERSEN et al., 2013; JENSEN et al., 2011). Another very recent study elucidates the osteocyte regulation of OPG/RANKL system in the sheep model of osteoporosis, concluding that in the late progressive phase of the osteoporosis induced by steroids, the RANKL expression is stimulated in osteocytes (EL KHASSAWNA et al., 2017).

In small ruminants, clinical conditions of osteoporosis are also described as being in goats associated with phosphorus and calcium deficiency (BRAUN et al., 2009, ROSA et al., 2013a, 2013b; BARBOSA et al., 2018), osteopenia in goats by copper deficiency (BUCK et al., 2012) and natural occurring osteopenia in the old sheep (MAENZ et al., 2020). MAENZ et al. (2020) even state that old sheep may represent a suitable model of senile osteopenia, since it presents a markedly diminished bone structure and formation, and substantially augmented bone erosion, which could be representative of the human condition. Also, osteoporosis is enumerated as one of the most common metabolic bone diseases in grazing sheep by THOMPSON et al. (2008) due to imbalances or deficiencies in nutrients such as vitamin D, calcium and phosphorus, also reported as associated to 1,25-dihydroxyvitamin D-3 deficiency in sheep by WILKENS et al. (2010).

This study intends to evaluate the variation pattern of an analytical panel composed

by serum bone turnover markers (BTMs) all along the bone loss induction process in the GC-treated OVX sheep model. Conventionally, the BTMs are divided into bone formation and bone resorption markers. The markers of bone formation are synthesized by the osteoblasts, during the different phases of their development and differentiation, reflecting different cell functions and the bone formation process. They include the osteoblast enzymes total alkaline phosphatase (ALP) and its bone isoform (BALP), the matrix protein osteocalcin (OC) and the by-products of collagen synthesis – C-terminal and N-terminal (PINP) propeptides of type 1 collagen (LEEMING et al., 2006; CREMERS et al., 2008; SOUSA et al., 2015; SHETTY et al., 2016). The markers of bone resorption are synthesized during the bone resorption process of bone remodelling and these include the products of collagen breakdown – C-terminal (CTX) and N-terminal telopeptides of collagen type I, CTX-matrix metalloproteinase, hydroxyproline and the collagen cross-links pyridinoline and deoxypyridinoline and also the non-collagenous protein bone sialoprotein and the enzymes secreted by the osteoclasts – tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) 5b isoform and cathepsin K (LEEMING et al., 2006; CREMERS et al., 2008; SOUSA et al., 2015; SHETTY et al., 2016). Which concern the novel osteocyte activity markers – RANKL and OPG, these ones reflect bone microenvironment, and more recently the Dickkopf-related protein 1 and sclerostin (LEEMING et al., 2006; CREMERS et al., 2008; SOUSA et al., 2015; SHETTY et al., 2016). In this way the BTMs have been evaluated as potential tool for predicting impaired quality of bone and monitoring treatment of osteoporosis, such as undercarboxylated OC (VERGNAUD et al., 1997), PINP and CTX (VASIKARAN et al., 2011). The OC has also been found as a useful biomarker in steroid-induced osteoporosis (CLEMENS & KARSENTY, 2001).

So, the present study aimed to contribute for the evaluation of bone loss during the first 24 weeks after GC-treated OVX sheep model induction through the interpretation of the pathophysiological significance of the serum variation pattern of a complete panel of serum BTMs – ALP, BALP and intact OC, CTX and TRAP, with the originality of assessing their correlations with the serum minerals – total calcium (Ca), phosphorus (P) and magnesium (Mg), and the hormone 17β -estradiol (E_2). Additionally, an evaluation of micro-architectural characteristics and bone mineral density (BMD) of L4 vertebra, that were acquired by micro-computed tomography (μ -CT) and bone histomorphometry, was performed to prove the effects of OVX and GC administration on bone tissue.

MATERIAL AND METHODS

Animals, housing and anesthetic and surgical protocols

Twelve ewes (Portuguese Serra-da-Estrela breed), 3 to 4-years-old, 55.9 ± 4.5 kg weight, were acclimatized for 4 weeks. The animals were housed indoors in boxes and feed with grass hay and food pellets (0.250kg/animal/day). Diet was offered at an estimated 1.20

x energy maintenance requirements according to the NCR (1985) recommendations for sheep nutrition. The animals were divided in a sham control group (n=6) and a GC-treated OVX sheep group (n=6). For OVX realization, the anesthetic protocol was composed by acepromazine maleate (0.1mg/kg EV, Calmivet; Univete, Lisbon, Portugal), butorphanol tartrate (0.06mg/kg EV, Torbugesic; Fort Dodge Veterinaria, S.A., Vall de Vianya, Girona, Spain) and propofol 2% (3mg/kg EV, Propofol-Lipuro; B.Braun, Melsungen, Germany) and maintained with 1.5% isoflurane in oxygen. Analgesia was accomplished by flunixin meglumine (1mg/kg, IM, q24h, Finadyne; Vetlima, Lisbon, Portugal) for 72 hours. Amoxicillin (15mg/kg, IM, q48h, Clamoxyl LA; Laboratórios Pfizer, Lda, Barreiro, Portugal) was also administrated during the first week. The OVX sheep received 1mg/kg dexamethasone weekly injections (0.6mg/kg IM, Dexafort; MSD Animal Health, Portugal and 0.4mg/kg IM, Oradexon, N.V. Organon, The Netherlands), as described by ZARRINKALAM et al. (2009). During the last four weeks the gradual tapering of steroids was performed to prevent symptoms associated with abrupt withdrawal of GCs. Animals were euthanized at the 24th postoperative week with EV pentobarbital sodium (Eutasil; Sanofi Veterinária, Miraflores, Algés, Portugal). The experiments on animals followed Directive 2010/63/EU and of the local Council on the protection of animals used for scientific purposes (authorization DGAV 0420/000/000/09).

Collection of blood samples

Blood samples were collected preoperatively and every 4 weeks until the 24th postoperative weeks (T0 to T6). The blood samples were drawn from the jugular vein into serological tubes (S-Monovette®, SARSTEDT, Nümbrecht, Germany). Samplings were performed between 9:00a.m. and 10:00a.m. and immediately centrifuged at 3000rpm for 10min. Then the serum were stored in Eppendorf tubes at -20°C for serum total ALP, TRAP, E₂ and mineral analyses and at -80°C for the other BTMs analyses.

Biochemical analysis

Commercially available kits from QUIDEL Corporation (Santa Clara, CA, USA) were used for ELISA determinations of serum BALP activity (Ref. 4660; EIA kit) and intact OC levels (Ref. 8002; EIA kit). The CTX levels were also measured with a commercial kit (ACP, Ref. O2F1; ELISA kit; IDS, Boldons, UK). The TRAP was performed via an enzymatic method and molecular absorption spectrophotometry using a commercial kit (ACP, Ref. 17304; Sentinel Diagnostics, Milan, Italy). Serum ALP activity (Ref. 6004), total Ca (Ref. 60117), inorganic P (Ref. 6122) and Mg (Ref. 6189) were determined by Beckman Coulter (CA, USA) commercial kits, via chemical method and molecular absorption spectrophotometry (Olympus AU400 automated biochemistry analyzer, Olympus America Inc., PA, USA). Serum E₂ levels (eE2 Ref. 10490889; ADVIA Centaur-Siemens Healthcare Diagnostics, Frimley, UK) were determined by automated direct competitive chemiluminescent immunoassay.

The manufacturer's protocol was followed as described and samples were assayed in duplicates. The sensitivity of this assay was 19pg/mL, and intra- and inter-assay coefficients of variation were 2.3%-11.1% and 0.9%-2.6%, respectively.

X-ray μ -CT

Samples from the body of the 4th lumbar vertebra (L4) (6mm diameter) were scanned using X-ray scan micrograph (μ -CT; SkyScan 1272; Bruecker, Kontich, Belgium). The samples were maintained in wet conditions by wrapping them with filter paper soaked in saline. Series of two dimensional projections, with a resolution of 7 μ m were acquired over a rotation range of 180°, with a rotation step of 0.45°, by cone-beam acquisition and using a 0.35mm copper + 0.15mm aluminium filter. The data were reconstructed using the software NRecon (Version: 1.6.6.0, Skyscan) and analysed in a CT analyser (Version: 1.17.0.0, Skyscan). The region of interest (ROI) was defined as a 4.5mm diameter circle centred over the specimen. By auto-interpolation of manually-defined ROI with the inner and outer limits of trabecular bone, it was yielded a volume of interest (VOI) with a shape of a cylinder representative of the sample, which was the essential basis for the quantitative analyses. The BMD (g/cm³) of each sample was determined using the 8mm phantom calibrators of 0.25 and 0.75g/cm³. The bone volume fraction (BV/TV; %), trabecular thickness (Tb.Th; μ m), specific bone surface (BS/BV; %), trabecular number (Tb.N; 1/mm) and trabecular spacing (Tb.Sp; μ m), closed porosity (Po(cl); %), open porosity (Po(op); %), and total porosity (Po(tot); %) were calculated using the Batman tool of CT analyser software. For the three-dimensional (3D) analysis, the bone region of each section was automatically defined (Ridler-Calvard method) and the resulting binarised image despeckled to remove the background (for bright speckles <40 voxels). The 3D reconstructions were produced using the CTVOX software.

Bone histomorphometry

Identical L4 vertebra biopsies were fixed in formalin 10% (NBF-neutral buffered formalin, Thermo Scientific, USA) and stored at 4°C. For histological preparations, the bone samples were decalcified by incubation in a solution of TBD-2 (Thermo Scientific, USA) with mechanical stirring during 7 days. The decalcification end-point was defined as two consecutive days with negative tests for the presence of calcium in the decalcification solution supernatant. In brief, to 0.5mL of supernatant were added 1.0mL of citrate-phosphate buffer (0.20M citric acid and 0.16M dibasic potassium phosphate, pH 3.2-3.6) and 2.5mL of saturated ammonium oxalate. After 20min a calcium precipitate in the test tube is formed when the decalcification is still occurring. The decalcification was further confirmed by puncturing the decalcified bone biopsies with a needle to test the resistance. The decalcified bone samples were then dehydrated in ascending alcohol concentrations before embedding the specimens in paraffin. Sections of 5 μ m were cut in the anteroposterior plane on a automate

microtome (HM 355S Automatic Microtome, Thermo Scientific, USA) and mounted in glass slides. The histological slices were deparaffinized through downward alcohol concentrations and stained with Hematoxylin & Eosin (H&E) (Thermo Scientific, USA) using a standardized protocol. The cortical porosity (Ct.Po; %) and cortical thickness (Ct.Th; μm) were assessed in the cortical bone and the BV/TV (%), Tb.Th, Tb.Sp and Tb.N in the trabecular bone were quantified using the BoneJ (DOUBE et al., 2010) plugin of ImageJ software. For that, all micrographs of the histological cuts stained with H&E were split in the RGB channels. A bitwise operation was performed to subtract the green channel, strongly staining the bone marrow area, to the red channel, roughly corresponding to the bone area and the bone marrow, rendering an image of the bone area. These resulting representations of the bone area were treated to remove noise and binarized for histomorphometric evaluation.

Statistical analysis

ANOVA and Wilcoxon / Kruskal-Wallis test were used to determine statistical differences ($P < 0.05$) and to compare mean differences between the different times or between study groups. The degree of correlations between the serum BTMs, minerals and E_2 values were assessed by z Spearman correlation test. Statistical analyses were performed with SPSS statistical software (version 23.0, SPSS, Inc., IBM Company, NY, USA).

RESULTS

Serum biochemical evaluation

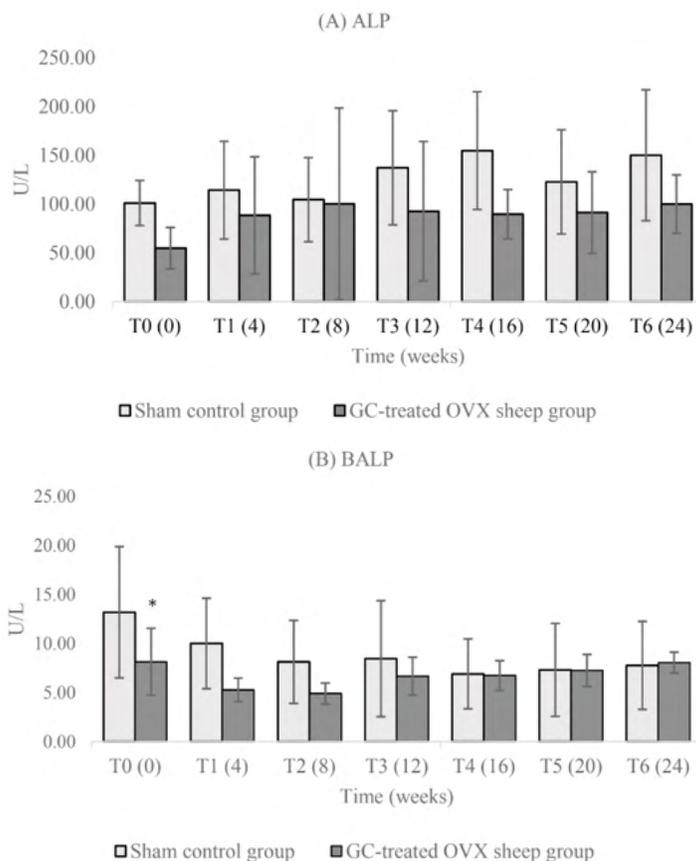
The results of biochemical analyses are shown in Table 1 and Figure 1 and the correlation coefficients between investigate variables in Table 2.

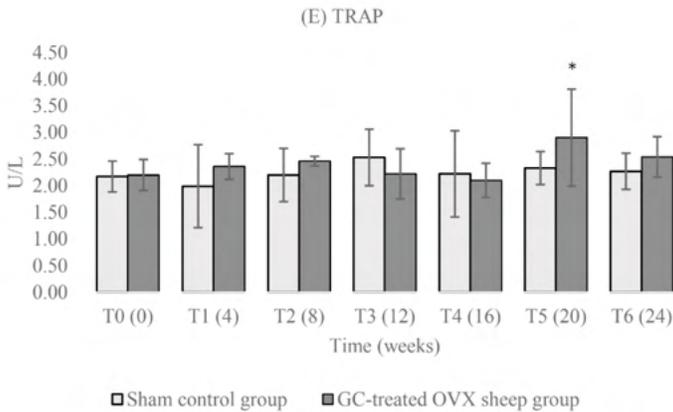
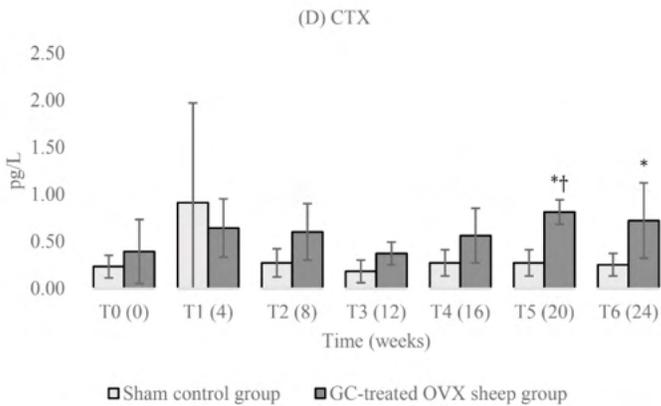
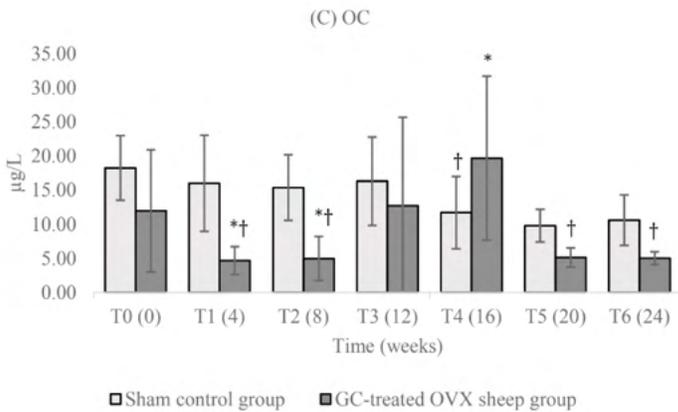
Time (weeks)	Groups	ALP (U/L)	BALP (U/L)	OC ($\mu\text{g/L}$)	CTX (pg/L)	TRAP (U/L)	Ca (mmol/L)	P (mmol/L)	Mg (mmol/L)	E_2 (pmol/L)
T0 (pre-op.)	Sham control	101.0 \pm 23.0	13.2 \pm 6.7	18.3 \pm 4.7	0.23 \pm 0.12	2.17 \pm 0.29	2.38 \pm 0.11	1.73 \pm 0.20	0.95 \pm 0.10	199.0 \pm 67.9
	GC-treated OVX sheep	54.8 \pm 21.2	8.1 \pm 3.4*	12.0 \pm 9.0	0.39 \pm 0.34	2.20 \pm 0.29	2.26 \pm 0.22	1.99 \pm 0.50	0.85 \pm 0.09*	253.3 \pm 154.2
T1 (4)	Sham control	114.2 \pm 50.0	10.0 \pm 4.6	16.0 \pm 7.1	0.91 \pm 1.06	1.99 \pm 0.78	2.33 \pm 0.09	1.83 \pm 0.38	0.94 \pm 0.07	177.0 \pm 75.6
	GC-treated OVX sheep	88.4 \pm 60.1	5.3 \pm 1.2	4.6 \pm 2.1*†	0.64 \pm 0.31	2.36 \pm 0.24	2.27 \pm 0.13	2.20 \pm 0.44	0.88 \pm 0.13	171.8 \pm 46.8
T2 (8)	Sham control	104.5 \pm 43.1	10.0 \pm 4.6	16.0 \pm 7.1	0.91 \pm 1.06	2.20 \pm 0.50	2.33 \pm 0.09	1.83 \pm 0.38	0.94 \pm 0.07	177.0 \pm 75.6
	GC-treated OVX sheep	100.2 \pm 98.3	4.9 \pm 1.1	5.0 \pm 3.2*†	0.60 \pm 0.30	2.46 \pm 0.09	2.21 \pm 0.17	2.27 \pm 0.45*	0.94 \pm 0.04	151.3 \pm 75.6

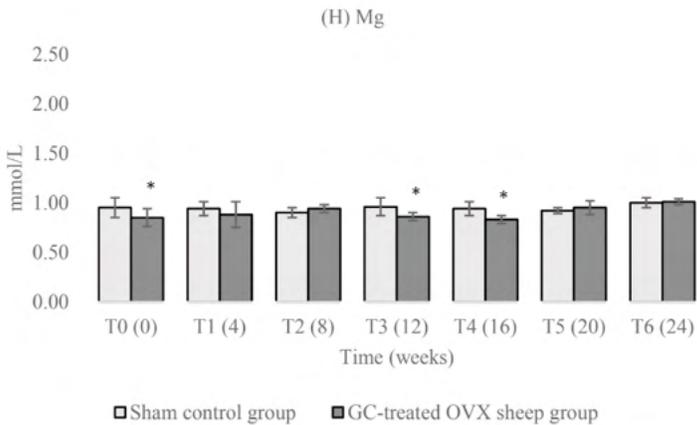
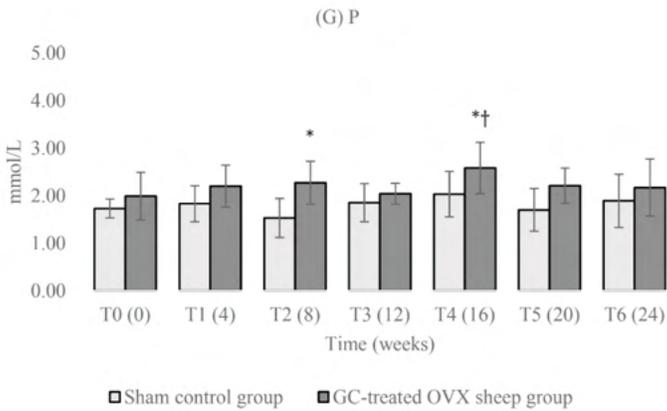
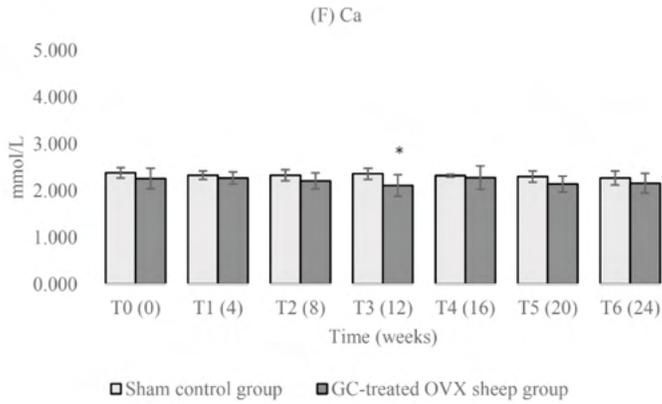
T3 (12)	Sham	137.2±58.5	8.4±5.9	16.3±6.5	0.18±0.12	2.53±0.53	2.36±0.12	1.85±0.40	0.96±0.09	207.4±83.0
	control	92.6±71.5	6.6±1.9	12.7±13.0	0.37±0.12	2.22±0.47	2.11±0.23*	2.04±0.22	0.86±0.04*	152.0±92.2
GC-treated OVX sheep										
T4 (16)	Sham	154.7±60.4	6.9±3.6	11.7±5.3†	0.27±0.14	2.22±0.81	2.32±0.03	2.03±0.48	0.94±0.07	143.2±76.0
	control	89.6±25.3	6.7±1.5	19.7±12.0*	0.56±0.29	2.10±0.32	2.28±0.25	2.58±0.54*†	0.83±0.04*	148.3±97.7
GC-treated OVX sheep										
T5 (20)	Sham	122.7±53.5	7.3±4.7	9.8±2.4	0.27±0.14	2.33±0.31	2.30±0.12	1.70±0.45	0.92±0.03	166.3±89.2
	control	91.2±41.8	7.2±1.6	5.1±1.4†	0.81±0.13*†	2.90±0.91*	2.14±0.17	2.21±0.37	0.95±0.07	116.0±78.9
GC-treated OVX sheep										
T6 (24)	Sham	150.0±67.2				2.27±0.34				
	control	100.0±29.9	7.8±4.5	10.6±3.7	0.25±0.12	2.54±0.38	2.27±0.15	1.89±0.56	1.00±0.05	152.4±80.8
GC-treated OVX sheep										
			8.0±1.1	5.0±0.9†	0.72±0.40*		2.16±0.21	2.17±0.60	1.01±0.03	119.7±57.3

Total alkaline phosphatase (ALP); bone isoform of alkaline phosphatase (BALP); intact osteocalcin (OC); C-terminal telopeptides of collagen type I (CTX); tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP); calcium (Ca); phosphorus (P); magnesium (Mg); 17 β -estradiol (E₂); glucocorticoids (GC); ovariectomy (OVX); *significant differences compared with sham control group for the same time (**P*<0.05); †significant differences compared to their preoperative (baseline) values (†*P*<0.05)

Table 1: Means±SD of serum bone turnover markers, minerals and 17 β -estradiol levels in the sham control and glucocorticoid-treated ovariectomized sheep groups.







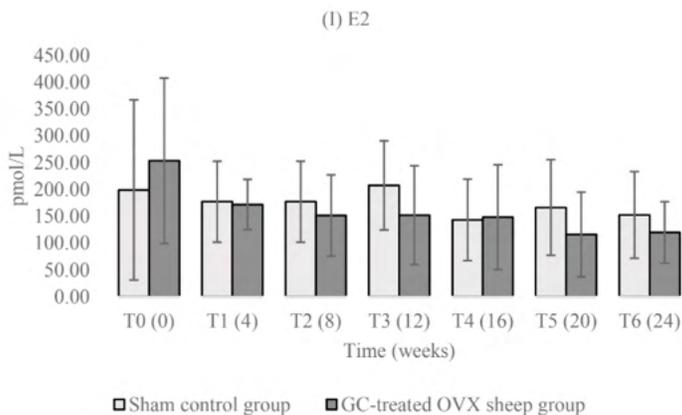


Figure 1: Time-related (preoperatively and every 4 weeks until the 24th postoperative weeks – T0 to T6) changes of serum (A) total alkaline phosphatase (ALP) and (B) bone isoform of alkaline phosphatase (BALP) activities, (C) intact osteocalcin (OC) level, (D) C-terminal telopeptides of collagen type I (CTX) level, (E) tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) activity, (F, G and H) serum minerals – calcium (Ca), phosphorus (P) and magnesium (Mg) concentrations and (I) 17β-estradiol (E₂) level at the preoperative time and during the postoperative period (mean±SD); *significant differences compared with sham control group for the same time (*P<0.05); †significant differences compared to their preoperative (baseline) values (†P<0.05).

	ALP	BALP	OC	CTX	TRAP	Ca	P	Mg	E ₂
Sham control group									
ALP	R=1.00 P=1.00	-	-	-	-	-	-	-	-
BALP	R=-0.3558 P=0.0262	R=1.00 P=1.00	-	-	-	-	-	-	-
OC	R=-0.2606 NS	R=0.4184 P=0.0077	R=1.00 P=1.00	-	-	-	-	-	-
CTX	R=-0.4741 P=0.0023	R=0.2452 NS	R=0.2463 NS	R=1.00 P=1.00	-	-	-	-	-
TRAP	R=0.5072 P=0.0010	R=-0.5083 P=0.0010	R=-0.3237 P=0.0444	R=-0.6182 P<0.0001	R=1.00 P=1.00	-	-	-	-
Ca	R=-0.0566 NS	R=0.2500 P=0.0490	R=-0.0336 NS	R=-0.0322 NS	R=-0.0056 NS	R=1.00 P=1.00	-	-	-
P	R=0.3796 P=0.0132	R=-0.5196 P=0.0007	R=-0.1238 NS	R=-0.2592 P=0.0129	R=0.3947 NS	R=-0.2031 NS	R=1.00 P=1.00	-	-
Mg	R=-0.1516 NS	R=0.1237 NS	R=0.1852 NS	R=0.1281 NS	R=-0.0429 NS	R=-0.4135 P=0.0065	R=-0.1665 NS	R=1.00 P=1.00	-
E ₂	R=-0.5299 P=0.0003	R=0.6864 P<0.0001	R=0.3942 P=0.0118	R=0.3116 NS	R=-0.4489 P=0.0042	R=0.4489 P=0.0029	R=-0.6057 P<0.0001	R=0.0698 NS	R=1.00 P=1.00
Glucocorticoid-treated ovariectomized sheep group									
ALP	R=1.00 P=1.00	-	-	-	-	-	-	-	-
BALP	R=0.1231 NS	R=1.00 P=1.00	-	-	-	-	-	-	-
OC	R=-0.3453 NS	R=0.3312 NS	R=1.00 P=1.00	-	-	-	-	-	-

CTX	R=0.3131 NS	R=0.0594 NS	R=-0.1652 NS	R=1.00 P=1.00	-	-	-	-	-
TRAP	R=0.1120 NS	R=0.2243 NS	R=-0.2366 P=0.0490	R=0.0912 NS	R=1.00 P=1.00	-	-	-	-
Ca	R=-0.3688 P=0.0347	R=0.1518 NS	R=0.2844 NS	R=0.0611 NS	R=-0.0943 NS	R=1.00 P=1.00	-	-	-
P	R=0.5079 P=0.0025	R=-0.2100 NS	R=0.0561 NS	R=0.0102 NS	R=0.0657 NS	R=-0.4934 P=0.0026	R=1.00 P=1.00	-	-
Mg	R=0.1415 NS	R=0.0979 NS	R=-0.2811 NS	R=0.1917 NS	R=0.4687 P=0.0052	R=-0.0373 NS	R=0.1546 NS	R=1.00 P=1.00	-
E ₂	R=-0.0961 NS	R=0.0289 NS	R=-0.0272 NS	R=-0.0078 NS	R=-0.0055 NS	R=-0.0847 NS	R=0.0403 NS	R=-0.0456 NS	R=1.00 P=1.00

Total alkaline phosphatase (ALP); bone isoform of alkaline phosphatase (BALP); intact osteocalcin (OC); C-terminal telopeptides of collagen type I (CTX); tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP); calcium (Ca); phosphorus (P); magnesium (Mg); 17 β -estradiol (E₂)

Table 2: Correlation between serum bone turnover markers, minerals and 17 β -estradiol levels in the sham control and glucocorticoid-treated ovariectomized sheep groups.

Total ALP activity did not present statistically significant differences between both groups in study along time, but with the values of the GC-treated OVX sheep group showing lower levels relatively to sham control group after induction protocol. No statistically significant differences were observed along time within each study group. Relatively to serum minerals concentration, Ca did not show statistically significant differences between both groups in study along time, except for T3. Nevertheless, the values of the GC-treated OVX sheep group were always below the values of the sham control group, similarly to ALP for each time point. For P and Mg, also statistical differences were obtained between groups in study along time ($P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively). The P presented statistical differences between groups at the T2 and T4 with the values of GC-treated OVX sheep group superior to those of the sham control group and for Mg statistical differences were observed at the T3 and T4 with the values of GC-treated OVX sheep group inferior to those of the sham control group. For P, just within the GC-treated OVX sheep group, it was observed a statistically significant increase in values between the preoperative time and T4. The Mg showed statistical differences in sham control group between the T3 and T6 and in the GC-treated OVX sheep group between the preoperative time and the T5 and T6. For E₂, after the preoperative period, it was possible to observe in the GC-treated OVX sheep group a decrease in its values until T6, while sham control group just presented a slight fluctuation during the study.

For the BTMs, the BALP and TRAP activities did not present statistically significant differences between both groups in study along time, but intact OC and CTX concentrations presented statistical difference between both groups in study ($P < 0.001$ and $P < 0.01$, respectively). However, serum BALP activity showed in the GC-treated OVX group lower values than those obtained in the sham control group until the T4. The intact OC levels

were markedly higher in sham control group in the T1 and T2 compared to GC-treated OVX sheep group, but at T4 the value was significantly higher in the GC-treated OVX sheep. The CTX levels also presented significant differences between study group at the T5 and T6 with the GC-treated OVX sheep group presenting the highest values. For the intact OC values it was possible to verify that within the sham control group there were significant differences between the preoperative time and from the T4 in which a decrease of the intact OC values could be observed. In the GC-treated OVX sheep group the intact OC showed statistical differences between the preoperative time and the T1, T2, T5 and T6, which presented lower values. For the CTX levels no statistical differences were observed in the sham control group along time but in the GC-treated OVX sheep group there was a statistical difference between the preoperative time and the T5, with this last one value presenting a marked increase.

μ -CT analysis

No statistical differences were observed during the comparison of the micro-architectural L4 vertebra sample parameters and trabecular BMD between the sham control and the GC-treated OVX sheep groups ($P > 0.05$). However, a slight decrease of BV/TV – 44.1% to 42.5% (-4.6%), Tb.N – 3.39(1/mm) to 3.05(1/mm) (-10%) and BMD – 0.69g/cm³ to 6.62g/cm³ (-10.5%) and an increase in BS/BV – 18.1(1/mm) to 18.6(1/mm) (+14.3%) and Po(tot) – 52.9% to 59.5% (+13.5%), were observed between the sham control group and the GC-treated OVX sheep group, respectively.

Bone histomorphometric analysis

Statistical differences were observed after OVX and GC administration at the 24th postoperative week at trabecular bone level of L4 vertebra for Tb.Sp – 366.7 μ m in the sham control group and 430.8 μ m in the GC-treated OVX group, which significantly increased ($P < 0.05$). Although there was no statistically significant result, it was also possible to observe an increase in Ct.Th – 693.8 μ m to 721.4 μ m (+3.8%) and Ct.Po – 5.0% to 8.8% (+60%) and a decrease in the values of BV/TV – 43.2% to 34.7% (-19.7%), Tb.Th – 218.2 μ m to 174.8 μ m (-19.9%) and Tb.N – 3.7#/mm to 3.2#/mm (-13.5%), were observed between the sham control group and the GC-treated OVX sheep group, respectively.

DISCUSSION

The present work aimed to fully and thoroughly evaluate the variation of BTMs concentration and their correlations with serum minerals and E₂ levels in the GC-treated OVX sheep as a model for osteoporosis research. The osteoporosis induction in this animal model has proved similarities with the pathophysiological mechanisms that occur in both postmenopausal and GC-induced osteoporosis in humans by deficient bone formation resulting from an uncoupling of the bone formation and resorption during the reversal phase

(JENSEN et al., 2011; ANDERSEN et al., 2013; ANDREASEN et al., 2015). In this way, the evaluation of a comprehensive analytical panel of BTMs, prior to OVX and then in a monthly pattern over 6 months post-OVX sheep, in which GC were administered weekly, was complemented by bone microstructural and composition evaluation through the analysis of bone biopsies obtained at the body level of the L4 vertebra by means of μ -CT and histomorphometry.

During bone loss in osteoporosis, BTMs, namely BALP, OC, CTX and TRAP, are released into the blood stream and/or excreted by kidneys in urine (SEIBEL, 2005). The BALP is a plasma membrane-bound enzyme expressed by osteoblasts used when assessing the phenotype or developmental maturity of mineralized tissue cells (MILLAN, 2006; GOLUB & BOESZE-BATTAGLIA, 2007). It is involved in initiating calcification by increasing the local concentration of inorganic phosphate, a mineralization promoter, and by decreasing the concentration of extracellular pyrophosphate, an inhibitor of mineral formation (WHYTE, 1994; GOLUB & BOESZE-BATTAGLIA, 2007). The OC is a hydroxyapatite-binding protein synthesized by mature osteoblasts odontoblasts, and hypertrophic chondrocytes. At bone tissue level constitutes 15% of the non-collagenous bone matrix, with a small amount released to blood stream during the bone formation process and also during bone resorption process (SEEBECK et al., 2005; CREMERS et al., 2008). It acts as a regulator of bone mineralization, by binding calcium and consequently promoting hydroxyapatite nucleation, also regulating osteoblast and osteoclast activity (NEVE et al., 2013). The CTX are type I collagen molecule breakdown products generated by the activity of the enzyme cathepsin K, composed by short peptide sequences from the non-helical domain of this molecule, which are released during bone resorption process (CREMERS et al., 2008; SHETTY et al., 2016). Otherwise, TRAP 5b isoform is an enzyme, which is resistant to degradation by tartrate, most specifically expressed in the ruffled border of osteoclasts, activated macrophages and dendritic cells and cleaves type 1 collagen into fragments during bone resorption (HALLEEN et al., 2001; LEEMING et al., 2006; SHETTY et al., 2016). The normal values of BTMs in sheep were assessed in previously published studies (KLEIN et al., 2004; SEEBECK et al., 2005; DIAS et al., 2008; SOUSA et al., 2014; COELHO et al., 2020).

In the present study, the bone loss at T6 after the GC-treated OXV implementation protocol in sheep was proven through the microstructural parameter results obtained at L4 vertebra level. It was observed a slight reduction in BV/TV, Tb.N and trabecular BMD, conjugated to an increase in BS/BV and Po(tot) obtained by μ -CT and an increase of Tb.Sp obtained by histomorphometric analysis, confirming the osteopenia induction. LILL et al. (2002) and SCHORLEMMER et al. (2003), with an identical animal model, also describe similar changes in microstructural measurements at vertebral level in sheep. Other studies described more profound changes in bone loss, possibly due to the fact that they also associated to the protocol a Ca/P/vit. D deficient diet to the GC-treated OXV implementation protocol (LILL et al., 2002; ZARRINKALAM et al., 2009; ESCHLER et al., 2015). However,

in this study it was decided to maintain a balanced diet since deficient levels of Ca and P would not alter the possible correlations of these minerals at serum level with the other blood parameters under study.

As expected, among the assessed BTMs level, total ALP and BALP activities and intact OC concentration, almost always, showed consistently higher values over time in the sham control group than in the GC-treated OVX sheep group (except for the intact OC level at T4) (Table 1, Figure 1). Just the bone resorption marker CTX, always presented higher values in the GC-treated OVX sheep group than in sham control group (Table 1, Figure 1). These results are in line with those presented by ANDREASEN et al. (2015), KIELBOWICZ et al. (2015) and CABRERA et al. (2018) who also determined intact OC and CTX levels in a similar animal model, with those of DING et al. (2010) for intact OC and also with the CTX level results obtained in the study of ZARRINKALAM et al. (2009). Thereby, following BTMs level it is possible to consider that sheep model reaches the highest bone remodeling 8 weeks start the bone loss induction protocol. Other authors support the hypothesis that the sheep model undergoes the highest remodeling in short term and might be not suitable for long term studies (SIGRIST et al., 2007; ZARRINKALAM et al., 2009). However, in the present study it was also possible to observe a second significant reduction of intact OC level associated with an increase of CTX level (Table 1, Figure 1) after T5. The TRAP activity did not present statistical differences between the two groups which could be justified by the fact that this enzyme represents the set of two known isoforms – the TRAP 5a and 5b, and not just of the 5b isoform, which is the specific biomarker of osteoclastic resorption activity. Thus, the TRAP activity result might represent the metabolic expression of different organic tissues, and not just of bone tissue.

In the sham control group, serum Ca concentration always showed higher levels over the postoperative period compared to the GC-treated OVX sheep group, and the contrary was observed for P concentration (Table 1, Figure 1). These differences allow to perceive the involvement of these minerals in the bone turnover process and the negative correlation of the variation between these two parameters. Positive correlations in normal physiologic conditions between the formation marker BALP activity with serum Ca concentration and negative with serum P concentration, support the involvement of this BTM with the mineralization process. Also, the significant positive correlation between BALP activity and intact OC level, and negative correlation between these two formation markers and the resorption marker TRAP activity, could help to confirm their opposite function.

It is noteworthy that the serum E_2 level remained in the GC-treated OVX sheep group always with values below those of the sham control group, declining until T6 (Table 1, Figure 1), as expected and as reported by SIGRIST et al. (2007) and KIELBOWICZ et al. (2015). Also, regarding E_2 level, the result with high statistical significance should be highlighted in the study of correlations obtained in the sham control group in which this parameter varies positively with the formation markers – BALP activity and intact OC level,

and total Ca concentration and negatively with the resorption marker TRAP activity, and P concentration, which is extremely elucidative about the role of this hormone in the process of bone turnover. It should also be noted that all correlations obtained between E_2 level and serum BTMs and minerals levels under normal physiological conditions change and disappear in the GC-treated OVX sheep.

CONCLUSION

This study contributes to a better knowledge of the GC-treated OVX sheep model for osteoporosis research and the consequences that the present induction protocol may impose on its bone metabolism. From the physiologic hemodynamic point of view, these results confirm the reliability of these serum BTMs level determination in sheep for orthopedic research, proving the decreased bone formation by decreased of BALP activity and intact OC level, which indicate delay or disruption in the process of bone tissue mineralization, and increased bone resorption through increased CTX level in the GC-treated OVX sheep. Namely, the variations of the intact OC, as stated by VERGNAUD et al. (1997) and CLEMENS & KARSENTY (2001), and of CTX levels, as referred by VASIKARAN et al. (2011), in this animal model confirm these BTMs as reliable and sensitive indicators of diminished quality of bone and for the treatment of osteoporosis monitoring. Also, the obtained correlations between these serum BTMs, minerals and E_2 levels clarify about their intervention and interrelation in the bone turnover process.

FUNDING AND ACKNOWLEDGEMENTS

This work is funded by national funds through Portuguese Foundation for Science and Technology (FCT) under the projects UIDB/AGR/04033/2020 and UIDB/CVT/00772/2020. J. A. CAMASSA acknowledges to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brazil, for his PhD scholarship 202248/2015-1. Authors thank Dr. JOÃO A. BORDELO and Dr. CAMILA C. DIOGO for their assistance during the animal model osteoporosis induction protocol realization and also to ARIUM enterprise, Portugal, for technical assistance in the bone turnover markers determination.

CONFLICT OF INTERESTS STATEMENT

The authors declare that there is no conflict of interests.

REFERENCES

ANDERSEN, T. L.; ABDELGAWAD, M. E.; KRISTENSEN, H. B.; HAUGE, E. M.; ROLIGHED, L.; BOLLERSLEV, J.; KJÆRSGAARD-ANDERSEN, P.; DELAISSE, J. M. Understanding coupling between bone resorption and formation: are reversal cells the missing link? **The American Journal of Pathology**, v. 183, n. 1, p. 235-246, 2013.

ANDERSEN, T. L.; SONDERGAARD, T. E.; SKORZYNSKA, K. E.; DAGNAES-HANSEN, F.; PLESNER, T. L.; HAUGE, E. M.; PLESNER, T.; DELAISSE, J. M. A physical mechanism for coupling bone resorption and formation in adult human bone. **The American Journal of Pathology**, v. 174, n.1, p. 239-247, 2009.

ANDREASEN, C. M.; DING, M.; OVERGAARD, S.; BOLLEN, P.; ANDERSEN, T. L. A reversal phase arrest uncoupling the bone formation and resorption contributes to the bone loss in glucocorticoid treated ovariectomised aged sheep. **Bone**, v. 75, p. 32-39, 2015.

BARBOSA FPS, ALMEIDA VM, ALBUQUERQUE RF, ROCHA BP, SOARES PC, SILVA GB, CHAVES HA AND MENDONÇA FS. Phosphorus deficiency in goats in the semiarid region of Pernambuco, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n.6, p. 1117-1124, 2018.

BONEWALD, L. F. The amazing osteocyte. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 26, n. 2, p. 229-238, 2011.

BRAUN, U.; OHLERTH, S.; LIESEGANG, A.; FORSTER, E.; GORBER, U.; TSCHUOR, A.; BEARTH, G.; MUNTWYLER, J.; WIEDERKEHR, D.; OSSENT, P. Osteoporosis in goats associated with phosphorus and calcium deficiency. **Veterinary Record**, v. 164, n. 7, p. 211-213, 2009.

BUCK, B. C.; ULRICH, R.; TAUBE, V.; JACOBSEN, B.; GANTER, M. Osteopenia as a result of copper deficiency in a dwarf Thuringian Forest goat. **Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Großtiere Nutztiere**, v. 40, n. 1, p. 45-52, 2012.

CABRERA, D.; WOLBER, F.W.; DITTMER, K.; ROGERS, C.; RIDLER, A.; ABERDEIN, D.; PARKINSON, T.; CHAMBERS, P.; FRASER, K.; ROY, N. C.; KRUGER, M. Glucocorticoids affect bone mineral density and bone remodelling in OVX sheep: A pilot study. **Bone Reports**, v. 9, p. 173-180, 2018.

CLEMENS, T. L.; KARSENTY, G. The osteoblast: An insulin target cell controlling glucose homeostasis. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 26, n. 4, p. 677-680, 2001.

COELHO, C. A.; BORDELO, J. P.; CAMASSA, J. A.; BARROS, V. A.; BABO, P. S.; GOMES, M. E.; REIS, R. L.; DE AZEVEDO, J. T.; REQUICHA, J. P.; FAÍSCA, P.; CARVALHO, P. P.; VIEGAS, C. A.; DIAS, I. R. Evaluation of hematology, general serum biochemistry, bone turnover markers and bone marrow cytology in a glucocorticoid treated ovariectomized sheep model for osteoporosis research. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, n. 4, p. 1-16, e20200435, 2020.

CREMERS, S.; GARNERO, P.; SEIBEL, M. J. Biochemical markers of bone metabolism. *In*: Bilezikian, J. P.; Raisz, L. G.; Martin, T. J. **Principles of Bone Biology**. Vol. II, 3rd ed. Academic Press: San Diego, CA, USA, 2008. p. 1857-1881.

DIAS, I. R.; CAMASSA, J. A.; BORDELO, J. A.; BABO, P. S.; VIEGAS, C. A.; DOURADO, N.; REIS, R. L.; GOMES, M. E. Preclinical and translational studies in small ruminants (sheep and goat) as models for osteoporosis research. **Current Osteoporosis Reports**, v. 16, n. 2, p. 182-197, 2018.

DIAS, I. R.; VIEGAS, C. A.; DE AZEVEDO, J. T.; COSTA, E. M.; LOURENÇO, P.; RODRIGUES, A.; CABRITA, A. S. Assessment of markers of bone formation under controlled environmental factors and their correlation with serum minerals in adult sheep as a model for orthopaedic research. **Laboratory Animals**, v. 42, n. 4, p. 465-472, 2008.

DING, M.; CHENG, L.; BOLLEN, P.; SCHWARZ, P.; OVERGAARD, S. Glucocorticoid induced osteopenia in cancellous bone of sheep: validation of large animal model for spine fusion and biomaterial research. **Spine (Phila Pa 1976)**, v. 35, n. 4, p. 363-370, 2010.

DOUBE, M.; KŁOSOWSKI, M. M.; ARGANDA-CARRERAS, I.; CORDELIÈRES, F. P.; DOUGHERTY, R. P.; JACKSON, J. S.; SCHMID, B.; HUTCHINSON, J. R.; SHEFELBINE, S. J. BoneJ: Free and extensible bone image analysis in ImageJ. **Bone**, v. 47, n. 6, p. 1076-1079, 2010.

EL KHASSAWNA, T.; MERBOTH, F.; MALHAN, D.; BÖCKER, W.; DAGHMA, D. E. S.; STOETZEL, S.; KERN, S.; HASSAN, F.; ROSENBAUM, D.; LANGENSTEIN, J.; BAUER, N.; SCHLAGENHAUF, A.; RÖSEN-WOLFF, A.; SCHULZE, F.; RUPP, M.; HOSE, D.; SECKLINGER, A.; IGNATIUS, A.; WILKE, H. J.; LIPS, K. S.; HEISS, C. Osteocyte regulation of receptor activator of NF- κ B Ligand/osteoprotegerin in a sheep model of osteoporosis. **The American Journal of Pathology**, v. 187, n. 8, p. 1686-1699, 2017.

ESCHLER, A.; RÖPENACK, P.; HERLYN, P. K.; ROESNER, J.; PILLE, K.; BÜSING, K.; VOLLMAR, B.; MITTLMEIER, T.; GRADL, G. The standardized creation of a lumbar spine vertebral compression fracture in a sheep osteoporosis model induced by ovariectomy, corticosteroid therapy and calcium/phosphorus/vitamin D-deficient diet. **Injury**, v. 46, p. S17-23, Suppl 4, 2015.

FENG, X.; MCDONALD, J. M. Disorders of bone remodelling. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 6, p. 121-145, 2011.

GOLUB, E. E.; BOESZE-BATTAGLIA, K. The role of alkaline phosphatase in mineralization. **Current Opinion in Orthopaedics**, v. 18, p. 444-448, 2007.

HALLEEN, J. M.; ALATALO, S. L.; JANCKILA, A. J.; WOITGE, H. W.; SEIBEL, M. J.; VÄÄNÄNEN, H. K. Serum tartrate-resistant acid phosphatase 5b is a specific and sensitive marker of bone resorption. **Clinical Chemistry**, v. 47, n. 3, p. 597-600, 2001.

IKEDA, K.; TAKESHITA, S. The role of osteoclast differentiation and function in skeletal homeostasis. **The Journal of Biochemistry**, v. 159, n. 1, p. 1-8, 2016.

JENSEN, P. R.; ANDERSEN, T. L.; ABDALLAH, B. M.; HAUGE, E.; BOLLERSLEV, J.; DELAISSE, J. M. Arrest of the reversal phase in postmenopausal and glucocorticoid-induced osteoporosis. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 26, p. S57, Suppl. 1, 2011.

KAPASA, E.; GIANNOUDIS, P.; JIA, X.; HATTON, P.; YANG, X. The Effect of RANKL/OPG Balance on reducing implant complications. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 8, n. 4, p. 42, 2017.

KIEŁBOWICZ, Z.; PIĄTEK, A.; BIEŻYŃSKI, J.; SKRZYPCZAK, P.; KUROPKA, P.; KURYSZKO, J.; NIKODEM, A.; KAFARSKI, P.; PEZOWICZ, C. The experimental osteoporosis in sheep--clinical approach. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 18, n. 3, p. 645-654, 2015.

KLEIN, G. L. The effect of glucocorticoids on bone and muscle. **Osteoporosis Sarcopenia**, v. 1, n. 1, p. 39-45, 2015.

KLEIN, P.; BAIL, H. J.; SCHELL, H.; MICHEL, R.; AMTHAUER, H.; BRAGULLA, H.; DUDA, G. N. Are bone turnover markers capable of predicting callus consolidation during bone healing? **Calcified Tissue International**, v. 75, n. 1, p. 40-49, 2004.

LEEMING, D. J.; ALEXANDERSEN, P.; KARSDAL, M. A.; QVIST, P.; SCHALLER, S.; TANKÓ, L. B. An update on biomarkers of bone turnover and their utility in biomedical research and clinical practice. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 62, n. 10, p. 781-792, 2006.

LERNER, U. H. Bone remodeling in post-menopausal osteoporosis. **Journal of Dental Research**, v. 85, n. 7, p. 584-595, 2006.

LILL, C.; FLUEGEL, A. K.; SCHNEIDER, E. Effect of ovariectomy, malnutrition and glucocorticoid application on bone properties in sheep: a pilot study. **Osteoporosis International**, v. 13, n. 6, p. 480-486, 2002.

LILL, C. A.; GERLACH, U. V.; ECKHARDT, C.; GOLDHAHN, J.; SCHNEIDER, E. Bone changes due to glucocorticoid application in an ovariectomized animal model for fracture treatment in osteoporosis. **Osteoporosis International**, v. 13, n. 5, p. 407-414, 2002.

LIU, W.; XU, C.; ZHAO, H.; XIA, P.; SONG, R.; GU, J.; LIU, X.; BIAN, J.; YUAN, Y.; LIU, Z. Osteoprotegerin induces apoptosis of osteoclasts and osteoclast precursor cells via the fas/fas ligand pathway. **PLoS One**, v. 10, n. 11, p. e0142519, 2015.

MAENZ, S.; BRINKMANN, O.; HASENBEIN, I.; BRAUN, C.; KUNISCH, E.; HORBERT, V.; GUNNELLA, F.; SACHSE, A.; BISCHOFF, S.; SCHUBERT, H.; JANDT, K. D.; BOSSERT, J.; DRIESCH, D.; KINNE, R. W.; BUNGARTZ, M. The old sheep: a convenient and suitable model for senile osteopenia. **Journal of Bone Mineral Metabolism**, v. 38, p. 620-630, 2020.

MATSUO, K.; IRIE, N. Osteoclast-osteoblast communication. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 473, n. 2, p. 201-209, 2008.

MEIKLE, M. C. The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 Years after Carl Sandstedt. **European Journal of Orthodontics**, v. 28, n. 3, p. 221-240, 2006.

MILLAN, J. L. Alkaline phosphatases: structure, substrate specificity and functional relatedness to other members of a large superfamily of enzymes. **Purinergic Signalling**, v. 2, n. 2, p. 335-341, 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Sheep**. 6th ed. National Academies Press: Washington DC, WA, USA, 1985.

NEVE, A.; CORRADO, A.; CANTATORE, F. P. Osteocalcin: skeletal and extra-skeletal effects. **Journal of Cellular Physiology**, v. 228, n. 6, p. 1149-1153, 2013.

RIGGS, B. L.; KHOSLA, S.; ATKINSON, E. J.; DUNSTAN, C. R.; MELTON, L. J. Evidence that type I osteoporosis results from enhanced responsiveness of bone to estrogen deficiency. **Osteoporosis International**, v. 14, n. 9, p. 728-733, 2003.

RIGGS, B. L.; MELTON, 3RD L. J. Involutional osteoporosis. **New England Journal of Medicine**, v. 314, n. 26, p. 1676-1686, 1986.

ROSA, F. B.; CAPRIOLI, R. A.; SILVA, T. M.; GALIZA, G. J. N.; BARROS, C. S. L.; IRIGOVEN, I. F.; FIGHERA, R. A.; KOMMERS, G. D. Diseases of goats diagnosed in the Central region of Rio Grande do Sul, Brazil: 114 cases. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 199-204, 2013a.

ROSA, F. B.; GALIZA, G. J. N.; LUCENA, R. B.; SILVA, T. M.; CAPRIOLI, R. A.; BARROS, C. S. L.; FIGHERA, R. A.; KOMMERS, G. D. Osteoporose em caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 4, p. 483-489, 2013b.

SCHORLEMMER, S.; GOHL, C.; IWABU, S.; IGNATIUS, A.; CLAES, L.; AUGAT, P. Glucocorticoid treatment of ovariectomized sheep affects mineral density, structure, and mechanical properties of cancellous bone. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 18, n. 11, p. 2010-2015, 2003.

SEEBECK, P.; BAIL, H. J.; EXNER, C.; SCHELL, H.; MICHEL, R.; AMTHAUER, H.; BRAGULLA, H.; DUDA, G. N. Do serological tissue turnover markers represent callus formation during fracture healing? **Bone**, v. 37, n. 5, p. 669-677, 2005.

SEIBEL, M. J. Biochemical markers of bone turnover: Part I: Biochemistry and variability. **The Clinical Biochemist Reviews**, v. 26, n. 4, p. 97-122, 2005.

SHETTY, S.; KAPOOR, N.; BONDU, J. D.; THOMAS, N.; PAUL, T. V. Bone turnover markers: Emerging tool in the management of osteoporosis. **Indian Journal of Endocrinology and Metabolism**, v. 20, n. 6, p. 846-852, 2006.

SIGRIST, I. M.; GERHARDT, C.; ALINI, M.; SCHNEIDER, E.; EGERMANN, M. The long-term effects of ovariectomy on bone metabolism in sheep. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, v. 25, p. 28-35, 2007.

SOUSA, C. P.; DE AZEVEDO, J. T.; REIS, R. L.; GOMES, M. E.; DIAS, I. R. Short-term variability in biomarkers of bone metabolism in sheep. **Lab Animal (NY)**, v. 43, n. 1, p. 21-26, 2014.

SOUSA, C. P.; DIAS, I. R.; LOPEZ-PEÑA, M.; CAMASSA, J. A.; LOURENÇO, P. J.; JUDAS, F. M.; GOMES, M. E.; REIS, R. L. Bone turnover markers for early detection of fracture healing disturbances: A review of the scientific literature. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 2, p. 1049-1061, 2015.

TEITELBAUM, S. L. Osteoclasts: what do they do and how do they do it? **American Journal of Pathology**, v. 170, n. 2, p. 427-435, 2007.

THOMPSON, K. G. Skeletal diseases of sheep. **Small Ruminant Research**, v. 76, n. 1, p. 112-119, 2008.

VASIKARAN, S.; EASTELL, R.; BRUYERE, O.; FOLDES, A. J.; GARNERO, P.; GRIESMACHER, A.; MCCLUNG, M.; MORRIS, H. A.; SILVERMAN, S.; TRENTI, T.; WAHL, D. A.; COOPER, C.; KANIS, J. A., IOF-IFCC BONE MARKER STANDARDS WORKING GROUP. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards. **Osteoporosis International**, v. 22, n. 2, p. 391-420, 2011.

VERGNAUD, P.; GARNERO, P.; MEUNIER, P. J.; BRÉART, G.; KAMIHAGI, K.; DELMAS, P. D. Undercarboxylated osteocalcin measured with a specific immunoassay predicts hip fracture in elderly women: The EPIDOS Study. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 82, n. 3, p. 719-724, 1997.

WHYTE, M. P. Hypophosphatasia and the role of alkaline phosphatase in skeletal mineralization. **Endocrinology Reviews**, v. 15, n. 4, p. 439-461, 1994.

WILKENS, M. R.; MROCHEN, N.; BREVES, G.; SCHRODER, B. Effects of 1,25-dihydroxyvitamin D-3 on calcium and phosphorus homeostasis in sheep fed diets either adequate or restricted in calcium content. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 38, n. 3, p. 190-199, 2010.

ZARRINKALAM, M. R.; BEARD, H.; SCHULTZ, C. G.; MOORE, R. J. Validation of the sheep as a large animal model for the study of vertebral osteoporosis. **European Spine Journal**, v. 18, p. 244-253, 2009.

ZHANG, Z.; RENB, H.; SHENB, G.; QIUB, T.; LIANGA, D.; YANGA, Z.; YAOA, Z.; TANGA, J.; JIANGA, X.; WEIC, Q. Animal models for glucocorticoid-induced postmenopausal osteoporosis: An updated review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 84, p. 438-446, 2016.

CISTO ESPLÊNICO NÃO PARASITÁRIO EM *Mugil liza*

Data de aceite: 02/08/2021

Data de submissão: 06/07/2021

Juliana Murasaki

Médica Veterinária/Instituto Federal
Catarinense – Campus Araquari/ PIBIC
Araquari – SC
<http://lattes.cnpq.br/4524857541649334>

Maiara Boieng

Médica Veterinária/Instituto Federal
Catarinense – Campus Araquari
Araquari – SC
<http://lattes.cnpq.br/0834853547349595>

Flávia Zandoná Puchalski

Médica Veterinária/Instituto Federal
Catarinense – Campus Araquari
Araquari – SC
<http://lattes.cnpq.br/2172147283426360>

Elizabeth Schwegler

Professora EBTT/Instituto Federal Catarinense
– Campus Araquari
Araquari – SC
<http://lattes.cnpq.br/8951946913416730>

Juliano Santos Gueretz

Professor EBTT/Instituto Federal Catarinense –
Campus Araquari
Araquari – SC
<http://lattes.cnpq.br/0226756068414551>

RESUMO: Os cistos esplênicos são classificados em primários ou verdadeiros, que apresentam cápsula epitelial, os quais podem

ser não-parasitários, divididos em congênitos, vasculares ou neoplásicos, ou parasitários. E em secundários ou pseudocistos, que não possuem cápsula. Visto que a maior parte das descrições de cistos esplênicos não-parasitários é relacionada a achados em humanos e que existe escassa literatura sobre este assunto em peixes, este trabalho descreve um cisto esplênico não parasitário em *Mugil liza* e funciona como registro para futuros estudos do tema na ictiopatologia. Em necropsia de rotina, para pesquisa de biometria e parasitos em mugilídeos, foi observado um cisto esplênico num exemplar de tainha, *M. liza*, capturado na foz do Rio Parati, município de Araquari, litoral Norte de Santa Catarina. O peixe foi identificado como macho, pesava 1.029 gramas e media 49,8 cm de comprimento total. O baço do peixe media 3,1 cm de comprimento e 1,6 cm de largura e o cisto media 2,6 cm de diâmetro e era multilobulado. O cisto era do tipo primário não parasitário, de parede translúcida, conteúdo incolor e de etiologia desconhecida. Não há, na literatura consultada, relato de cisto esplênico não parasitário em teleósteos, sendo este portanto o primeiro relato de cisto esplênico não parasitário em *Mugil liza*.

PALAVRAS-CHAVE: Baço. Esplenopatia. Ictiopatologia. Tainha.

NONPARASITIC ESPLenic CYST IN *Mugil liza*

ABSTRACT: The splenic cysts are classified in primary or real, which have an epithelial capsule and could be nonparasitic, divided in congenital, vascular, or neoplastic, or parasitic. And in

secondary or pseudocysts, which do not have a capsule. Since most of the descriptions of nonparasitic splenic cysts is related to findings in human beings and there is scarce literature about this subject in fish, this study describes a nonparasitic splenic cyst in *Mugil liza* and acts as a register for future studies in fish pathology. During a routine necropsy for biometric and parasitic research in mugilids, a nonparasitic splenic cyst was observed in a mullet exemplar, *M. liza*, captured at the river mouth of the Parati river in Araquari, north shore of Santa Catarina. The fish was identified as a male, weighed 1,029 grams, measured 49.8 cm full length. The fish spleen measured 3.1 cm length and 1.6 cm breadth and the cyst measured 2.6 cm diameter and was multilobulated. The cyst was primary nonparasitic, had a translucent wall, colorless contents, and unknown etiology. In the literature reviewed there is no report of nonparasitic splenic cyst in teleost fish, therefore this is the first report of nonparasitic splenic cyst in *Mugil liza*.

KEYWORDS: Fish pathology. Mullet. Spleen. Spleen disease.

1 | INTRODUÇÃO

Os peixes são animais desprovidos de medula óssea e linfonodos (TAVARES-DIAS; MORAES, 2004), portanto, a hematopoiese, em teleósteos, ocorre principalmente no estroma esplênico e na região intersticial dos rins, e em menor extensão nas áreas periportais do fígado, submucosas do intestino e timo (AGIUS; ROBERTS, 2003). Entretanto, há variações dentre as espécies, podendo apresentar um ou mais órgãos com tecidos mieloides e linfoides (CAMPOS et al., 2008).

Segundo Hartley et al. (1996), os melanomacrófagos são as células atuantes do sistema imune dos peixes. Elas se organizam formando agregados de macrófagos denominados centros melanomacrófagos localizados em diferentes tecidos, principalmente no fígado, baço e rins (MESSEGUER et al., 1994). Os centros melanomacrófagos são comumente nodulares com delicada cápsula argirofílica e geralmente restrito aos canais vasculares (AGIUS, 1985). Estes centros têm por função a fagocitose de patógenos resistentes como esporos de parasitos e bactérias (ROBERTS, 1975); processamento de antígenos na resposta imune (AGIUS, 1985); destruição, detoxificação ou reciclagem de materiais endógenos e exógenos (FERGUSON, 1976; ELLIS, 1980; HERRAEZ; ZAPATA, 1986); depósito de metabólitos de células mortas, incluindo-se os eritrócitos (ROBERTS, 1975; AGIUS, 1980; FULOP; MCMILLAN, 1984) e resposta a corpos estranhos, incluindo agentes infecciosos (AGIUS; ROBERTS, 2003). Dessa forma, pode-se extrapolar essas funções ao baço.

De acordo com Martin (1958), em humanos, é possível classificar os cistos esplênicos em tipo I (primários ou verdadeiros) que apresentam cápsula epitelial, os quais podem ser não-parasitários, divididos em congênitos, vasculares ou neoplásicos, ou parasitários. E em tipo II (secundários ou pseudocistos) (GIOVAGNONI et al., 2005) que não possuem cápsula.

Os cistos congênitos (epiteliais) geralmente em sua macroscopia apresentam um cisto grande, liso, capsulado e ocasionalmente com trabéculas ou septações (HENRY; SYMMERS, 1992; KAWASHIMA; FISHMAN, 1994). Microscopicamente, o cisto é revestido internamente com tecido colunar, cuboide ou epitélio escamoso (SCHLITTLER; DALLAGASPERINA, 2010). E geralmente estão associados a involução de células pluripotenciais do parênquima esplênico durante o desenvolvimento com posterior metaplasia escamosa; origem a partir de células endoteliais peritoneais ou mesotélio celômico (SCHLITTLER; DALLAGASPERINA, 2010).

Os cistos não-parasitários vasculares podem resultar em superfície nodular do baço (LACSON et al., 1979) e no corte da peça demonstra-se numerosos cistos com sangue enchendo as suas cavidades (TADA et al., 1983). Ocasionalmente artérias se projetam para o lúmen dos cistos que podem contribuir para a letalidade da doença (SCHLITTLER; DALLAGASPERINA, 2010).

Os cistos esplênicos neoplásicos podem ser divididos em hemangioma, linfangioma, linfoma e metástases (SCHLITTLER; DALLAGASPERINA, 2010). Sendo, em humanos, os mais comuns os angiomas originados de vasos sanguíneos (hemangioma) e vasos linfáticos (linfangioma) (SCHLITTLER; DALLAGASPERINA, 2010).

Os cistos parasitários em peixes podem estar associados à presença intracelular, nos centros melanomacrófagos, de bactérias ácido-resistentes como as micobactérias e parasitos como *Myxobolus* spp. (ROBERTS, 2001; CAMPOS et al., 2008).

Os pseudocistos, denominados dessa maneira devido a sua ausência de cápsula, macroscopicamente são, em sua maioria, menores do que cistos verdadeiros e podem conter debris internos (SCHLITTLER; DALLAGASPERINA, 2010). Microscopicamente, estes cistos são compostos por tecido fibroso denso, muitas vezes calcificado, sem epitélio de revestimento (SCHLITTLER; DALLAGASPERINA, 2010). Contêm uma mistura de sangue e restos necróticos no seu interior (GIOVAGNONI et al., 2005).

Visto que a maior parte das descrições de cistos esplênicos não-parasitários é relacionada a achados em humanos e que existe escassa literatura sobre este assunto em peixes, este trabalho se faz necessário como descrição e registro para futuros estudos do tema na ictiopatologia.

2 | METODOLOGIA

O peixe capturado foi submetido à eutanásia de acordo com os preceitos da Resolução CFMV n°1000/2012, de 11 de maio de 2012 e Resolução CONCEA n°13, de 26 de setembro de 2013. Posteriormente foi realizada necropsia de acordo com recomendações descritas por Eiras et al. (2006), Ishikawa et al. (2010), Jerônimo et al. (2011), Jerônimo et al. (2012) e Eiras et al. (2013). O projeto de pesquisa que originou este relato foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)

do Instituto Federal Catarinense, Campus Araquari, mediante certificado 285/2018 e pelo Instituto Chico Mendes de Conservação e Biodiversidade – ICMBio, mediante Autorização para Atividades com Finalidade Científica – SISBIO 67155-1.

O cisto foi observado macroscopicamente na cavidade celomática. Posteriormente o baço com o cisto esplênico foi dissecado, medido e fotografado.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

O baço do peixe media 3,1 cm de comprimento e 1,6 cm de largura e o cisto media 2,6 cm de diâmetro e era multilobulado. O cisto (Figura 1) era do tipo primário não parasitário, de parede translúcida, conteúdo incolor e de etiologia desconhecida.



Figura 1: Cisto esplênico não parasitário em *Mugil liza* capturado na foz do Rio Parati, município de Araquari SC.

Fonte: Juliano Santos Gueretz.

Em humanos cistos esplênicos do tipo não parasitário não são comuns e são de achados incidentais (GUERRA et al., 2012; NAVARINI et al., 2010; SCHLITTLER; DALLAGASPERINA, 2010; OLIVAL et al. 2016; PAULO et al., 2016; WERLE et al., 2017). Os relatos na espécie humana corroboram pesquisas em teleósteos, pois não há na literatura relatos de cistos não parasitários nestes peixes. Entretanto, há um relato de cisto parasitário e um cisto calcificado, no baço, em *Piaractus mesopotamicus* capturados no Rio Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil (CAMPOS et al., 2008).

4 | CONCLUSÃO

Não há, na literatura consultada, relato de cisto esplênico não parasitário em teleósteos, sendo este portanto o primeiro relato de cisto esplênico não parasitário em *Mugil liza*.

REFERÊNCIAS

AGIUS, C.; ROBERTS, R.J. Melano-macrophage centers and their role in fish pathology. **Journal of Fish Disease**, v. 26, n. 9, p. 499-509, 2003.

AGIUS, C. The melano-macrophage centers in fish: a review. In: MANNING, M.J.; TATNER, M.F. (Eds.). **Fish Immunology**. London: Academic Press. p.85-105, 1985.

AGIUS, C. Phylogenetic development of melano-macrophage centers in fish. **Journal of Zoology**, v. 191, n. 1, p.11-31, 1980.

CAMPOS, C.M.; MORAES, J.R.E.; MORAES, F.R. Histopatologia de fígado, rim e baço de *Piaractus mesopotamicus*, *Prochilodus lineatus* e *Pseudoplatystoma fasciatum* parasitados por myxosporídios, capturados no rio Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 17, n. 4, p. 200-205, 2008.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. **Guia brasileiro de boas práticas para eutanásia em animais: conceitos e procedimentos recomendados**. Brasília: CFMV, p. 62, 2012.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Resolução N° 1000, de 11 de maio de 2012. **Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 17 de maio de 2012.

CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL CONCEA. **Diretrizes da Prática de Eutanásia do CONCEA**. Brasília. p. 54, 2013.

EIRAS, J. C. et al. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**. 2 ed. Maringá: EDUEM. p. 199, 2006.

EIRAS, J. C. et al. Amostragem, necropsia dos hospedeiros e métodos laboratoriais em parasitologia de peixes. In: PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M.; EIRAS, J. C. **Parasitologia de peixes de água doce do Brasil**. Maringá: EDUEM, p. 37-65, 2013.

ELLIS, A.E. Antigen-trapping in the spleen and kidney of the plaice *Pleuronectes platessa* L. **Journal of Fish Disease**. v. 3, n. 5, p. 413-426, 1980.

FERGUSON, H.W. The relationship between ellipsoids and melano-macrophage centers in the spleen of turbot (*Scophthalmus maximus*). **Journal of Comparative Pathology**, v. 86, n. 3, p. 377-380, 1976.

FULOP, G.M.I.; McMILLAN, D. Phagocytosis in the spleen of the sunfish *Lepomis* spp. **Journal of Morphology**, v. 179, n. 2, p. 175-195, 1984.

GIOVAGNONI A.; GIORGI C.; GOTERI G. Tumours of the spleen. **Cancer Imaging**, v. 5, n.1, p.. 73-77, 2005.

HARTLEY, W.R.; THIYAGARAJAH, A.; TREINIES, A.M. Liver lesions in the Gar Fish (*Lepisosteidae*) as biomarkers of exposure. **Marine Environmental Research**, v. 42, n. 1-4, p. 217-221, 1996.

HEIDENREICH A.; CANERO A.; DI PASQUO A. Laparoscopic approach for treatment of a primary splenic cyst. **Surgical Laparoscopy & Endoscopy**, v. 6, n. 3, p. 243-246, 1996.

HENRY K.; SYMMERS W. **Systemic pathology**. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone. p. 574-603, 1992.

HERRAEZ, M.P.; ZAPATA, A.G. Structure and function of the melano-macrophage centers of the goldfish *Carassius auratus*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v. 12, n. 1-4, p. 117-126, 1986.

ISHIKAWA, M. M. et al. **Procedimentos básicos para colheita de sangue em peixes**. Circular Técnica 17. Dourados: EMBRAPA. p. 8, 2010.

JERÔNIMO, G. T. et al. **Métodos para coleta de parasitos de peixes**. Circular Técnica 39. Macapá: EMBRAPA. p. 6, 2011.

JERÔNIMO, G. T. et al. **Coleta de parasitos em peixes de cultivo**. Brasília: EMBRAPA. p. 36, 2012.

KAWASHIMA A.; FISHMAN E. Benign splenic lesions. In: Gore RM, Levine MS, Laufer I, Eds. **Textbook Of Gastrointestinal Radiology**. Philadelphia, Pa: Saunders. p. 2251-2299, 1994.

LACSON A.; BERMAN L.D.; NEIMAN R.S. Peliosis of the spleen. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 71(5), n. 586-590, 1979.

MARTIN JW. **Congenital splenic cysts**. **The American Journal of Surgery**, v. 96, n. 2, p. 302-308, 1958.

MESSEGUER, J.; LOPEZ-RUIZ, A.; ESTEBAN, M.A. Melano-macrophages of the seawater teleosts, sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*): morphology, formation and possible function. **Cell Tissue Research**, v. 277, n. 1, p. 1-10, 1994.

ROBERTS, R.J. Melanin-containing cells of the teleost fish and their relation to disease. In: RIBELIN, W. E.; MIGAKI, G. (Ed.) **The Pathology of Fishes**. Madison: University of Wisconsin Press. p. 339-428, 1975.

ROBERTS, R.J. **Fish Pathology**. 3rd ed, London: W.B. Saunders. p. 472, 2001.

SCHLITTLER L. A.; DALLAGASPERINA V. W. **Cistos esplênicos não-parasitários**. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 37, n. 6, p. 442-446, 2010.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. **Hematologia de peixes teleósteos**. Ribeirão Preto: M. Tavares-Dias. 2004, 144 p.

TADA T.; WAKABAYASHI T.; KISHIMOTO H. Peliosis of the spleen. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 79, n. 6, p. 708-713, 1983.

CAPÍTULO 4

EMPREGO DA ABORDAGEM SUBESCALÊNICA PARA REALIZAÇÃO DE BLOQUEIO DO PLEXO BRAQUIAL ÀS CEGAS EM CÃO – RELATO DE CASO

Data de aceite: 02/08/2021

Maria Franciscarla Nascimento Moura

Universidade Federal de Campina Grande
Patos – Paraíba
<http://lattes.cnpq.br/2947696611439047>

Fernanda Vieira Henrique

Universidade Federal de Campina Grande
Patos – Paraíba
<http://lattes.cnpq.br/1163266214817635>

Jardel de Azevedo Silva

Universidade Federal de Campina Grande
Patos – Paraíba
<http://lattes.cnpq.br/3374783447564603>

Andressa Krízia Soares Emiliano

Universidade Federal de Campina Grande
Patos – Paraíba
<http://lattes.cnpq.br/9140433077758985>

Victor Manuel de Lacerda Freitas

Universidade Federal de Campina Grande
Patos – Paraíba
<http://lattes.cnpq.br/9596391044109060>

Diana de Azevedo Lima

Universidade Federal de Campina Grande
Patos – Paraíba
<http://lattes.cnpq.br/1808827011864336>

Tallyson Medeiros Gomes

Universidade Federal de Campina Grande
Patos – Paraíba
<http://lattes.cnpq.br/2209210408629298>

Ermano Lucena de Oliveira

Universidade Federal de Campina Grande
Patos – Paraíba
<http://lattes.cnpq.br/1129071594212170>

Pedro Isidro da Nóbrega Neto

Universidade Federal de Campina Grande
Patos – Paraíba
<http://lattes.cnpq.br/4191563705081259>

RESUMO: Cirurgias ortopédicas requerem excelente relaxamento muscular e analgesia, e o emprego de bloqueios locorreionais, como o do plexo braquial, são técnicas que atendem a estas exigências. O presente relato refere-se ao emprego do bloqueio do plexo braquial, por meio da abordagem subescalênica, em um cão submetido à osteossíntese de rádio e ulna. O animal foi sedado com midazolam 0,5% (0,2 mg/kg) associado à morfina 1% (0,2 mg/kg), ambos na mesma seringa, administrados pela via IM. A anestesia foi induzida com propofol 1% (4 mg/kg), IV, e mantida com a infusão contínua de propofol 1% (0,4 a 0,25 mg/kg/min) e remifentanil 0,05% (10 mcg/kg/h), ambos IV, associados ao bloqueio do plexo braquial empregando a abordagem subescalênica, sem emprego de neurolocalizador, com bupivacaína 0,5% associada à lidocaína 2% (0,3 mL/kg) ambos sem vasoconstrictor. Avaliaram-se frequência cardíaca, frequência respiratória, saturação de oxihemoglobina, pressão arterial média e temperatura retal, antes da sedação e a cada 10 minutos após a realização do bloqueio do plexo braquial, durante duas horas. Os parâmetros fisiológicos mantiveram-se estáveis durante a cirurgia, não necessitando de resgate analgésico. A recuperação anestésica foi rápida, tranquila e sem vocalizações. A técnica de anestesia locorreional foi eficaz, proporcionando

miorrelaxamento e insensibilização do membro durante todo o procedimento, além de uma recuperação satisfatória.

PALAVRAS-CHAVE: Analgesia. Anestesia regional. Canino. Membro torácico.

USE OF THE SUBSCALENE APPROACH FOR BRACHIAL PLEXUS BLINDED BLOCK IN DOG - CASE REPORT

ABSTRACT: Orthopedic surgeries require excellent muscle relaxation and analgesia, and the use of locoregional blocks, such as that of the brachial plexus, are techniques that meet these requirements. The present report refers to the use of brachial plexus block, using the subscenal approach, in a dog submitted to radius and ulna osteosynthesis. The animal was sedated with 0.5% midazolam (0.2 mg/kg) associated with 1% morphine (0.2 mg/kg), both in the same syringe, administered via IM. Anesthesia was induced with propofol 1% (4 mg/kg), IV, and maintained with continuous infusion of 1% propofol (0.4 to 0.25 mg / kg / min) and 0.05% remifentanil (10 mcg/kg/h), both IV, associated with brachial plexus block using the subscalene approach, without neurolocalizer use, with 0.5% bupivacaine associated with 2% lidocaine (0.3 mL/kg) both without vasoconstrictor. Heart rate, respiratory rate, oxyhemoglobin saturation, mean arterial pressure and rectal temperature were evaluated before sedation and every 10 minutes after performing brachial plexus block, for two hours. The physiological parameters remained stable during the surgery, requiring no pain rescue. Anesthetic recovery was fast, smooth and absent of vocalizations. The technique of locoregional anesthesia was effective, providing muscle relaxation and numbness of the limb throughout the procedure, in addition to a satisfactory recovery.

KEYWORDS: Analgesia. Regional anesthesia. Canine. Thoracic limb.

1 | INTRODUÇÃO

O bloqueio local permite a insensibilização sensorial e motora de forma reversível, por inibição do potencial de ação nos tecidos (KLAUMANN et al., 2013). Sendo assim, as técnicas de anestesia regional possibilitam a realização de procedimentos com mínima necessidade de anestésicos hipnóticos e miorrelaxantes, estabilidade cardiovascular, além de conferir analgesia trans- e pós-operatória e ser a principal ferramenta contra a sensibilização central ao estímulo algíco (CABALA, 2016; KLAUMANN et al., 2013; FUTEMA, 2014).

A anestesia do plexo braquial é determinada pelo bloqueio dos nervos radial, mediano, ulnar, subescapular e musculocutâneo, que são ramos dos 6°, 7° e 8° nervos cervicais (C6, C7, C8), e 1° e 2° torácicos (T1, T2). Este bloqueio inativa a atividade motora, sensitiva e autonômica do membro torácico, e pode ser realizado por diversas abordagens, tais como: paravertebral, subescalênica, axilar e bloqueando os nervos radial, ulnar, mediano e músculo-cutâneo em nível proximal do braço (RUMM proximal), em nível do terço médio do braço (RUMM distal) e em nível proximal do antebraço (RUM proximal) (FIGURA 1). Contudo, algumas técnicas necessitam do auxílio de neuroestimulador, associado ou não à

ultrassonografia, para se obter a eficácia do bloqueio (OTERO et al., 2018).

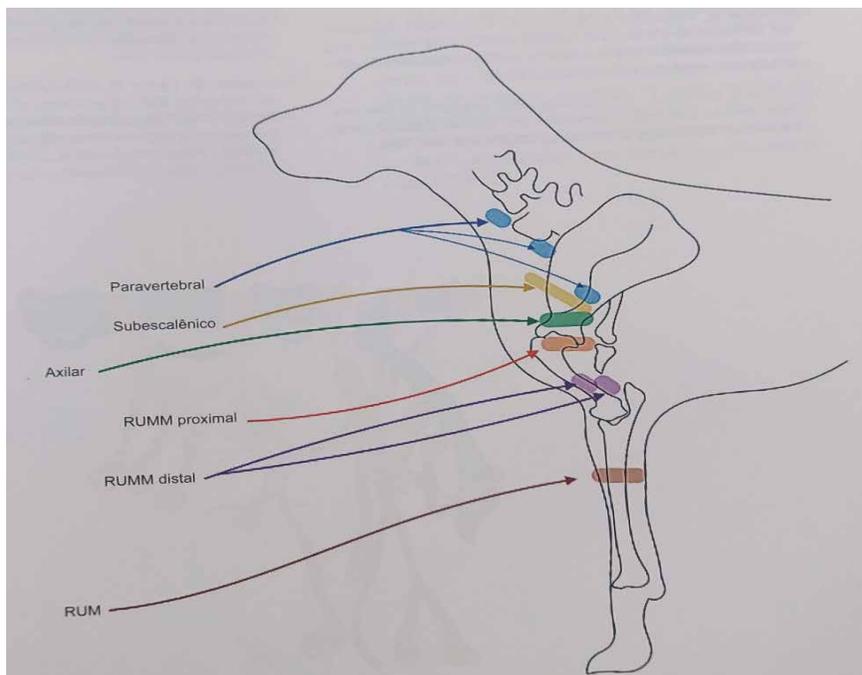


FIGURA 1. Demonstração das abordagens para bloqueios do membro torácico: paravertebral, subescalênico, axilar e bloqueio dos nervos radial, ulnar, mediano e músculo-cutâneo a nível proximal do braço (RUMM proximal), a nível do terço médio do braço (RUMM distal) e a nível proximal do antebraço (RUM proximal).

Fonte: OTERO et al. (2018).

A abordagem subescalênica permite a dessensibilização da região do ombro, braço, cotovelo, antebraço e da região distal do membro torácico, através da infiltração do anestésico sobre as raízes ventrais dos nervos C6 ao T1, ao passar entre o músculo escaleno médio e o longo do pescoço (OTERO et al., 2018). Estudos com o uso da técnica são escassos, principalmente sem o auxílio de neurolocalizador e/ou ultrassonografia.

Com isso, objetivou-se com este trabalho relatar a eficácia do bloqueio do plexo braquial pela abordagem subescalênica, realizada sem uso de equipamentos auxiliares, em um cão submetido à osteossíntese de rádio e ulna.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Um animal sem raça definida, da espécie canina, com três meses de idade, macho, pesando 5 kg, foi atendido no Hospital Veterinário Universitário (HVU) Prof. Dr. Ivon Macêdo Tabosa, da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos - PB. Na anamnese, o tutor relatou que o animal havia sido atropelado no dia anterior à consulta, e

desde então não conseguia apoiar o membro anterior direito. Após a avaliação física, foram solicitados exames complementares: hemograma, dosagens de ureia, creatinina, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, proteínas totais, e exames radiográficos.

Os exames laboratoriais apresentaram valores dentro da normalidade para a espécie e idade do paciente. No exame radiográfico foi possível observar fratura completa cominutiva, sem desvio de eixo ósseo na região de diáfise média de rádio e ulna no membro torácico direito. Diante disto, sugeriu-se a realização da osteossíntese de rádio e ulna para correção da fratura, a qual foi agendada para oito dias após a data da consulta. Prescreveu-se para o paciente terapia antiálgica com tramadol (6 mg/kg) e carprofeno (2,2 mg/kg), diariamente, até o dia do procedimento cirúrgico.

Na data marcada para a cirurgia, na avaliação pré-anestésica o animal apresentava-se tranquilo, com frequência cardíaca (FC) de 100 batimentos por minuto (bpm), frequência respiratória (*f*) 20 movimentos por minuto (mpm), mucosa oral e ocular com coloração rosada, tempo de preenchimento capilar (TPC) de 2 segundos, grau de desidratação menor que 5 %, temperatura real (TR) de 38,6° Celsius, sendo classificado com ASA II, segundo a *American Society of Anesthesiologists*.

Administrou-se como medicação pré-anestésica (MPA) morfina (Dimorf® 1%) associada ao midazolam (Dormire® 0,5%), ambos na dose de 0,2 mg/kg, por via intramuscular (IM). Após 15 minutos da administração da MPA, canulou-se a veia cefálica esquerda com cateter 22G e administraram-se meloxicam (Maxicam® 1%), na dose 0,1 mg/kg, e clindamicina (Clindamicin® 15%), na dose de 15 mg/kg, ambos por via intravenosa (IV), 30 minutos antes da dermatomia. Em seguida, realizou-se a tricotomia do membro torácico direito, e logo após o paciente foi encaminhado para a sala de cirurgia.

A anestesia foi induzida com um *bolus* lento de propofol (Propovan® 1%), em sistema dose-efeito, que totalizou a dose de 4 mg/kg, IV. Ato contínuo, realizou-se a intubação orotraqueal com uma sonda de número 4, a qual foi conectada a um sistema de anestesia inalatória (sem anestésico) sem reinalação (Baraka), com oferta de oxigênio a 100% em fluxo de 0,5 litro/min.

A manutenção anestésica foi iniciada logo após a intubação orotraqueal, com a infusão contínua intravenosa de propofol (Propovan® 1%), inicialmente na dose de 0,4 mg/kg/minuto, e em seguida ajustada de modo a manter o reflexo palpebral discreto e o globo ocular rotacionado.

Após a estabilização do plano anestésico, o paciente foi posicionado na mesa cirúrgica em decúbito lateral esquerdo para realização da antisepsia e da anestesia locorregional. O bloqueio foi realizado às cegas, sem emprego de neurolocalizador, empregando uma agulha de cateter 20G. O volume total de anestésico local administrado foi de 0,3 mL/kg, associando-se na mesma seringa lidocaína (Lidofarm® 2%) e bupivacaína (Neocaína® 0,5%) na proporção de 1:1, ambos sem vasoconstrictor. Para a realização da técnica o membro torácico direito foi deslocado caudalmente para se ter melhor

acesso à palpção da borda cranial da primeira costela, considerada como o limite caudal para a introdução da agulha. A agulha foi inserida imediatamente proximal à articulação escapuloumeral, paralela às vértebras cervicais, e em seguida movida de modo a formar uma angulação de cerca de 30° em relação ao plano horizontal, com o objetivo de transpassar os músculos escalenos e chegar o mais próximo possível das raízes nervosas ventrais de C6, C7, C8 e T1, de acordo com a técnica de Otero et al. (2018) (FIGURA 2).

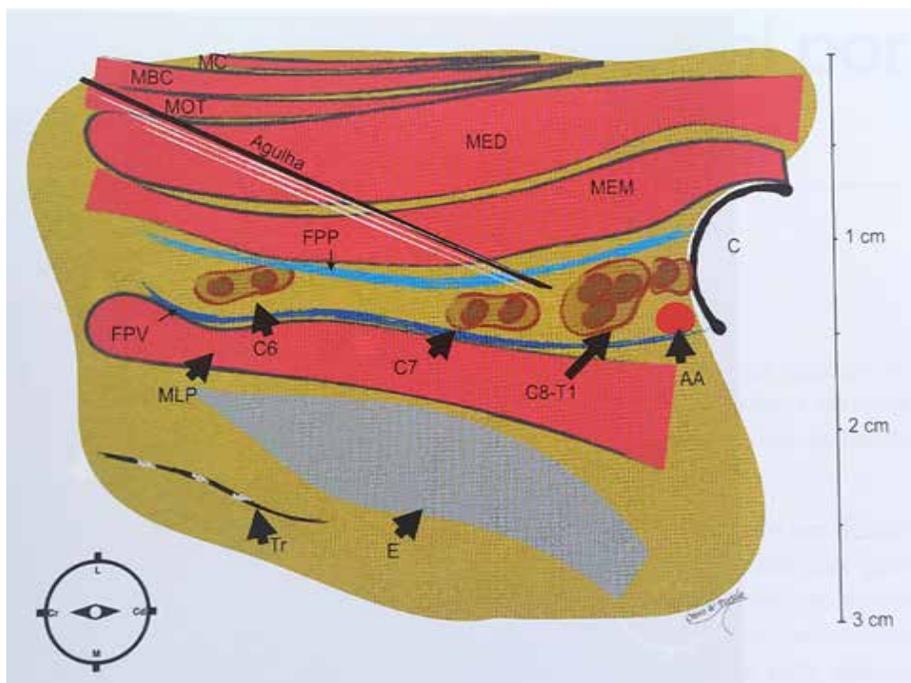


FIGURA 2. Demonstração esquemática da técnica de bloqueio do plexo braquial com a abordagem subescalênica. **MC** - músculo cutâneo do pescoço, **MBC** - músculo braquiocefálico, **MOT** - músculo omotransverso, **MED** - músculo escaleno dorsal, **MEM** - músculo escaleno médio, **FPP** - fásia profunda do pescoço, **FPV** - fásia prevertebral, **C8-T1** - complexo C8 – T1, **C7** - ramos ventrais de C7, **C6** - ramos ventrais de C6, **AA** - artéria axilar, **C** - primeira costela, **MLP** - músculo longo do pescoço, **E** - esôfago, **Tr** - traqueia.

FONTE: OTERO et al. (2018).

Dez minutos após o final da administração dos anestésicos locais, realizou-se um estímulo doloroso superficial e profundo, por pinçamento da pele interdigital e de uma das falanges do membro torácico direito, com uma pinça hemostática de Crile, com o intuito de constatar a instalação da anestesia. Como não se obteve nenhuma reação do animal (vocalização, movimentação ou aumento da pressão arterial), autorizou-se o início do procedimento cirúrgico. A fluidoterapia trans-operatória foi realizada com solução de ringer com lactato, na taxa de 4 mL/kg/h.

Após reconfirmar a efetividade do bloqueio local, com base na ausência de reação

motora e de alteração nos parâmetros fisiológicos imediatamente após a dermatomia, iniciou-se a infusão de remifentanil (ULTIVA® 2 mg) na dose de 10 mcg/kg/h, fornecida na taxa de 1 mL/kg/h, com o propósito de reduzir o requerimento de propofol, e assim seus efeitos adversos. Os fármacos foram administrados por bombas de infusão individuais.

Os parâmetros fisiológicos foram avaliados antes da MPA (T0) e a cada 10 minutos após a realização do bloqueio do plexo braquial, durante 120 minutos (T10 a T120). Foram mensurados: Frequência cardíaca (FC), em batimentos por minuto (bpm), com o emprego de monitor multiparamétrico (MINDRAY MEC 1000); frequência respiratória (*f*), em movimentos por minuto (mpm), mensurada pela contagem dos movimentos costoabdominais; temperatura retal (TR), em graus Celsius (°C), através de termômetro clínico digital, inserido na ampola retal do animal; pressão arterial média (PAM) pelo método invasivo, em milímetros de mercúrio (mmHg), obtida através de manômetro aneróide conectado a um cateter posicionado no interior da artéria podal dorsal esquerda do paciente; percentual saturação de oxihemoglobina (SpO₂), através da técnica de espectrofotometria em monitor multiparamétrico, com o sensor posicionado na língua do animal.

Avaliou-se a recuperação anestésica através de presença/ausência de vocalização e/ou movimentos involuntários, cronometragem do tempo para extubação e o levantar da cabeça.

Os dados das variáveis avaliadas foram submetidos ao programa Microsoft EXCEL para formulação de médias e desvio padrão.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

O procedimento cirúrgico teve início 15 minutos após a realização do bloqueio locorreional e perdurou durante duas horas, sem nenhuma intercorrência. O paciente não necessitou de resgate analgésico durante o trans-operatório. A extubação ocorreu cinco minutos após o término da cirurgia e a recuperação foi considerada satisfatória por ser rápida, tranquila e sem vocalização, náuseas ou vômitos. Ao despertar anestésico, o paciente não conseguiu deambular, provavelmente por ainda apresentar bloqueio motor das raízes nervosas do plexo braquial.

Na avaliação dos parâmetros fisiológicos durante os momentos, observaram-se médias de FC de $118 \pm 6,1$ bpm, *f* de 20 ± 3 mpm, TR de $37,8 \pm 0,2$ °C, SpO₂ de 99% e PAM de $86 \pm 10,4$ mmHg (GRÁFICO 1), demonstrando estabilidade hemodinâmica, com todos os valores apresentando-se dentro do intervalo de referência para espécie (HASKINS, 2017), exceto nos momentos T30 a T50, em que a PAM apresentou discreto aumento, não considerado relevante. Esta ocorrência deveu-se à tentativa de reduzir a taxa do propofol para 0,15 mg/kg/min, o que levou o paciente à superficialização do plano anestésico, e foi corrigida após o retorno para a taxa de 0,25 mg/kg/min. A taxa de infusão do remifentanil permaneceu a mesma durante todo o procedimento.

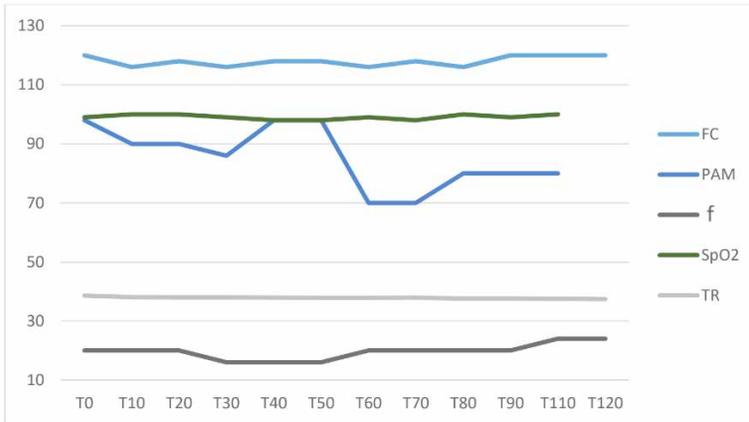


Gráfico 1 – Variação de frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (f), pressão arterial média (PAM), temperatura retal (TR) e saturação de oxihemoglobina (SpO₂) de um cão sob anestesia com propofol-remifentanil associado ao bloqueio do plexo braquial com a abordagem subescalênica às cegas e submetido à osteossíntese de rádio-ulna.

A taxa de infusão do propofol variou de 0,4 a 0,25 mg/kg/min. Provavelmente o emprego do remifentanil em associação ao propofol foi o que propiciou a redução da taxa de infusão do anestésico, assim como dos efeitos adversos (depressão respiratória, hipotensão e retardo na recuperação), corroborando os relatos de Beier et al. (2009), Gimenes et al. (2011) e Zannin (2019). Essa redução decorre do potente efeito analgésico do remifentanil, opioide agonista de receptores μ , cujo uso em infusão intravenosa contínua vem sendo propagado devido às suas propriedades farmacocinéticas interessantes, como curtos períodos de latência e de duração (FANTONNI; MASTROCINQUE, 2014).

O emprego do colchão térmico foi primordial para a estabilidade da temperatura durante o procedimento cirúrgico, uma vez que o uso de fármacos que deprimem o sistema nervoso central exerce efeito no hipotálamo, reduzindo o metabolismo, podendo causar hipotermia (HASKINS, 2017).

Thiesen (2007) e Enzele (2018) relataram em seus estudos a eficácia da abordagem paravertebral para a realização do bloqueio do plexo braquial, a qual é semelhante à subescalênica, bloqueando a origem das raízes nervosas de C6 ao T1 (KLAUMANN et al., 2013). Porém a abordagem subescalênica reduz a possibilidade de aplicação epidural e elimina o risco de injeção subaracnóide, pois a deposição do anestésico é realizada em um mesmo plano intermuscular, distante dos forames intervertebrais (OTERO et al., 2018).

A técnica às cegas da abordagem subescalênica mostrou-se eficiente, sendo a ausência da percepção dolorosa comprovada pela estabilidade hemodinâmica, relaxamento do membro e a ausência de reflexos de dor superficial e profunda, confirmando a eficácia do bloqueio.

Diante disso, é possível observar a importância de um protocolo anestésico

adequado, baseado na analgesia multimodal, como forma a garantir menor alteração nos parâmetros cardiovasculares e boa recuperação anestésica.

4 | CONCLUSÃO

A abordagem subescalênica para bloqueio do plexo braquial mostrou-se eficaz para promover anestesia para a osteossíntese de rádio ulna, mesmo sendo realizada às cegas, sem auxílio de neurolocalizador ou ultrassonografia.

REFERÊNCIAS

BEIER, S.L.; AGUIAR, A.J.A.; VIANNA, P.T.G.; MATTOSO, C.R.S.; MASSONE, F. **Effect of remifentanil on requirements for propofol administered by use of a target-controlled infusion system for maintaining anesthesia in dogs**. American Journal of Veterinary Research, 6, 703-709, 2009.

CABALA, R. W. **USO DA ANESTESIA LOCORREGIONAL PERIFÉRICA EM CANINOS E 7 BOVINOS. UM ESTUDO CLÍNICO E EXPERIMENTAL**. 2016. 83 p. Tese (Doutorado) – Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.

ENZELE, M. L. **Relato de caso: utilização do bloqueio paravertebral cervical para correção de fratura de rádio e ulna**. 2018. 42p. Trabalho de conclusão de curso (TCC) - curso de Medicina Veterinária do Campus de Curitibanos da Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, SC, 2018.

FANTONI, D. T.; MASTROCINQUE, S. Fisiopatologia e controle da dor aguda. In: FANTONI, D. T. CORTOPASSI, S. R. G. **Anestesia em cães e gatos**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2014. Cap. 35, p. 521-544.

FUTEMA, F. Técnicas de Anestesia Local. In: FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. G. **Anestesia em Cães e Gatos**. 2 ed, São Paulo. Roca, 2014. p. 310-332.

GIMENES, A.M.; AGUIAR, A.J.A.; PERRI, S.H.V.; NOGUEIRA, G.P. Effect of intravenous propofol and remifentanil on heart rate, blood pressure and nociceptive response in acepromazine premedicated dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, 38, 54-62, 2011.

HASKINS, S. C. Monitoramento de pacientes anestesiados. In: **Lumb & Jones Anestesiologia e Analgesia em Veterinária**. 5º ed. Rio de Janeiro: Roca, 2017. p. 270 – 352.

KLAUMANN, P. R.; PORTELA, D. A.; VILANI, R. G. D. C.; OTERO, P. E.; Anestesia Locorregional do Membro Torácico. In: KLAUMANN, P. R.; OTERO, P. E. **Anestesia Locorregional em Pequenos Animais**. 1. ed. São Paulo. Roca, Cap. 7. p. 177 - 212, 2013.

OTERO, P. E; FUENSALIDA, S. E; PORTELA, D. A. Bloqueios dos Nervos do Membro torácico no cão. In: OTERO, P. E.; PORTELA, D. A. **Manual de anestesia regional: em animais de estimação: anatomia para bloqueios guiados por ultrassonografia e neuroestimulação**. São Paulo. Medvet. p. 53-79, 2018.

THIESEN, R. **Bloqueio paravertebral do plexo braquial para amputação de membro torácico em cão - Relato de caso.** Researchgate, Uruguaiana, v. 5, n. 8, p.27- 30, 2007.

ZANNIN, D. **Anestesia intravenosa total em cadelas: avaliação de variáveis cardiovasculares e do requerimento anestésico de propofol na associação de remifentanil e dexmedetomidina.** 2019. 59 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós graduação em Ciências Veterinárias, Curitiba, PR, 2019.

ESOFAGOTOMIA PARA CORREÇÃO DE OBSTRUÇÃO POR CORPO ESTRANHO EM CÃO – RELATO DE CASO

Data de aceite: 02/08/2021

Data de submissão: 18/07/2021

Caroline Sena Macêdo

Universidade Federal de Roraima, UFRR
Boa Vista – Roraima
<http://lattes.cnpq.br/9578666460017263>

Luiz Gonzaga Gomes de Oliveira Junior

Universidade Federal de Roraima, UFRR
Boa Vista – Roraima
<http://lattes.cnpq.br/6984660690685601>

Naila Fernanda Moura dos Santos

Universidade Federal de Roraima, UFRR
Boa Vista – Roraima
<http://lattes.cnpq.br/5287597266602472>

Rebeca Samara Assis dos Santos

Universidade Federal de Roraima, UFRR
Boa Vista – Roraima
<http://lattes.cnpq.br/6608703442131865>

Hayla Isabely Nakauth dos Santos

Universidade Federal de Roraima, UFRR
Boa Vista – Roraima
<http://lattes.cnpq.br/2647530925178410>

RESUMO: O objetivo deste relato é descrever uma esofagotomia para correção de obstrução por corpo estranho em um cão. O animal chegou a um hospital veterinário com sinais de asfixia. Uma obstrução esofágica com osso suíno foi identificada na radiografia. A técnica de esofagotomia utilizada foi eficiente para a retirada do corpo estranho no cão, pois garantiu

o acesso atraumático da região e permitiu uma recuperação satisfatória sem complicações.

PALAVRAS-CHAVE: Cão. corpo estranho. esofagotomia.

ESOPHAGOTOMY FOR CORRECTION OF OBSTRUCTION BY FOREIGN OBJECT IN DOG - CASE REPORT

ABSTRACT: The aim of this report is to describe an esophagotomy for correction of obstruction by foreign object in a dog. The animal arrived at a veterinary hospital with signs of choking. An esophageal obstruction with a porcine bone was identified on the radiograph. The esophagotomy technique used was efficient for the removal of the foreign object in the dog, since it guaranteed atraumatic approach of the region and allowed a satisfactory recovery without complications.

KEYWORDS: Dog, foreign object, esophagotomy.

1 | INTRODUÇÃO

Esofagotomia é a incisão cirúrgica do lúmen esofágico, procedimento citado por requerer técnica meticulosa e atraumática para garantir cicatrização segura e sem complicações (Fossum, 2014). A obstrução esofágica por corpos estranhos é uma afecção clínica comum em cães (Araujo, 2013), sendo frequentemente ocasionada por manejo alimentar com oferta de itens inadequados. O objetivo deste relato é descrever a esofagotomia para correção de obstrução por corpo estranho em um cão.

2 | RELATO DE CASO

Um cão, blue heeler, macho, de dois anos de idade foi levado a um hospital veterinário em Boa Vista- RR, com histórico de tosse, sialorreia, disfagia, inapetência e mímica de êmese repetitiva. O tutor relatou que o animal apresentava sinais de engasgo há cinco dias e que seu manejo nutricional incluía a oferta de carne e ossos de forma rotineira. Após exame físico, onde foi observado um aumento de volume na região cervical à palpação, foi solicitado exame radiográfico, o qual confirmou a suspeita clínica de obstrução esofágica por corpo estranho intraluminal, identificado como uma vértebra lombar de suíno, sendo então recomendado tratamento cirúrgico.

Previamente a entrada do animal no centro cirúrgico foi estabelecido jejum alimentar e hídrico de 12 e 6 horas, respectivamente. Os protocolos anestésicos utilizados foram acepromazina (0,05 mg/kg) e morfina (0,5 mg/kg) como medicação pré-anestésica, indução pela via intravenosa com propofol (5 mg/kg) e manutenção inalatória com gás isoflurano a efeito. Após tricotomia e antisepsia do campo cirúrgico, foi realizada incisão de pele e tecido subcutâneo na linha média cervical ventral, e dissecados os músculos esterno-hióideos para exposição da traquéia, a qual foi rebatida à direita para permitir visualização do esôfago. Posteriormente, efetuou-se incisão longitudinal de aproximadamente 6 cm nas camadas esofágicas sobre o corpo estranho. A vértebra foi cuidadosamente removida, de forma a não causar maior trauma ao tecido esofágico. Após a retirada do corpo estranho, realizou-se sutura do esôfago em camada única com fio nylon 3-0 em padrão simples interrompido, com nós extraluminais. A eficiência da sutura foi testada pela injeção de solução salina sob pressão no lúmen esofágico através da inserção de sonda oesofágica, verificando ausência de extravasamentos. O fechamento das camadas muscular e subcutânea se deu por suturas com fio absorvível 3-0 do tipo poliglactina 910 em padrão simples contínuo. A pele foi aposicionada com fio nylon 2-0 em padrão simples interrompido. Ainda no ato cirúrgico foi realizada fixação da sonda esofágica para permitir a alimentação do animal no período de recuperação. Nos primeiros três dias após a cirurgia o animal foi alimentado exclusivamente por sonda, posteriormente recebendo alimentação líquida ou pastosa de forma gradual. Após sete dias, o animal recebeu alta médica, sendo ainda recomendada a manutenção alimentação pastosa no período 15 dias.

3 | DISCUSSÃO

A ingestão de ossos é uma das mais comuns causas de obstrução esofágica por corpo estranho em cães (Araujo, 2013), motivo pelo qual devem ser divulgadas informações que sensibilizem tutores a abandonarem a prática da oferta destes itens na alimentação dos animais. Em alguns casos, o tratamento da obstrução esofágica pode ser realizado por técnica esofagoscópica, a partir da tração do objeto até a cavidade oral ou avanço até o estômago para correção por gastrotomia, em virtude das vantagens da abordagem cirúrgica

do estômago em comparação ao esôfago (Araujo, 2013), contudo o recurso endoscópico não se mostrava eficaz no caso em questão em virtude da firme aderência da vértebra suína à mucosa esofágica.

A esofagotomia requer peculiares cuidados na técnica empregada em virtudes de particularidades que interferem diretamente na cicatrização (Barcelos, 2012). O padrão de sutura esofágica empregado em camada única diverge do proposto por alguns autores, porém foi realizado com fechamento de nós extraluminais, conforme recomendado por Fossum (2014) e semelhante ao relatado por Araujo (2013). Fatores como a ausência camada serosa e de omento, irrigação sanguínea segmentar, movimentação peristáltica constante na região e distensão pela passagem de bolos de alimentares são responsáveis pela alta taxa de complicações no pós-cirúrgico. (Fossum, 2014). Segundo Barcellos (2012), animais submetidos a esofagotomia podem estar susceptíveis a problemas como deiscência, estenose esofágica e fistulação, o que não foi observado no cão em questão. No período pós-operatório foram tomados os devidos cuidados com a recuperação do animal, sendo este liberado sem aparecimento de quaisquer intercorrências na cicatrização.

4 | CONCLUSÃO

A técnica de esofagotomia utilizada demonstrou-se eficiente para remoção de corpo estranho esofágico em cão, uma vez que garantiu abordagem atraumática da região e permitiu satisfatória recuperação sem complicações.

REFERÊNCIAS

ARAUJO, M. P. **Obstrução esofágica por corpo estranho em cão**-relato de caso. 2013. 21 f. Artigo (Especialização) - Programa de Residência em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Palotina, 2013.

BARCELLOS, R. **Corpos estranhos esofágicos em cães**. 2012, 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina Veterinária, Porto Alegre, 2012.

FOSSUM, T. W. **Cirurgia de pequenos animais**. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

ESTRESSE TÉRMICO POR ALTAS TEMPERATURAS NO CONFINAMENTO, ESTRATÉGIAS PARA AMENIZAR

Data de aceite: 02/08/2021

Gustavo Cremona Batista

Centro Universitário da Região da Campanha –
URCAMP
Bagé – RS
<http://lattes.cnpq.br/9941790924590695>

Cleia Maria Gisler Siqueira

Centro Universitário da Região da Campanha –
URCAMP
Bagé - RS
<http://lattes.cnpq.br/2493046676456284>

Juliane Pintos Ferreira

Centro Universitário da Região da Campanha –
URCAMP
Bagé - RS
<http://lattes.cnpq.br/9404973135749852>

João Pedro Gonçalves Severo

Centro Universitário da Região da Campanha –
URCAMP
Bagé - RS
<http://lattes.cnpq.br/2442482703533447>

Amanda Ferreira Borba

Centro Universitário da Região da Campanha –
URCAMP
Bagé - RS
<http://lattes.cnpq.br/9545821160293139>

RESUMO: Com a crescente demanda no mercado da cadeia da carne bovina, os sistemas de confinamentos têm sido amplamente utilizados em diferentes épocas do ano, por ser uma indústria a céu aberto as variações

climáticas entram como um dos principais fatores que influenciam negativamente a produção. O confinamento tem por finalidade reduzir o espaço destinado a criação, de maneira a produzir um maior número de animais por área. Para isso faz-se necessário considerar o local, as condições ambientais, o espaço que cada animal, dentro de cada categoria necessita. O confinamento surge com alternativa para manter a criação de bovinos em pequenas áreas, ampliando a produtividade e a renda do agricultor. Outro fator a ser considerado é a cadeia produtiva, no caso a indústria, fidelização da entrega aos frigoríficos, assim como abastecimento na entressafra com o oferecimento de animais com bom acabamento de gordura, atendendo as exigências do mercado por um produto de qualidade, ou seja, animais jovens e com bom acabamento. O confinador deve levar em conta vários fatores como o econômico, as condições ambientais da área destinado aos animais e utensílios como cocho, bebedouros, assim como os espaços destinados ao descanso, ruminação e passeio, necessários para proporcionar o bem-estar dos animais. Outro fator que é determinante no sucesso do sistema de confinamento é o manejo dos animais de acordo com as condições oferecidas pelo meio ambiente, para isso estudos considerando os fatores relacionados as condições climáticas se fazem necessário. O objetivo deste trabalho é trazer estratégias de melhorar o bem-estar e trazer conforto térmico mediante o controle do estresse calórico proporcionado por altas temperaturas ambientais.

PALAVRAS-CHAVE: Bem-estar; Efeitos ambientais; Nutrição; efeito calórico.

THERMAL STRESS THROUGH HIGH TEMPERATURES IN CONFINEMENT, STRATEGIES TO EASER

ABSTRACT: With the growing demand in the beef chain market, feedlot systems have been widely used at different times of the year, as it is an open-air industry, climatic variations enter as one of the main factors that negatively influence production. The purpose of confinement is to reduce the space for breeding, in order to produce a greater number of animals per area. For that, it is necessary to consider the place, the environmental conditions, the space that each animal, within each category needs. Confinement appears as an alternative to keep cattle raising in small areas, increasing the productivity and income of the farmer. Another factor to be considered is the production chain, in this case the industry, loyalty of delivery to the slaughterhouses, as well as supply in the off-season with the offer of animals with a good fat finish, meeting the market demands for a quality product, that is, , young animals with good finish. The confinement must take into account several factors such as economic, environmental conditions in the area for animals and utensils such as trough, drinking fountains, as well as spaces for resting, ruminating and walking, necessary to provide the animals' well-being. Another factor that is decisive in the success of the confinement system is the handling of animals according to the conditions offered by the environment, for this, studies considering the factors related to climatic conditions are necessary. The objective of this work is to bring strategies to improve well-being and bring thermal comfort through the control of caloric stress provided by high ambient temperatures.

KEYWORDS: Well-being; Environmental effects; Nutrition; caloric effect.

INTRODUÇÃO

Com a intensificação da pecuária de corte o confinamento entra como um sistema de criação seja ele usado de forma estratégica em épocas de seca, ou como para liberação de pastagem para aumentar a quantidade de matrizes e centralizar animais para engorda (Barcellos et al. 2019) e terminação em épocas de escassez de matéria prima aos frigoríficos quando o preço do boi está em alta. A produção de bovinos de corte é uma indústria a céu aberto, o animal em sistema extensivo procura locais de melhor conforto ambiental, porém em sistemas intensivos deveremos, como técnicos ou mesmo como produtores, proporcionar ambiência a fim de melhorar o bem-estar dos animais.

Confinar envolve a escolha do local e da raça, investimento em instalações; estas por sua vez munidas de água de boa qualidade, energia elétrica, currais para os animais, galpões para a ração, assim como mão de obra treinada.

A escolha da raça é um fator importante, pois animais não adaptados a climas quentes sofrem muito com as altas temperaturas (Baccari Jr, 1986), necessitando de aclimação, e durante esse período o animal fica sob estres provocado pelo ambiente em que está sendo submetido, o organismo realiza compensações metabólicas, que não deve chegar a seus limites críticos sob pena de comprometer o estado geral do animal.

Cuidados são necessários para garantir o bem-estar dos animais no período de

confinamento. Para isso algumas adaptações no ambiente são necessárias, como ofertar água em bebedouros, alimentos em cochos móveis procurando espaços de sobra e áreas de descanso apropriadas ao número de animais, onde muitas vezes o meio ambiente natural não é capaz de oferecer, sendo necessária a interferência com a criação de ambientes artificiais, como é o caso do sombrite que imita a sombra natural.

O estresse calórico nos bovinos é o ponto onde a umidade e temperatura excede a zona de conforto térmico (FERREIRA et al, 2006). O estresse térmico é citado por diversos autores afirmando que influencia negativamente na reprodução (Jordan, 2003), crescimento e produção (MARCHETO et al. 2002; PÍRES CAMPOS, 2004; FLAMENBAUM et al. 1995).

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho descreve as atividades técnicas em um confinamento numa propriedade rural no Uruguai, que trabalha com pecuária de precisão e está a cargo da responsabilidade técnica do Médico Veterinário Afrânio Doglia. Na propriedade encontravam-se quatro mil bovinos, confinados. O tempo de permanência no sistema era de 120 dias.

O manejo dos animais consiste primeiramente em separá-los por sexo e por peso, assim são constituídos vários lotes. O mesmo procedimento é realizado com os machos.

O local destinado ao confinamento apresenta como característica ser bem drenado, com sombra para os animais, de fácil acesso a veículos (trator e distribuidor de ração) e aos tratadores, já que o manejo alimentar é realizado no mínimo duas vezes ao dia.

O sistema de alimentação estava baseado em uma dieta fornecida duas vezes ao dia. A alimentação teve como base de silagem de sorgo, sorgo seco quebrado, milho seco quebrado, substrato de milho e núcleo natural. Os animais quando entravam no sistema de confinamento passavam a receber uma dieta inicial, considerada como período de adaptação, seguida de uma intermediária e da de terminação, sendo três tipos de deitas fornecidas (Tab. 1, 2, 3, 4 e 5) sendo a dieta de início (adaptação) e as de terminação.

Composição	kg	%
Silagem de sorgo	4350	63,05
Sorgo seco	1170	16,95
Milho quebrado seco	621	9
Burlanda de milho	635	9,2
Núcleo natural	124	1,79
Total	6900	100

Tabela 01 - Dieta de adaptação fornecida aos animais no período inicial.

Composição	kg	%
Silagem de sorgo	4600	46,94
Sorgo seco	2540	25,92
Milho quebrado seco	1660	16,94
Burlanda de milho	784	8
Núcleo natural	216	2,2
Total	9800	100

Tabela 02 – Dieta fornecida a 1400 novilhos em fase de terminação no turno da manhã.

Composição	kg	%
Silagem de sorgo	6030	28
Sorgo seco	5700	26.46
Milho quebrado seco	7545	35.02
Burlanda de milho	1725	8.01
Núcleo natural	540	2.51
Total	21540	100

Tabela 03 - Dieta fornecida a 1400 novilhos em fase de terminação no turno da tarde.

Composição	kg	%
Silagem de sorgo	3040	46,76
Sorgo seco	1700	26.16
Milho quebrado seco	1100	16.92
Burlanda de milho	520	8
Núcleo natural	140	2,16
Total	6500	100

Tabela 04 - Dieta fornecida a 959 vaquilhaonas em fase de terminação no turno da manhã.

Composição	kg	%
Silagem de sorgo	4140	27,97
Sorgo seco	3926	26,53
Milho quebrado seco	5180	35
Burlanda de milho	1184	8
Núcleo natural	370	2,5

Tabela 05 - Dieta fornecida a 959 vaquilhaonas em fase de terminação no turno da tarde.

Os componentes de ração são produzidos no próprio estabelecimento ou adquirido no comércio local. O sorgo destinado a silagem e também para grão é produzido na propriedade, já o núcleo, o milho quebrado e a Burlanda de milho são adquiridos no comércio. A Burlanda de milho é um substrato da indústria do etanol.

A propriedade conta com um sistema de meteorologia onde os colaboradores tem dados em tempo real de umidade relativa do ar, temperatura, sensação térmica, posição do

vento e velocidade do vento.

O acompanhamento da temperatura, da umidade do ar e da intensidade dos ventos como fator determinante do conforto ambiental no confinamento acompanhado foi conduzido através de dados coletados e analisados pelos colaboradores devidamente treinados para fazer uso e interpretação.

O objetivo desse trabalho é de apresentar maneiras de melhorar o bem-estar de bovinos de corte em sistemas de confinamento, afim de amenizar o estresse térmico.

DISCUSSÃO

Para se ter viabilidade econômica nesta atividade, é indispensável o conhecimento das variações climáticas em interações com os animais tomando nota do que afetam na sua fisiologia e comportamento (NEIVA et al 2004). A regulação da temperatura corpórea ou termo regulação compreende em uma série de mecanismos endócrinos e nervosos que culminam a regulação da homeostase, que é de fundamental importância para adaptação e manutenção de animais em diferentes ambientes (SOUZA e BATISTA, 2012).

Na propriedade através do monitoramento é possível conduzir os animais a locais onde a temperatura ambiente não cause prejuízo ao bem-estar dos animais. Isso graças a identificação dos fatores ambientais como temperatura e umidade do dia. Para alguns autores que a mais tempo vem conduzindo estudos sobre o bem-estar na produção animal, encontramos nas citações como o primeiro a se fazer é monitorar antecipadamente a meteorologia fazendo um mapa para o estresse térmico controlando temperatura e umidade. Com isso se pode utilizar ferramentas de controle antes que o pior ocorra. Pires e Campos (2004) citam que em rebanhos leiteiros existe queda na produção de 25% da produção de leite.

Ter pessoas capacitadas é de suma importância para que saibam identificar os sintomas do estresse térmico, sendo os de maior importância a respiração com a boca aberta, exposição da língua alterada e aumento no volume de ingestão de água (Pires e Campos, 2004), sialorreia, respiração toracoabdominal e taquipnéia. Mecanismos fisiológicos para proporcionar perda de calor corporal (Souza e Batista, 2012), que junto a aferição da temperatura retal tornam-se importantes parâmetros de avaliação do estresse térmico (FERREIRA et al. 2006).

Afim de evitar os efeitos negativos do clima, como o estresse calórico os bovinos podem mudar seu comportamento e fisiologia (Marcheto et al, 2002) e passar a se alimentar a noite, buscar áreas de sombra ou com boas correntes de ar (PARANHOS DA COSTA 2000). A redução na ingestão de alimentos é descrita por vários autores (FLAMENBAUM et al. 1995; MARCHETO et al. 2002; BEEDE e COLLIER 1986). Segundo Marcheto et al. (2002) a redução na alimentação ocorre por conta da hipertermia corporal que inibe o antro do apetite localizado no hipotálamo. Portanto é importante que se divida a ração

conforme os picos de temperatura, racionando 30% a 40% na primeira hora da manhã e de 60% a 70% no final da tarde. Esta porcentagem no final da tarde é devido a hora que o sol baixa, e junto a temperatura, com isso os animais ficam em conforto térmico tendo assim uma maior ingesta de ração e melhora na conversão. Segundo Ferreira et al. (2006) bovinos em câmara bioclimática observaram que a temperatura retal teve diferença de 2,6 a 3,1 °C da manhã para tarde. Já Gomes et al. (2008) cita que a temperatura retal aumenta em horários entre 13 e 17 h, justamente entre os picos de temperatura ambiente. Brosh et al. (1998) descreve em um trabalho com novilhas da raça Hereford em sistema de confinamento, que animais alimentados com maior teor de energia pela manhã ocorreu um incremento no calor metabólico relacionado a momentos de maior radiação solar nos períodos de final da manhã e início da tarde ao comparar os alimentados a tarde que obtiveram maior tempo para ingesta de alimento e menos horas de radiação solar. Durante o estresse térmico ocorre alterações nos níveis de hormonais, a glândula tireoide pode ser afetada levando a diminuição da motilidade intestinal (BEEDE e COLLIER 1986). Gomes et al. (2008) observou em caprinos que, o aumento na suplementação gerou incremento na temperatura retal.

Nos animais que se observam sinais de estresse térmico mais rapidamente, são os que estão em fase de terminação devido ter pouca dissipação de ar pelo corpo do animal. Flamenbaum et al. (1995) observou no resfriamento de vacas leiteiras, animais com baixo escore corporal após o resfriamento atingiam o pico de lactação antes de vacas com alto escore corporal.

A sombra é a proteção física mais rápida a ser implantada e de maior incremento na produtividade (Beede e Collier, 1986), animais que estão em currais com sombra, tem uma maior ingesta de alimento ao comparar ao submetidos ao sol intenso sem sombra. Nas horas mais quentes do dia áreas com sombrite entram como importante local, para termo regulação sendo estes postos à disposição de todos animais do piquete (PARANHOS DA COSTA, 2000). O bom que a sombra tenha 4 m de largura e entre 2,5 a 4,3 m² (Píres e Campos, 2004) e 3,5m de altura para que tenha uma boa corrente de ar. A sombra é recomendada quando a temperatura ultrapassa 26 a 27 °C (Marcheto et al. 2002), justamente quando inicia a redução na ingestão de matéria seca. (BEEDE e COLLIER 1986)

O sombreamento ameniza a radiação solar recebida diretamente, trazendo benefícios para os animais e indiretamente para o produtor, aumentando a produtividade destes animais.

Taveira et al. 2012 relatam que bovinos machos mestiços em sistema de confinamento em piquetes com sombrite obtiveram um ganho diário de 1,8kg, ao comparar com animais em piquetes sem sombrite que o ganho diário foi de 1,610kg, e destaca que animais em piquetes com sombrite na saída do confinamento tiveram superioridade de 13,01kg.

O alimento oferecido é um fator que contribui com alterações na temperatura do

corpo do animal. Baixar de 5 a 10% da quantidade de grãos na dieta e aumentar a fibra na mesma proporção. Segundo Brosh et al. (1998) energia consumida pelo animal aumenta a produção interna de calor, que associado a altas temperaturas leva o animal ao estresse calórico. Diminuindo as calorias ingeridas por animal diminui o calor metabólico produzido.

A utilização da aspersão é considerada boa alternativa para amenizar o estresse térmico (MARCHETO et al. 2002). Para os aspersores de água são ligados a cada 15 min, durante 30 segundos sempre que a temperatura atingir 25,6 °C (Píres e Campos (2004), com objetivo de molhar pelo e pele. Em um rebanho leiteiro Flamenbaum et al. (1995) descreveu que vacas resfriadas com aspersão e ventiladores obtiveram um incremento na ingesta de matéria seca de 1,6 kg ao comparar com animais de mesma categoria sem sistemas de resfriamento.

CONCLUSÃO

O impacto do clima sobre o bem-estar dos bovinos, pode gerar grandes prejuízos econômicos para produtor, principalmente quando se trata de confinamento, sistema que necessita diretamente da interferência humana.

Portanto é necessário obter estratégias que diminuam o impacto do clima sobre os animais como o manejo dos animais, o sistema de alimentação e as instalações bem planejadas.

REFERÊNCIAS

BACCARI JUNIOR, F. Métodos e técnicas de avaliação de adaptabilidade às condições tropicais In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BIOCLIMATOLOGIA ANIMAL NOS TRÓPICOS – PEQUENOS E GRANDES RUMINANTES, 1, 1986, Fortaleza. **Anais...** Brasília: Embrapa, 1986.

BARCELLOS, J. O. J et al. **Bovinocultura de corte**: cadeia produtiva e sistemas de produção 2ª edição. Guaíba: Agrolivros, 2019.

BEEDE, D. K. e COLLIER R. J. Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. **Journal of Animal Science**. 62:543-554, January, 1996.

BROSH, A et al. Effects of solar radiation, dietary energy, and time of feeding on thermoregulatory responses and energy balance in cattle in a hot environment. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2671-2677, 1998.

FERREIRA, F. et al. Parâmetros fisiológicos de bovinos cruzados submetidos ao estresse calórico. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58, n.5, p.732-738, 2006

FLAMENBAUM, I. et al. Interactions Between Body Condition at Calving and Cooling of Dairy Cows During Lactation In Summer. **J. Dairy Sci.** , 78, pp. 2221 – 2229, 1995.

GOMES, C. A. V. et al. Efeito do ambiente térmico e níveis de suplementação nos parâmetros fisiológicos de caprinos Moxotó. **R.Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v.12, n.2, p.213–219, 2008.

JORDAN, E. R. Effects of heat stress on reproduction. **Journal of Dairy Science**, 86: E104E114. 2003.

MARCHETO, F. G. et al. Efeito das temperaturas de bulbo seco e de globo negro e do índice de temperatura e umidade, em vacas em produção alojadas em sistema de free-stall. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 39: 320-323. 2002.

NEIVA, J. N. M. et al. Efeito do Estresse Climático sobre os Parâmetros Produtivos e Fisiológicos de Ovinos Santa Inês Mantidos em Confinamento na Região Litorânea do Nordeste do Brasil. **R. Bras. Zootec.**, v.33, n.3, p.668-678, 2004.

PARANHOS DA COSTA, M. J. R. Ambiência na produção de bovinos de corte a pasto. **Anais de Etologia**, 18: 26-42. 2000.

PÍRES M. F. Á. e CAMPOS A. T. Modificações ambientais para reduzir o estresse calórico em gado de leite. **Embrapa Gado de Leite**, ISSN 1678-3123 Juiz de Fora, MG Dezembro, 2004.

SOUZA, B. B. e BATISTA, N. L. Os efeitos do estresse térmico sobre a fisiologia animal. **ACSA – Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v.8, n.3, p 06.-10, jul-set, 2012.

TAVEIRA, R. Z. et al. Avaliação do desempenho de bovinos de corte mestiços confinados em piquetes com sombrite e sem sombrite. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 18, Ed. 205, Art. 1374, 2012

CAPÍTULO 7

GATOS DOMESTICOS CON HIDATIDOSIS POLIQUISTICA ABDOMINAL EN PATAGONIA SUR ARGENTINA

Data de aceite: 02/08/2021

Jensen Oscar

Centro de Investigación en Zoonosis, Chacra 18, Sarmiento. Chubut

Gertiser María Laura

Centro de Investigación en Zoonosis, Chacra 18, Sarmiento. Chubut

Torrisi Claudio

Departamento de Zoonosis, Municipalidad de Sierra Grande. Río Negro

Maglioco Andrea Florencia

Universidad Abierta Interamericana (UAI), Centro de Altos Estudios en Ciencias Humanas y de la Salud (CAECIHS), CABA, Buenos Aires
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, (CONICET), CABA, Buenos Aires

Fuchs Alicia Graciela

Universidad Abierta Interamericana (UAI), Centro de Altos Estudios en Ciencias Humanas y de la Salud (CAECIHS), CABA, Buenos Aires

Avila Héctor Gabriel

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Católica de Cuyo. San Luis.
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, (CONICET), CABA, Buenos Aires

RESUMEN: La hidatidosis o equinococosis quística, es una enfermedad parasitaria crónica de importancia mundial causada por *Echinococcus granulosus sensu lato* (*E. granulosus*), en el que

se describieron 10 genotipos. (Cucher y cols. 2016). Es la zoonosis parasitaria más importante en la Patagonia Sur de Argentina, constituyendo un problema socioeconómico que afecta la salud de sus habitantes y deteriora la producción ganadera. *E. granulosus s. l.* es la única especie del parásito detectada y el genotipo G1 es la encontrada en perros, ovinos y humanos. El hospedador definitivo de *E. granulosus* es un carnívoro donde se desarrolla la fase adulta y sus hospedadores intermediarios son una amplia gama de mamíferos, donde se desarrolla la fase larval o quística. La hidatidosis primaria es originada por la ingestión por el hospedador intermediario de huevos viables, dando lugar a la formación de la hidátide o quiste hidatídico. La hidatidosis secundaria es producto de la rotura espontánea o traumática, de un quiste hidatídico fértil, liberándose protoecólises y/o vesículas hijas. El gato doméstico (*Felis catus*) no es tenido en cuenta al ser abordada la enfermedad hidatídica en los textos de parasitología, publicaciones científicas, reuniones científicas y por los programas de control. Como consecuencia la hidatidosis no es considerada como enfermedad de los gatos. En las publicaciones científicas están descriptos 9 (nueve) casos y en este reporte informamos 4 (cuatro) casos, todos ubicando al gato como hospedador intermediario. Los gatos domésticos son carnívoros, al igual que el perro, el hospedador definitivo de *E. granulosus*. Es probable que su comportamiento de realizar una cuidadosa y minuciosa limpieza del pelaje, la costumbre de lamer a otros gatos o animales y el hábito de ingerir pastos o hierbas, en su conjunto posibilitan la ingestión de huevos

de *E. granulosus* diseminados en el ambiente, al igual que los hospedadores intermediarios habituales.

PALABRAS CLAVES: Hidatidosis, zoonosis, gato, quistes, *Echinococcus*.

DOMESTIC CATS WITH ABDOMINAL POLYHISTIC HYDATIDOSIS IN SOUTH PATAGONIA ARGENTINA

ABSTRACT: Hydatidosis or cystic echinococcosis is a chronic parasitic disease worldwide distributed caused by *Echinococcus granulosus sensu lato* (*E. granulosus*), in which 8 genotypes were described. (Cucher y cols. 2016). It is the most important parasitic zoonosis in the South Patagonia of Argentina, constituting a socioeconomic problem that affects the health of the population and deteriorates livestock production. *E. granulosus* s. l. it is the only species of the parasite detected in this area and the G1 genotype is found in dogs, sheep, cattle and humans. The adult stage of *E. granulosus* develops in the definitive host, a carnivore, and the larval or cystic stage develops in the intermediate host, a wide range of mammals. Primary hydatidosis is caused by the ingestion of viable eggs by the intermediate host, leading to the formation of the hydatid or hydatid cyst. Secondary hydatidosis is the product of the rupture, spontaneous or traumatic, of a fertile hydatid cyst, releasing protoscolices and / or daughter vesicles. The domestic cat (*Felis catus*) is not considered when addressing hydatid disease in parasitology texts, scientific publications, scientific meetings and control programs. As a consequence, hydatidosis is not considered as a cat disease. Cats are reported as an intermediate host in nine scientific publications. This report describes four cases of cats as an intermediate host in South Patagonia. Domestic cats are carnivores, like the dog that is the definitive host for *E. granulosus*. Likely, the cat's cleaning habits, the habit of licking other cats or animals and the habit of ingestion of grasses allow the ingestion of *E. granulosus* eggs disseminated in the environment, as well as the usual intermediate host does.

KEYWORDS: Hydatidosis, zoonosis, cat, cysts, *Echinococcus*.

1 | OBJETIVO

Reportar la existencia de casos de “**hidatidosis poliquistica abdominal**” en gatos domésticos de Patagonia Sur Argentina.

2 | HIDATIDOSIS EN GATOS DOMESTICOS EN EL MUNDO

Los casos reportados de hidatidosis en gatos domésticos en el mundo, son:

2.1 En 1933 en Uruguay, se informa “de un caso de hidatidosis en un gato”. (Carballo Pou 1933)

2.2 En 1961 en Nueva Zelandia, se informa “el caso inusual de quistes hidatídicos secundarios en la cavidad peritoneal de una gata de siete años que llega a la consulta veterinaria con el abdomen hinchado durante los dos últimos años. Por laparotomía se obtuvieron más de 80 quistes de hasta 3 cm”. (Whitten y cols. 1961).

2.3 En 1962 en Nueva Zelandia, se describe “el caso de un gato con el abdomen

muy distendido. En la necropsia encontraron gran cantidad de quistes libres y otros adheridos al epiplón en la cavidad peritoneal, de 0,1 a 3 cm. de diámetro. Foto 1. En los quistes grandes encontraron protoescólices viables”. (McDonald, y cols.1963).

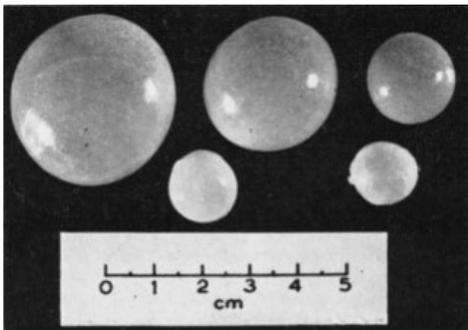


Foto 1. Quistes secundarios fértiles de *E. granulosus*. McDonald y cols. 1963.



Foto 2. Vista intraoperatoria de la laparotomía. Burgu y cols. 2004.

2.4 En 1967 se informa en Alemania, “un caso de equinocosis larval abdominal en un gato doméstico, con un 30% de quistes fértiles. De dos perros a los que se les dieron los quistes, uno se infectó con éxito, encontrándose 71 *Echinococcus*, pero solo 5 de ellos habían alcanzado la madurez sexual, considerando al gato como huésped intermedio inadecuado”. (Von der Ahe, C. 1967).

2.5 En 2002 describen en Turquía, “una manifestación rara de la hidatidosis en un gato callejero. Llega a la consulta veterinaria un gato anoréxico, deprimido y con agrandamiento de abdomen. A la palpación, múltiples masas redondas fueron detectadas ocupando el espacio abdominal. La laparotomía exploratoria, encuentra que la cavidad abdominal estaba ocupada con quistes libres y otros adheridos al peritoneo y las superficies serosas de los órganos. Quistes transparentes de 3 a 5 cm con protoescólices viables de *E. granulosus*”. (Foto 2). (Burgu y cols. 2004).

2.6 En 2011 se informa en Rusia, “un caso de equinocosis quística en un gato doméstico. La ecografía mostró numerosos quistes dentro de la cavidad abdominal. Lo reportan como “el primer informe de equinocosis quística en un gato causada por *E. granulosus sensu stricto*, genotipo G1, con confirmación molecular”. (Foto 3). (Konyaev, y cols. 2012)

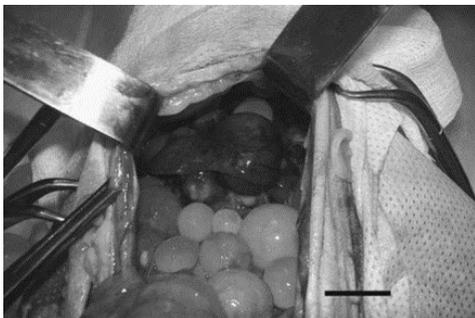


Foto 3. Cavidad abdominal con vesículas. Barra = 20 mm. Konyaev y cols. 2012.



Foto 4. Quistes hidatídicos luego de la laparotomía. Camacho y cols. 2012.

2.7 En 2012 en Argentina, se informa “un caso de hidatidosis abdominal diseminada en un felino Europeo Común. Llega a la consulta una gata de zona periurbana de Rauch, provincia de Buenos Aires, de 5 años con distensión abdominal de al menos 8 meses de evolución. A la palpación se nota abdomen con formaciones esférica. Por laparatomía se extrae gran cantidad de formaciones quísticas. En la necropsia se encuentran quistes en el parénquima hepático y adherido a la serosa de los órganos abdominales. Por microscopía óptica en los quistes se observan protoescolícos y por métodos morfométricos se determina *E granulosus* (G1)”. (Foto 4). (Camacho, y cols. 2012).

2.8 En 2014 en Uruguay, se informa “el segundo caso de equinococosis larvaria peritoneal en un gato doméstico y primer caso de la equinococosis quística peritoneal en un gato doméstico causada por *E. granulosus sensu stricto* (G1), asociado a la infección por el virus de la inmunodeficiencia felina. Llevado a la consulta con disnea, estreñimiento y distensión abdominal, con al menos un año de evolución. En la cirugía se recuperan gran cantidad de vesículas libres en cavidad abdominal y unida a la serosa, de 0,3 a 5 cm, con protoescolícos en su interior. Se estimó un peso de 2.8 kilos”. (Foto 5). (Castro, y cols. 2013) y (Armua-Fernández, y cols. 2014).



Foto 5. Larvas de hidatidosis extraídas durante la cirugía. Castro y cols. 2013.



Foto 6 Aspectos macroscópicos de los quistes. Bonelli y cols. 2018.

2.9 En 2018 en Italia, se informa “de una gata de tres años castrada que fue llevada al consultorio veterinario con distensión abdominal y anorexia. La palpación evidenció dolor y múltiples masas redondeadas. Por ultrasonido se observan múltiples vesículas intraperitoneales y por laparatomía se extrajeron vesículas libres y adheridas al epiplón, de 0,5 a 4 cm de diámetro con protoescolices en su interior. Se informa como el primer reporte de un gato doméstico infectado con *E. granulosus sensu stricto* (G1), confirmado por análisis molecular”. (Foto 6). (Bonelli, y cols. 2018)

3 I HIDATIDOSIS POLIQUISTICA ABDOMINAL EN GATOS URBANOS DE PATAGONIA SUR ARGENTINA

En Patagonia sur se han reportado 4 casos de hidatidosis poliquistica abdominal en gatos entre 2002 y 2016.

3.1 En 2002 se informa al Programa de Control de Hidatidosis de Chubut, el caso de “una gata adulta de área urbana de Trelew, traída a la consulta por presentar abdomen abultado. A la ecografía se observan imágenes redondeadas y en la cirugía se extraen numerosas vesículas del abdomen”. (Foto 7). (Vet. Luis Deboto, com. pers., 2002).

3.2 En 2016 se informa al Centro de Investigación en Zoonosis de Chubut, el caso de “una gata adulta del área urbana de Comodoro Rivadavia, esterilizada, de aproximadamente 12 años, con decaimiento, inapetencia y disnea, llevada a la consulta veterinaria por su dueña. A la ecografía se observan múltiples estructuras quísticas aglomeradas y sueltas en el abdomen. A la necropsia se confirman múltiples quistes en hígado y otros sueltos en abdomen. Por microscopía óptica, en los quistes grandes se observan protoescolices”. (Foto 8). (Vet. Marcela Delaplace, com. pers., 2016).



Vista intraoperatoria. Vet. Luis Deboto, 2002.



Vista intraoperatoria. Vet. Marcela Delaplace, 2016.

En 2016 en el Centro de Investigación en Zoonosis de Chubut, Argentina, se estudiaron dos gatos domésticos urbanos, con “hidatidosis poliquistica abdominal”.

3.1 Gata adulta “Flora”.

Una gata adulta, mestiza, hembra, esterilizada, de pelaje abundante y 7 años, que comparte el patio con otros gatos y perros, en zona urbana de Sarmiento, Chubut, es llevada a una clínica veterinaria, por observarla su dueña “panzona y quejosa”. La revisión clínica evidencia un abdomen blando y fluctuante. La ecografía abdominal evidencia múltiples vesículas, compatibles con quistes abdominales. La laparotomía exploratoria, confirma el gran número de vesículas en cavidad abdominal. A la necropsia se extraen 900 ml de vesículas lípidas, blanquecinas, con líquido en su interior de 0,5 a 5 cm de diámetro y vesículas adheridas al peritoneo. (Foto 9 y 10).

El hígado fue el único órgano afectado con quistes en la superficie e intraparenquimatosos.

Por la prueba de la purga con bromhidrato de arecolina, fueron estudiadas macroscópicamente las muestras de materia fecal de los 10 perros que viven en el patio y periódicamente son llevados a establecimientos rurales con ovinos. En tres perros se obtuvo un ejemplar de *Taenia hidatigena*, lo que indica alimentación con vísceras crudas y ausencia de desparasitación con un tenicida. En ninguna muestra se observaron *E. granulosus*.



Foto 9 En la necropsia se observan vesículas libres, vesículas adheridas al peritoneo y quistes en hígado.



Foto 10. Vesículas de 0,5 a 5 cm de diámetro.

Nueve personas adultas, entre 31 y 75 años, fueron interrogadas y analizados por estudios serológicos y por imágenes para hidatidosis. Todos sin antecedentes de hidatidosis y negativos para cada estudio. (Gertiser y cols 2017), (Barbery y cols 2016) y (Avila y cols 2016).

3.2 Gata adulta “Misha”

El Departamento de Zoonosis de Sierra Grande provincia de Río Negro recibe una gata adulta, callejera, de pelaje abundante, que se encontraba en el Centro de Atención Integral de Niñez y Adolescencia, en el área urbana de Sierra Grande, porque estaba “preñada”, desde hacía más de tres meses.

A la revisión clínica se observa el abdomen “como balón”, pesada para caminar y quejosa. La ecografía detectó elementos redondos, descartando así la preñez. La laparotomía exploratoria evidencia la presencia de numerosos quistes, que se extraen.

Los niños y personal del Centro de Atención Integral de Niñez y Adolescencia, fueron estudiados en búsqueda de quistes hidatídicos, siendo los resultados negativos.

Dos meses después la gata es trasladada al Centro de Zoonosis en Sarmiento, Chubut, donde se mantiene activa, con buen ánimo y apetito. (Foto 11).

Una segunda ecografía evidencia la presencia de vesículas en el abdomen. Por cirugía se extraen numerosas vesículas libres en la cavidad abdominal, vesículas adheridas al peritoneo y se evacúan vesículas de los quistes hepáticos superficiales. Se contabilizaron: 1 vesícula de 4 cm, 10 de 2 cm y 910 vesículas más chicas, que pesaron 1.560 gramos. (Foto 12).



Foto 11. Gata adulta “Misha”, antes de la segunda cirugía.



Foto 12. Vesículas extraídas durante la cirugía.

Recibió tratamiento médico, durante 6 meses con 15mg/kg/día de praziquantel y un protector / regenerador de células hepáticas, vía oral. Murió 14 meses después. En la necropsia no se encontraron quiste en ningún órgano, incluyendo el hígado y se recolectaron 10 quistes de 1 cm de cavidad abdominal. (Gertiser y cols 2017) y (Avila y cols. 2016).

En ambos gatos se obtuvo líquido intravesicular para análisis histológicos y moleculares.

Al microscopio óptico se observaron protoescolices evaginados e invaginados, con y sin ganchos rostelares y con notables corpúsculos calcáreos, compatibles con *Equinococcus* sp. El 90 % no eran viables y fueron teñidos con azul de metileno. (Foto 13).

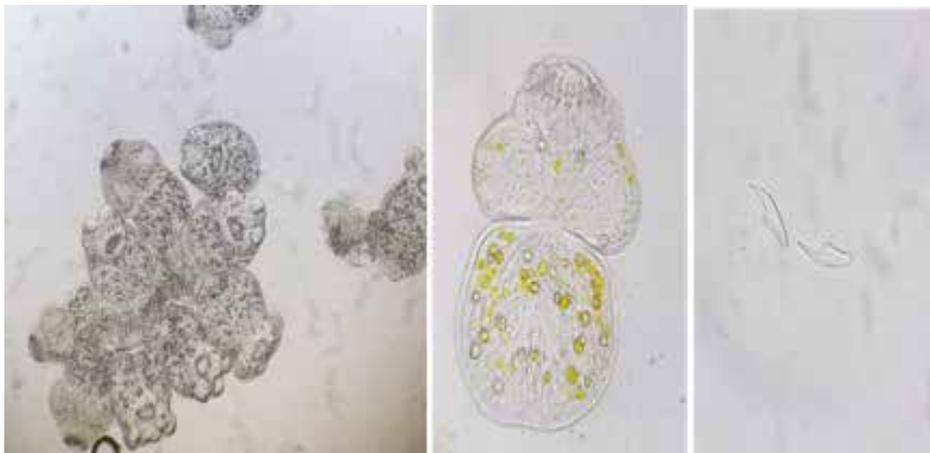


Foto 13. Protoescolíces agrupados, protoescolice evaginado y ganchos sueltos.

Se extrajo ADN para realizar reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de un fragmento del gen mitocondrial *cox-1*, para luego ser secuenciado.

Se secuenció AgB2, proteína involucrada en la relación huésped-parásito (Maglioco et al. 2019), B4 relacionada con la respuesta inmunológica y HSP90, involucrada en los procesos adaptativos y morfogenéticos. El resultado obtenido indica un 95% de homología con las secuencias del genotipo G1 del ovino patagónico. (Avila et al, 2021).

Las secuencias fueron alineadas con genes ortólogos de cada genotipo de *E. granulosus s. l.*, a fin de poder identificar la especie causante. (Foto 14).

Con los resultados obtenidos se realizaron estudios de filogenia y construcción de un árbol filogenético. (Foto 15).



Foto 14. Secuencia ADN.

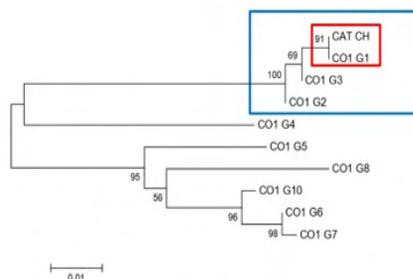


Foto 15. Árbol filogenético.

En ambos casos se puede evidenciar que la especie causante fue *E. granulosus s. s.* (G1). (Gertiser y cols. 2017), (Barbery y cols 2016) y (Avila y cols. 2016).

4 | CONCLUSIONES

Hasta el momento, *E. granulosus sensu stricto*, genotipo G1, es la única especie del complejo *E. granulosus sensu lato*, capaz de infectar gatos domésticos.

Los gatos domésticos con hidatidosis, pueden ser considerados centinelas de contaminación ambiental de áreas urbanas con huevos de *E. granulosus s.l.* con riesgo potencial de infección para el hombre.

Los pocos casos informados en el mundo en relación con el alto número de gatos y las muchas zonas endémicas, supone que los gatos no son muy susceptibles a esta infección y/o que los casos no son diagnosticados e informados.

La laparotomía con la extracción de las vesículas del abdomen, evacuación de los quistes hepáticos superficiales y el tratamiento farmacológico con drogas antiparasitarias como el albendazol y el praziquantel, deben ser consideradas.

La hidatidosis debe ser incluida en el diagnóstico diferencial en gatos domésticos de zona endémica, como la Patagonia Sur y otras regiones de Argentina, que llegan a la consulta con “embarazo” prolongado, distensión abdominal y/o observación de vesículas en la ecografía abdominal.

REFERENCIAS

1. Armua-Fernandez MT, Castro OF, Crampet A, Bartzabal A, Hofmann-Lehmann R, Grimm F, Deplazes P. (2014). *First case of peritoneal cystic echinococcosis in a domestic cat caused by Echinococcus granulosus sensu stricto (genotype 1) associated to feline immunodeficiency virus infection.* Parasitology International, 63, 300-302.
2. Avila, Héctor Gabriel, Pérez, M.G, Gertiser, M.L, Ferreyra M.P, Ferrari E, Fuchs A, Correa A, Rosenzvit M, Jensen O. (2016). *Equinococosis quística en un gato doméstico causada por Echinococcus granulosus sensu lato, en Sarmiento, provincia del Chubut.* VI Jornadas de Jóvenes Investigadores. Facultad de Cs. Veterinarias, CABA, Argentina.
3. Avila, HG, Maglioco, A., Gertiser, ML et al. Primer reporte de equinococosis quística causada por *Echinococcus granulosus sensu stricto* / G1 en *Felis catus* de la región patagónica de Argentina. Parasitol Res 120, 747–750 (2021). <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07048-4>
4. Barbery Venturi M, Maglioco A, Miana V, Prieto González A, Fuchs A, Avila H.G, Gertiser M L, Perez M, Rosenzvit M, Jensen O. (2016) *Hidatidosis Quística. Gato doméstico como hospedero intermediario.* XVI Congreso Nacional de AVEACA. Asociación de Veterinarios Especializados en Animales de Compañía de Argentina, CABA, Argentina.
5. Bonelli P, Masu G, Giudici SD, Pintus D, Peruzzu A, Piseddu T, Santucci C, Cossu A, Demurtas N, Masala G. (2018). *Cystic echinococcosis in a domestic cat (Felis catus) in Italy.* Parasite 25, 25.
6. Burgu A, Vural SA, Sarimehmetoglu O. (2004). *Cystic echinococcosis in a stray cat.* Veterinary Records, 155, 711-712.

7. Camacho María Candela, Paludi A, Saumell C, Fusé L. (2012). *Hidatidosis abdominal diseminada en un felino Europeo Común*. Tesis de grado. Facultad de Veterinaria. Universidad Nacional del Centro. Buenos Aires. Argentina.
8. Carballo Pou M. (1933). *La echinococosis in los carnívoros domésticos*. Boletín Mens de Policía Sanitaria de los Animales, Montevideo, Uruguay. 1-13.
9. Castro, O.F.; Armua, M.T.; Crampet, A.; Bartzabal, A.; Rista, L. (2013). *Segundo caso de echinococosis larvaria peritoneal en un gato doméstico de Uruguay*. IX Congreso Nacional SUVEPA. Montevideo. Uruguay.
10. Cucher M, Macchiaroli N, Baldi G, Camicia F, Prada L, Maldonado L, Ávila H.G, Fox A, Gutiérrez A, Negro P, López R, Jensen O, Rosenzvit M, Kamenetzky L. (2016) *Cystic echinococcosis in South America: systematic review of species and genotypes of Echinococcus granulosus sensu lato in humans and natural domestic hosts*. Tropical Medicine and International Health; 21(2): 166-175.
11. Gertiser Maria Laura, Avila H. G, Barbery Venturi M, Fuchs A, Devoto L, Delaplace M, Ferreyra M.P, Ferrari F, Klinger E, Correa A, Jensen O. (2017) *Gato doméstico como hospedador intermediario de Echinococcus granulosus en Patagonia Sur, Argentina*. XL Jornadas Internacionales de Hidatidología y las XXXII Jornadas Nacionales de Hidatidosis. Asociación Argentina de Hidatidología y Asociación Internacional de Hidatidología, Tandil, Argentina.
12. Konyaev SV, Yanagida T, Ivanov MV, Ruppel VV, Sako Y, Nakao M, Ito A. (2012). *The first report on cystic echinococcosis in a cat caused by Echinococcus granulosus sensu stricto (G1)*. Journal of Helminthology, 86, 391-394.
13. McDonald FE, Campbell AR. (1963). A case of cystic hydatids in the cat. New Zealand Veterinary Journal, 11, 131-132.
14. Von der Ahe C. (1967). *Studies on larval echinococcosis in the domestic cat*. Zeitschrift für Tropenmedizin und Parasitologie, 18, 369-375.
15. Whitten B.V.Sc Ph.D. & E.H. Shortridge B.Sc. M.R.C.V.S. (1961) *Three unusual cases of secondary hydatid cysts of the peritoneal cavity of the pig, dog, and cat*, New Zealand Veterinary Journal, 9:1, 7-8.

CAPÍTULO 8

IMPACTAÇÃO DE ÍLEO EM EQUINO DA RAÇA BRASILEIRO DE HIPISMO: RELATO DE CASO

Data de aceite: 02/08/2021

Larissa Vieira Garcia

Centro Universitário Ritter dos Reis
Porto Alegre – Rio Grande do Sul
<http://lattes.cnpq.br/7566911224221129>

Júlia Girardi Townsend

Ufrgs
<http://lattes.cnpq.br/3470798640907549>

Valesca Peter dos Santos

Ufpel
<http://lattes.cnpq.br/4767355316324934>

Micael Feliciano Machado Lopes

Uniritter
<http://lattes.cnpq.br/7120310651658522>

Fernando Guimarães Munhoz

Urcamp
<http://lattes.cnpq.br/9302812409895570>

Ilusca Sampaio Finger

Ufpel
<http://lattes.cnpq.br/7515952741239347>

RESUMO: A síndrome cólica ou abdômen agudo é muito comum em equinos, sendo definida como um quadro de dor abdominal que pode ter origem em qualquer órgão desta cavidade. Os sinais clínicos variam em intensidade conforme as particularidades do paciente, assim como a sua forma de resolução, podendo ser clínica ou cirúrgica. Partindo deste contexto o objetivo deste trabalho é relatar um caso de impactação de íleo em equino da raça Brasileiro de Hipismo. Foi

realizado o atendimento a um equino, fêmea, dez anos de idade, da raça Brasileiro de Hipismo com histórico de dor abdominal moderada a severa. No exame clínico foi observada frequência cardíaca de 60 batimentos por minuto (bpm), frequência respiratória de 20 movimentos por minuto (mpm), hipomotilidade, hematócrito de 41% e proteína plasmática total de 7,8 g/dL. Seguindo o protocolo de atendimento foi realizada a sondagem nasogástrica que se classificou como produtiva para refluxo gástrico. Na palpação transretal foram identificadas alterações de posicionamento visceral e na avaliação ultrassonográfica transabdominal foi possível identificar alças de intestino delgado distendidas. A partir dessas informações o paciente foi encaminhado para celiotomia exploratória. Durante o procedimento de intervenção concluiu-se que a causa do desconforto abdominal era impactação de íleo, assim optou-se como tratamento a enterotomia pelo ceco seguida de lavagem. A cirurgia deu-se como bem-sucedida, sem complicações no pós-operatório durante a internação. No décimo terceiro dia o paciente recebeu alta seguido de recomendações para manejo na propriedade. A enterotomia e lavagem cecal foram eficazes como tratamento cirúrgico para impactação de íleo.

PALAVRAS-CHAVE: Abdômen agudo; brasileiro de hipismo; celiotomia; equinos; impactação.

IMPACT OF ILEUS IN A BRAZILIAN EQUESTRIAN HORSE: A CASE REPORT

ABSTRACT: Colic syndrome or acute abdomen is very common in horses, being defined as

an abdominal pain that can originate in any organ of this cavity. The clinical signs vary in intensity according to the patient's particularities, as well as their form of resolution, which may be clinical or surgical. From this context, the objective of this work is to report a case of ileum impaction in a Brazilian equestrian horse. A 10-year-old female horse, Brazilian equestrian, was presented with a history of moderate to severe abdominal pain. In the clinical examination, a heart rate of 60 bpm, a respiratory rate of 20 mpm, hypomotility, a hematocrit of 41% and total plasma protein, such as 7.8 g / dl, were observed. Following the care protocol, a nasogastric tube was performed, which was classified as productive for gastric reflux. In the transrectal palpation, changes in visceral positioning were identified and in the transabdominal ultrasound evaluation, it was possible to identify stretched small intestine loops. Based on this information, the patient was referred for exploratory celiotomy. During the intervention procedure, it was concluded that the cause of abdominal discomfort was ileum impaction, so the cecum enterotomy followed by washing was chosen as treatment. The surgery was successful, without complications in the postoperative period during hospitalization. On the thirteenth day, the patient was discharged followed by recommendations for handling on the property. Enterotomy and cecal lavage was effective as a surgical treatment for ileum impaction.

KEYWORDS: Acute abdomen; brazilian equestrian horse; celiotomy; equine; impaction.

ISOLAMENTO DE *Pseudomonas Aeruginosa* EM TESTUDINES

Data de aceite: 02/08/2021

Karoline Vintureli Felício

Programa de Aprimoramento em Medicina Veterinária. Universidade Estadual do Centro Oeste – UNICENTRO
Guarapuava – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/2942445700740985>

Thiago Francisco Costa Solak

Programa de Aprimoramento em Medicina Veterinária. Universidade Estadual do Centro Oeste – UNICENTRO
Guarapuava – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/1897657380688684>

Rodrigo Antonio Martins de Souza

Professor Adjunto A – Departamento de Medicina Veterinária. Universidade Estadual do Centro Oeste – UNICENTRO
Guarapuava – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/8542263231718985>

Fernanda Maria Silva Schmickler

Programa de Aprimoramento em Medicina Veterinária. Universidade Estadual do Centro Oeste – UNICENTRO
Guarapuava – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/7304899234530665>

Adriano de Oliveira Torres Carrasco

Professor Associado B – Departamento de Medicina Veterinária. Universidade Estadual do Centro Oeste – UNICENTRO
Guarapuava – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/6675057976344577>

Amanda Keller Siqueira

Professor Colaborador – Departamento de Medicina Veterinária. Universidade Estadual do Centro Oeste – UNICENTRO
Guarapuava – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/0760064395929594>

Meire Christina Seki

Professor Adjunto C – Departamento de Medicina Veterinária. Universidade Estadual do Centro Oeste – UNICENTRO
Guarapuava – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/0567485166288187>

RESUMO: A *Pseudomonas aeruginosa*, um bacilo Gram-negativo encontrado em diversos ambientes, como água e solo, tem grande importância clínica em animais selvagens, sendo um patógeno importante dentro dos criatórios de jabutis-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) e de tigrês-d'água (*Trachemys dorbigni*). A escolha do tratamento clínico efetivo deve ser realizado através da cultura bacteriana e antibiograma. Foram encaminhados ao CEVET, nove exemplares de testudines, sendo três jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) e seis tigrês-d'água (*Trachemys dorbigni*) provenientes de um criadouro comercial de répteis, em que alguns filhotes apresentaram manchas enegrecidas, linhas brancas e fragilidade na carapaça, blefarite, prostração, anorexia e alto índice de mortalidade. Amostras clínicas de dois animais foram encaminhados para cultura bacteriana e antibiograma sendo isolada a bactéria *Pseudomonas aeruginosa* em ambos os pacientes, e escolhido a enrofloxacin como

tratamento, após a realização do antibiograma. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi relatar e discutir as técnicas e os resultados obtidos a partir dos exames de isolamento bacteriano e antibiograma, abordando as possíveis formas de tratamento e prevenção de *Pseudomonas aeruginosa* em testudines.

PALAVRAS-CHAVE: Antibiograma; jabuti-piranga; tigrês-d'água.

ABSTRACT: *Pseudomonas aeruginosa*, a Gram-negative bacillus found in different environments, such as water and soil, has great clinical importance in wild animals, being an important pathogen within the breeding of turtles (*Chelonoidis carbonaria*) and tortoises (*Trachemys dorbigni*). Choice of effective clinical treatment must be through bacterial culture and antibiogram. Nine specimens of testudines were sent to CEVET, three of which are jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) and six tortoises (*Trachemys dorbigni*) from a commercial reptile breeding site, in which some pups showed black spots, white lines and fragility in the carapace, blepharitis, prostration, anorexia and high mortality rate. Clinical samples from two animals were sent for bacterial culture and antibiogram, with the bacterium *Pseudomonas aeruginosa* isolated in both patients, and enrofloxacin was chosen as treatment after the antibiogram was performed. Objective of this work was to report and discuss the techniques and results obtained from the bacterial isolation and antibiogram exams, addressing the possible forms of treatment and prevention of *Pseudomonas aeruginosa* in testudines.

KEYWORDS: Antibiogram; jabuti-piranga; Tortoise.

1 | INTRODUÇÃO

De grande importância clínica, a *Pseudomonas aeruginosa* é um bacilo Gram-negativo, aeróbico e sua movimentação se dá por meio de flagelos. É caracterizada pela produção de pigmentos extracelulares, produzindo também exotoxinas e bacteriocinas, responsáveis, muitas vezes, por aumentar a colonização e infecção no hospedeiro (Quinn, et al., 2005; Tortora, et al., 2005).

Os jabutis-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) e os tigrês-d'água (*Trachemys dorbigni*) são répteis populares no Brasil e o aumento no interesse em tê-los como animais de estimação faz com que criadouros legalizados aprimorem e aumentem sua criação, entretanto, alguns patógenos como a *Pseudomonas aeruginosa* podem afetar o desenvolvimento dos filhotes e gerar grandes prejuízos à produção (DUTRA, 2014).

Apesar de serem patogênicos, são microrganismos presentes no solo e na água, também podendo ser encontrados nas plantas e nos animais, estando presentes ocasionalmente em fezes de animais saudáveis. Estão relacionadas a infecções oportunistas, e por estarem presentes em diferentes locais, o determinante de doença está relacionado com o hospedeiro e ambiente que se encontra (Koneman, et al., 2001; Hirsh, et al., 2003; Quinn, et al., 2005).

É frequentemente associada a doenças infecciosas que acometem os répteis, podendo ser isolada na cavidade oral e pulmões de serpentes e lagartos, levando a quadros de estomatite e pneumonia. Relacionada também a dermatites, principalmente em animais

em cativeiro, em que o estresse, brigas ou falta de manejo adequado pode predispor a infecção oportunista (Silva, *et al.*, 2006; Silveira, *et al.*, 2014).

Nos últimos anos, houve um aumento contínuo de agentes infecciosos resistentes, como *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis* e a própria *P. aeruginosa*, que estão relacionados com a resistência antimicrobiana em hospitais, representando um problema de saúde única em todo o mundo (Pal, 2013).

A realização de exames complementares como cultura e antibiograma possibilita que as estratégias clínicas sejam melhor direcionadas e assim, o tratamento torna-se mais efetivo. A cultura microbiana possibilita isolar e identificar o principal agente bacteriano infectante, já o antibiograma garante maior segurança ao uso dos antimicrobianos, pois informa a sensibilidade do agente em questão à cada medicamento testado (Quinn, *et al.*, 2005).

O objetivo deste trabalho é relatar e discutir as técnicas e resultados dos exames de isolamento bacteriano e antibiograma, realizados para confirmação diagnóstica, abordando as possíveis formas de tratamento e prevenção da *Pseudomonas aeruginosa*, em testudines criados como animais de estimação não convencionais, demonstrando a importância destes para a prevenção de resistência a antibióticos.

2 | METODOLOGIA

Foram encaminhados ao CEVET, nove exemplares de testudines, sendo três jabutis-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) e seis tigrês-d'água (*Trachemys dorbigni*) provenientes de um criadouro comercial de répteis (legalizado), cujo alguns filhotes do plantel apresentaram manchas enegrecidas, linhas brancas e fragilidade no casco, blefarite, prostração, anorexia e alto índice de mortalidade.

A partir da anamnese e dos sinais clínicos observados, foram solicitados ao Laboratório de Doenças Infecciosas e Parasitárias (LADIP) exames de isolamento bacteriano e antibiograma. Para tais, coletou-se fragmentos de coração e fígado durante o exame necroscópico de um dos jabutis que foi a óbito, realizando-se a semeadura direta. Já do tigre-d'água, o material para cultura foi puncionado do seio venoso subcarapaçal (sangue e linfa) e imediatamente após a coleta, a amostra foi adicionada ao meio de caldo de enriquecimento (BHI) por 24 horas a 37°C. Todas as amostras foram submetidas ao cultivo bacteriano aeróbico em placas de ágar sangue e ágar MacConkey, incubadas a 37°C por 24 horas.

Após esse período, as placas foram analisadas, observando as colônias e suas características. Com as amostras do jabuti, foram feitas provas bioquímicas utilizando o teste de Bactray 3 e realizado o antibiograma, em que foram coletadas colônias com swab e colocadas em tubo com 3mL de NaCl 0,9%, todos devidamente esterilizados, e comparadas com a escala de MacFarland, seguindo para semeadura em placa Muller. A escolha do

disco foi feita baseando-se nos fármacos utilizados na rotina clínica de animais selvagens em que o animal foi atendido, utilizando-se então do sistema multidiscos Multifar-15. As placas foram incubadas em estufa a 37°C por 24 horas.

Em seguida, foram feitas as medições do halo das colônias para determinação de sensibilidade ou resistência perante os antibióticos testados, seguindo manual da CLSI 2018.

Os animais foram então encaminhados ao setor de Diagnóstico por Imagem do CEVET para realização de exame radiográfico e avaliação pulmonar. Foram realizadas radiografias do corpo inteiro com incidências Crânio-caudal e látero-lateral direita, de dois jabutis e seis tigres-d'água.

3 | ANÁLISE E DISCUSSÃO

As colônias que cresceram nas placas das amostras de ambos animais, tiveram as mesmas características, como cor acinzentada, com colônias grandes não hemolíticas e bordas arredondadas, compatíveis com colônias formadas pela *Pseudomonas aeruginosa* (Quinn, et al., 2005). Foram isoladas de ambas as placas do jabuti, a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, resultado obtido pelo teste Bactray 3. No sistema de multidiscos escolhido, foram testados 15 antibióticos de diferentes classes, e a sensibilidade e resistência estão descritos na tabela 1.

Antibiótico	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (amostra fígado)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (amostra coração)
Amicacina	Sensível	Sensível
Amoxicilina + Clavulanato de Potássio	Resistente	Resistente
Ampicilina e Sulbactam	Resistente	Resistente
Cefadroxil	Resistente	Resistente
Cefalexina	Resistente	Resistente
Cefalotina	Resistente	Resistente
Ceftiofur	Resistente	Resistente
Ceftriaxona	Sensível	Sensível
Ciprofloxacina	Sensível	Sensível
Enrofloxacina	Sensível	Sensível
Gentamicina	Sensível	Sensível
Marbofloxacina	Sensível	Sensível
Neomicina	Sensível	Sensível
Norfloxacina	Sensível	Sensível
Tobramicina	Sensível	Sensível

Tabela 1- Resultado antibiograma das amostras de fígado e coração de jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria*).

Dos 15 antibióticos utilizados, a bactéria apresentou resistência à seis deles. Em um estudo realizado por Vasconcelos *et al* (2006), em que foram isoladas linhagens selvagens de *P. aeruginosa* de 13 diferentes ambientes aquáticos, utilizando-se nove antibióticos de cinco classes comumente utilizadas no tratamento de doenças causadas por ela, todas as drogas utilizadas foram sensíveis, sendo os antibióticos igualmente utilizados, Amicacina, Ciprofloxacina, Gentamicina e Tobramicina, que também se demonstraram sensíveis a bactéria encontrada no Jabuti. A partir do teste de sensibilidade o antimicrobiano escolhido para o tratamento foi a enrofloxacin, indicado por Carpenter (2018) sendo de uso seguro nessas espécies.

Os animais apresentavam lesões em casco, que segundo Silva, *et al*, (2006), as dermatites bacterianas podem ocorrer devido manejo e condições ambientais inadequados, em que ambientes sombreados, umidade ambiental excessiva, má qualidade da água, estresse e má nutrição, podem ser fatores predisponentes. No local em que esses animais viviam, havia pouca incidência de luz natural, com grande número de animais e presença de umidade. A *Pseudomonas aeruginosa* está presente em diversos ambientes, sendo que locais úmidos e pouco areados podem predispor seu crescimento e proliferação (Hirsh, *et al.*, 2003).

A adequada qualidade da água é crucial para a saúde dos animais em cativeiro. Dessa forma, amostras de água devem ser coletadas para realização de exames laboratoriais, como determinação do pH e análise microbiológica (Silva, *et al.*,2006). Contudo, não foi possível a realização destes testes no habitat destes animais.

Nas radiografias foram observados sinais sugestivos de pneumonia em alguns indivíduos, sendo sugerido lavado bronco-alveolar para diagnóstico conclusivo de agente causador. Das amostras cultivadas dos animais do presente estudo, foi observado apenas o crescimento da *Pseudomonas aeruginosa* não estando associada a outro patógeno infeccioso. Em um trabalho realizado por Oliveira *et al* (2005), essa bactéria foi isolada em vesículas cutâneas em serpentes *Micrurus corallinus*, associada a *Staphylococcus aureus*, e em tartarugas que apresentaram pneumonia crônica, associada a membros da família Enterobacteriaceae, descrito por Silveira *et al* (2014).

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

O isolamento da bactéria, junto com o antibiograma, possibilita um tratamento mais eficaz, a partir da escolha do antimicrobiano adequado para aquele microrganismo, pois a administração empírica desses medicamentos pode levar a seleção de cepas resistentes. Por estar naturalmente presente no ambiente, a *Pseudomonas aeruginosa* pode ser de difícil controle, sendo necessárias medidas preventivas para impedir ou diminuir o risco de infecções por esse patógeno. Assim, alterações no manejo e no ambiente em que os testudines vivem são necessários para a prevenção de infecção por *P. aeruginosa*.

REFERÊNCIAS

Aquáticos. **Revista de Patologia Tropical**, v. 35, n. 3, p. 241-244, 2006. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/iptsp/article/view/1885/1798>. Acesso em: 31 ago. 2020.

CARPENTER, J. W. **Exotic Animal Formulary**. 5ª edição, Missouri: Elsevier, 2018.

DUTRA, G. H. P.; **Testudines (cágados e jabutis)** in: **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. 2ª edição. São Paulo: Roca, 2014.

HIRSH, Dwight C.; ZEE, Yuan Chung; DE SOUZA COUTINHO, Adriana. **Microbiologia veterinária**. Guanabara Koogan, 2003.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; DOWELL, V. R. **Diagnóstico Microbiológico**. 5ª Edição. Medsi, 2001.

OLIVEIRA, S. E.; et al. Macro and microscopic alterations observed in coral snakes *Micrurus corallinus* in laboratory animal rooms (Reptilia-Ophidia-Elapidae). **Revista Portuguesa De Ciências Veterinárias**, v. 553, p. 71, 2005. Disponível em: http://www.fmv.ulisboa.pt/spcv/PDF/pdf3_2005/100_71_74.pdf. Acesso em 01 set. 2020.

PAL, Mahendra. Public health concern due to emerging and re-emerging zoonoses. **International Journal of Livestock Research**, v. 3, n. 1, p. 56-62, 2013.

SILVA, J. C. R.; DIAS, J. L. C.; CUBAS, Z. S. **Tratado de animais selvagens**. São Paulo, Roca, 2006.

SILVEIRA, Marcelo M. et al. Pneumonia bacteriana em jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria*): aspectos clínicos, microbiológicos, radiológicos e terapêutica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 9, p. 891-895, 2014. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X2014000900014&script=sci_arttext&tlng=pt. Acesso em: 29 ago 2020.

TORTORA, Gerard J.; CASE, Christine L.; FUNKE, Berdell R. **Microbiologia**. 8ª Edição. Artmed Editora, 2005.

VASCONCELOS, Ulrich; CALAZANS, Glícia Maria Torres. Antibiógramas De Linhagens de *Pseudomonas Aeruginosa* Isoladas de Diferentes Ambientes

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Artmed Editora, 2005.

CAPÍTULO 10

O EMPREGO DA INJEÇÃO INTRACITOPASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDE (ICSI) EM DIFERENTES ESPÉCIES

Data de aceite: 02/08/2021

Rógenes Ferreira Caetano

Centro Universitário Cesmac, Curso de
Medicina Veterinária
Maceió - AL

Dawys Elísio de Oliveira Peroba

Insemina PET
Maceió – AL
Centro Universitário Cesmac, Programa de
Pós-Graduação Stricto Sensu em Biotecnologia
em Saúde Humana e Animal
Maceió - AL

Gabriela Liberalino Lima

Instituto Federal do Ceará, Curso de Zootecnia
Crato – CE

Karen Noronha Sarmiento

Insemina PET
Maceió – AL
Centro Universitário Cesmac, Curso de
Medicina Veterinária
Maceió - AL

Márcio Calixto Matias

Universidade Federal de Alagoas, Programa
de pós graduação em ciência animal, Curso de
Medicina Veterinária
Viçosa - AL

Ana Claudia Avila Mendonça de Lyra

Biotério Dr. Dirceu Falção, Centro Universitário
Cesmac
Maceió – AL

Tânia Valeska Medeiros Dantas Simões

Embrapa Tabuleiros Costeiros
Aracaju - SE

Gilsan Aparecida de Oliveira

Centro Universitário Cesmac, Curso de
Medicina Veterinária
Maceió - AL

Raíssa Karolliny Salgueiro Cruz

Centro Universitário Cesmac, Curso de
Medicina Veterinária
Maceió - AL

Valesca Barreto Luz

Centro Universitário Cesmac, Programa de
Pós-Graduação Stricto Sensu em Biotecnologia
em Saúde Humana e Animal
Maceió - AL

RESUMO: O uso das biotécnicas reprodutivas tem como principal objetivo o melhoramento dos índices reprodutivos, proporcionando um melhor aproveitamento de animais geneticamente superiores. A injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) é uma técnica de reprodução assistida que consiste na injeção de um único espermatozoide no interior do citoplasma do oócito com o auxílio de micromanipuladores, sendo capaz de ser utilizada para a obtenção de embriões em casos de sêmen de baixa qualidade ou com baixo número de espermatozoides. Para tanto foram consultados em artigos, revistas indexadas, monografias, dissertações e em teses, sem delimitação do tempo de publicação.

PALAVRAS-CHAVE: Injeção intracitoplasmática de espermatozoide, ICSI, Biotecnologia da reprodução.

THE EMPLOYMENT OF INTRACYTOPLASMATIC SPERM INJECTION (ICSI) IN DIFFERENT SPECIES

ABSTRACT: The use of reproductive biotechniques has as main objective the improvement of reproductive indexes, providing a better use of genetically superior animals. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) is an assisted reproduction technique that consists of injecting a single sperm into the oocyte cytoplasm with the aid of micromanipulators, being able to be used to obtain embryos in cases of low semen. quality or low number of sperm. For this purpose, they were consulted in articles, indexed journals, monographs, dissertations and in theses, without delimiting the time of publication.

KEYWORDS: Intracytoplasmic sperm injection, ICSI, Biotechnology of reproduction.

1 | INTRODUÇÃO

Algumas técnicas de reprodução desenvolvidas para aumentar o número de indivíduos de maneira assistida, a exemplo da Inseminação artificial (IA), fertilização in vitro (FIV) e injeção intracitoplasmática de espermatozoide, seguidas da transferência de embriões (TE). A ICSI e a FIV apresentam uma maior probabilidade de gerar embriões viáveis, já que há um maior controle do ambiente uterino e maiores chances de fecundação do oócito pelo espermatozoide (MICHELETTI et al., 2011).

Quando ocorre o insucesso das técnicas de reprodução, a exemplo da FIV convencional, pode ser utilizada a Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides. Por conseguir ultrapassar as barreiras do oócito e da membrana plasmática, a ICSI pode auxiliar a reprodução em animais com alterações seminais ou que possuem alterações morfofisiológicas decorrentes do envelhecimento (SOUZA, 2017).

A Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides foi descrita no ano de 1992, em seres humanos, consistindo na seleção de um único espermatozoide para fecundar cada oócito, sendo a técnica mais utilizada quando se trata de graves alterações espermáticas (SILVA; VERZELETTI, 2017).

Para obter êxito na ICSI, faz-se imediatamente a imobilização do espermatozoide antes do procedimento da técnica, isso vai auxiliar na taxa de fertilização e gestação. Essa imobilização faz a membrana do espermatozoide torna-se permeável, permitindo assim, que o núcleo seja exposto ao ooplasma, facilitando a fusão do oócito com o espermatozoide, dando origem a formação do pró-núcleo masculino. Todo esse processo torna viável a extrusão do segundo corpúsculo polar, formando, então, o pró-núcleo feminino (PIMENTEL, 2006).

A injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) é uma das técnicas de reprodução mais caras que existe (em razão do custo do micro manipulador que realiza a injeção do espermatozoide), mas é também a técnica que pode apresentar a maior taxa de sucesso na concepção de embriões devido à precisão com que a fecundação é conduzida (MICHELETTI et al., 2011). Diante da relevância da importância dessa técnica, objetivou-se

resumir e relatar sobre a técnica de ICSI em diferentes espécies.

2 | REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico e importância da técnica de ICSI

Com o avanço e desenvolvimento de técnicas de fecundação *in vitro* (FIV) em animais e humanos, em conjunto com a transferência de embriões, houve um aumento na procura por alternativas para contornar os casos em que a FIV convencional não é possível. Quando poucos espermatozoides estão disponíveis ou quando estes apresentam baixa capacidade de fertilização. Como uma das ferramentas fundamentais de estudos para correção da infertilidade ligada ao espermatozoide, surge a injeção intracitoplasmática de espermatozoide ICSI (MARTINS et al., 2002), que tem se desenvolvido como uma técnica de imenso interesse em diversos campos da reprodução (MATOS, 2004).

Existem relatos que a ICSI foi sucedida pela primeira vez em 1962 em ouriços do mar. Mas, somente em 1988 obteve-se o primeiro mamífero nascido oriundo da técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoide ICSI, um coelho. Em humanos, a ICSI foi descrita pela primeira vez em 1992, onde propuseram que a ICSI poderia ser uma técnica promissora nos casos em que não se tem sucesso com a FIV convencional. Desde então, a ICSI tem sido uma das possíveis soluções para contornar problemas de infertilidade masculina em diversas espécies de animais (KOCH, 2017).

A ICSI também pode ser executada com espermatozoides do epidídimo e ejaculado, ambos com o mesmo potencial (GRACIANO, 2014). A célula espermática utilizada na injeção pode ser originada de preparações de sêmen fresco, refrigerado, congelado ou liofilizado, não havendo diferença entre as taxas de clivagem (BERTOZZO et al., 2014).

Na ausência de espermatozoides capazes para fertilizar o oócito, em animais que um dia foram férteis, ou quando ocorre morte repentina de animais de interesse para se multiplicar e conservar (MATTOS, 2001). É proposto que outros tipos de células germinativas masculinas podem ser micro injetadas, como as espermátides redondas e alongadas, essas células podem substituir espermatozoides no procedimento da ICSI, visto que, as quais também possuem potencial fecundante (SANTOS, 2016).

Conseqüentemente, com a utilização da técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoide ICSI, transfigura-se em uma opção e garantia biológica, principalmente para aqueles animais em programas de recuperação e preservação. Esta técnica poderá ser utilizada para gerar embriões através de fertilização *in vitro* de animais que tiveram sua reprodução bloqueada, devido à ausência de um habitat natural, isto é, encontram-se em cativeiro. Do mesmo modo, animais em fase terminal de vida ou mortos acidentalmente, poderão produzir descendentes quando o material (testículo e epidídimo) é colhido imediatamente, processado e as células espermáticas utilizadas pela ICSI (MATTOS, 2001).

A utilização das biotécnicas reprodutivas, a exemplo da ICSI, tem como objetivo principal uma maximização da eficiência reprodutiva (CARNEIRO, 2016), proporcionando um melhor aproveitamento de animais geneticamente superiores com problemas reprodutivos (RUA et al., 2016).

A ICSI pode ser empregada como uma importante ferramenta na produção de embriões. Uma das grandes vantagens da ICSI reside *in vitro*, na possibilidade de permitir o uso de espermatozoides que não seriam capazes de fertilizar o oócito pela FIV convencional (MATOS, 2004).

A técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoide tem promovido resultados favoráveis, representando um avanço, tem expandido as possibilidades de reprodução assistida em animais e humanos. Sendo uma ferramenta fundamental para a correção da infertilidade ligada aos espermatozoides e conseqüentemente a ocorrência da fecundação (GRACIANO, 2014).

2.2 Aplicações da técnica de ICSI em animais de grande porte

Em seguida ao primeiro relato de gestação em equino decorrente de um oócito maturado *in vitro* fertilizado pela técnica de ICSI em 1996. O resultado foi seguido por um período de resultados variáveis. A introdução do piezo e modificações nos meios de cultura permitiram melhoria nas taxas de clivagem e repetibilidade da técnica. Contudo, as taxas relatadas de blastocistos ainda variam de 0 a 42%, dependendo de alguns fatores, a exemplo, da idade da égua, estágio folicular, qualidade do oócito e fertilidade do garanhão. Com o uso dessas tecnologias, as taxas de gestação após a transferência de embriões é geralmente alta, variando de 50 a 80% (SALAMONE et al., 2017).

A aplicação da injeção intracitoplasmática ICSI em equinos superou a barreira da ineficiência da FIV, ocasionando finalmente na primeira gestação oriunda de oócitos maturados *in vitro*, levado com sucesso a termo. Atingindo uma taxa de prenhez de aproximadamente 60% (CRUZ, 2014).

A ICSI tem sido aplicada em diferentes espécies domésticas com êxito, porém em equinos essa técnica tem tido um progresso lento (CARNEIRO, 2012). Principalmente por que a espécie equina é reconhecida por ter uma capacidade reprodutiva menor que as demais espécies (CARNEIRO, 2016). Visto que a seleção de garanhões como reprodutores não é feita com base no potencial de fertilidade do animal ou resistência a criopreservação, mas sim devido a outros fatores. Como por exemplo, a “performance” desportiva (GUIMARÃES, 2014).

Na espécie bovina, a ICSI dificilmente leva à sua descondensação e formação de pro-núcleo durante o subsequente cultivo *in vitro*. Nos dias de hoje, pouco se sabe sobre os eventos celulares que ocorrem no processo de fertilização de oócitos bovinos para que ocorra o correto desenvolvimento embrionário após a técnica da ICSI. Até o momento, conforme a literatura disponível, somente quatro trabalhos relataram o nascimento de

bezerros após a transferência de embriões bovinos obtidos por meio da técnica de ICSI (MATOS, 2004).

A técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoide ICSI não é uma técnica eficiente na espécie bovina, quando comparada a FIV convencional que apresenta resultados satisfatórios. Dessa forma, a técnica de ICSI fica interessante nos casos em que a FIV convencional não é capaz de produzir embriões com êxito, como é o caso da utilização de sêmen sexado em bovinos leiteiros de touros geneticamente superiores que não são eficientes na FIV ou inseminação artificial; ou ainda com problemas relacionados a capacidade fecundante dos espermatozoides. (KOCH, 2017).

A ativação dos oócitos de diferentes espécies pode ocorrer naturalmente durante as diferentes etapas laboratoriais para a ICSI, incluindo o desnudamento, a centrifugação e a estimulação mecânica com a própria pipeta de injeção. No entanto, em bovinos esses estímulos e o próprio espermatozoide injetado são, na maioria das vezes, insuficientes, resultando em uma baixa ativação dos oócitos após a ICSI (MATOS, 2004).

Enquanto a injeção intracitoplasmática de espermatozoide ICSI tem sido aplicada com sucesso em humanos, em bovinos, os resultados obtidos são baixos, com altas taxas de oócitos não fertilizados. Pouco tempo atrás, foi relatado o uso de um equipamento denominado de Piezo micro manipulador para a técnica de ICSI em bovinos, e tem apresentado resultados animadores. Este equipamento tem se mostrado eficaz por facilitar a penetração da micropipeta na zona pelúcida e na membrana plasmática do oócito, permitindo a obtenção de altas taxas de fertilização dos oócitos (MATOS, 2004).

Em suínos, concluíram que a injeção de oócitos maturados *in vitro* com espermatozoides resultou em uma alta taxa de fertilização (60%). Em um estudo mais recente, a técnica de ICSI em oócitos suínos utilizando espermatozoides imaturos, produziram embriões que foram capazes de evoluir para blastocistos *in vitro*. O nascimento de suínos vivos como resultado da técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoide ICSI não foi relatado. Fatores previamente identificados em estudos da técnica de ICSI em bovinos, podem também contribuir com a baixa proporção de embriões que se transformou em suínos. Esses fatores incluem uma baixa taxa de ativação de oócitos e formação de pronúcleo masculino (MARTIN, 2000).

Um grupo de pesquisadores australiano divulgou o primeiro relatório da técnica de ICSI em ovinos, em 1995. Em ovinos utilizando uma cultura de oócitos injetados em ovidutos, a ICSI produziu um blastocisto, mórula e a divisão embrionária foi conseguida em oócitos injetados cultivados *in vitro* usando fluido de oviduto sintético. Quando a ICSI foi disponibilizado pela primeira vez em ovinos, a aplicação imediata foi a sua utilização com espermatozoides sexados. Naquele momento, a sexagem de espermatozoides não era uma técnica bem desenvolvida e o número de espermatozoides disponíveis após a citometria de fluxo foi muito limitado (LÓPEZ-SAUCEDO, et al., 2012).

Na Universidade de Sydney, um grupo de pesquisadores buscou fatores que afetam

a ICSI em ovinos e descobriram que, a melhoria mais importante para a ativação de oócitos foi a adição de ionomicina, que melhora o blastocisto na taxa de desenvolvimento. Esse grupo obtiveram filhotes vivos usando pela primeira vez cultura *in vitro* (LÓPEZ-SAUCEDO, et al., 2012).

Em 1997, foi publicado o primeiro relato da técnica de ICSI em cabras, onde obtiveram desenvolvimento embrionário até o estágio do blastocisto usando a ativação do oócito com ionomicina e cultura *in vitro*. Vários anos depois, foi relatado o desenvolvimento de blastocistos produzidos pela ICSI a partir de oócitos que foram injetados usando um dispositivo piezo e foram cultivadas em meio otimizado. Esses embriões foram posteriormente transferidos, produzindo a primeira prole viva pela técnica de ICSI em cabras. Provavelmente, esse resultado positivo tenha sido conseguido pela utilização do piezo, considerado uma melhoria no protocolo de ativação (LÓPEZ-SAUCEDO, et al., 2012).

2.3 Aplicações da técnica de ICSI em animais de pequeno porte

A importância das técnicas de reprodução assistida em cães e gatos, na maioria das vezes, é a sua aplicação em espécies caninas e felinas não domésticas, onde a maioria é considerada ameaçada de extinção ou em perigo. Nos últimos anos, foram feitos progressos em produção de embriões em carnívoros. Foi demonstrado que oócitos caninos podem retomar a meiose *in vitro* e que esses oócitos podem ser fertilizados e desenvolvidos *in vitro*, apesar de ocorrer uma taxa muito menor do que a maioria em oócitos de animais domésticos. A razão disso, está nas dissimilaridades da fisiologia reprodutiva dos cães em comparação com outras espécies (LUVONI, 2000).

Em 1997, conseguiu-se nascimentos de filhotes de gato doméstico após a transfêrencia de embriões decorrentes da fertilização *in vitro*. A injeção intracitoplasmática de espermatozoide resultou em taxas de clivagem variando de 40 – 60% e havendo o desenvolvimento das taxas ao estágio de blastocisto, cerca de 25%. Os filhotes obtidos apenas pela ICSI, só foi possível quando os oócitos maturados *in vivo* foram utilizados. Mas, uma gestação após a transferência de embriões produzidos através da ICSI em oócitos maturados *in vitro* foi relatado (LUVONI, 2000).

O surgimento de filhotes oriundos da técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoide ICSI em oócitos maturados *in vivo* e *in vitro* já foram descritos no gato doméstico. Verificaram os índices de clivagem e de blastocistos obtidos por meio das técnicas de ICSI e FIV em oócitos maturados *in vivo* e *in vitro*. Assim sendo, os melhores índices foram encontrados utilizando oócitos maturados *in vivo* (CARDILLI et al., 2012).

2.4 Aplicações da técnica de ICSI na preservação e recuperação de espécies ameaçadas de extinção

A aplicação da injeção intracitoplasmática de espermatozoide ICSI para a preservação e recuperação de espécies ameaçadas de extinção pode ser uma das maiores

contribuições. Já foi relatado a produção de cinco embriões viáveis a partir da técnica de ICSI em ovócitos recolhidos de um gorila-fêmea que veio a óbito (MATTOS, 2001).

Membros da família Felidae mostraram uma pequena vantagem em relação a sua conservação, devido ao fato de possuírem o gato doméstico como um modelo de animal muito bem retratado e estudado. Por meio de estudos em gatos domésticos, foi possível obter a base para tratamentos em felinos selvagens (DECO-SOUZA et al., 2013).

Em felinos selvagens, foram obtidos apenas embriões com ICSI em oócitos maturados *in vivo* conseguidos por meio da laparoscopia, mas, nenhuma prenhez foi relatada na literatura (CARDILLI et al., 2012). O procedimento da injeção intracitoplasmática de espermatozoide ICSI foi feito com os oócitos maturados e espermatozoides descongelados e contou com o auxílio de uma pipeta para fixar os oócitos por pressão negativa e uma pipeta de injeção para introduzir os espermatozoides. Após o procedimento, os oócitos foram transferidos para meios de cultura de embriões (BRAGA, 2016).

O resultado obtido no final demonstrou o primeiro relato da produção de blastocistos de leões em laboratório, mas, dos 68 oócitos aplicados no experimento, 25 atingiram a maturação desejada, 11 clivaram e apenas 4 atingiram o estágio de mórula e posteriormente blastocisto. Mostrando um resultado ainda abaixo do desejado, que, segundo os autores, esse resultado pode ter sido devido ao fato de os ovários serem retirados de fêmeas jovens que ainda não haviam atingido a puberdade, ou porque o protocolo utilizado ainda não é específico o suficiente para a tal espécie (BRAGA, 2016).

Em espécies selvagens ou ameaçadas de extinção, os oócitos são um limitante fator. Deste modo, a ICSI pode ser usado para avaliar a capacidade de fertilização dos espermatozoides em espécies exóticas que utilizam oócitos *in vitro*. Boas taxas de blastocistos pela técnica de ICSI foram produzidos após a injeção de espermatozoide de chita e leopardo em oócitos de gatos domésticos, sem tratamento de ativação. Também utilizaram oócitos de camundongos para avaliar amostras de espermatozoides do chimpanzé, girafa, onça, doninha e rato de pêlo comprido (SALAMONE et al., 2017).

Em conclusão, a injeção intracitoplasmática de espermatozoide ICSI concede a reprodução de animais selvagens separados por habitat natural, zoológicos e tempo, mesmo quando os espermatozoides são fracamente criopreservado ou em número baixo. A ICSI é uma fonte ilimitada de informações referente ao processo de fertilização, oferecendo um ótimo potencial para esclarecer diferenças mecanísticas entre mamíferos, com perspectivas de alto impacto em campos de pesquisa básica e aplicada (SALAMONE et al., 2017).

O uso da injeção intracitoplasmática de espermatozoide ICSI entre duas espécies diferentes vem sendo testado com a perspectiva da replicação de material genético de espécies ameaçadas de extinção, produção de espécies híbridas para gestarem outras espécies e o estudo do mecanismo de fertilização normal e infertilidade heteróloga (MATTOS, 2001).

3 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

As indicações para o uso da injeção intracitoplasmática de espermatozoide, inicialmente eram para casos severos de infertilidade masculina que não poderiam ser solucionados através dos outros métodos de reprodução assistida, como pela FIV convencional, porém com o passar do tempo, foi possível utilizar essa técnica para vários outros problemas, como a preservação de espécies em vias de extinção. Logo, essa técnica não só soluciona a área da infertilidade masculina, mas sim o universo da reprodução humana e animal assistida.

A vantagem da ICSI em comparação com outras técnicas é a capacidade de ampliar a escolha do garanhão a ser utilizado, incluindo aqueles portadores de baixa motilidade espermática e baixo desempenho reprodutivo *in vivo*. A injeção intracitoplasmática de espermatozoide é uma técnica particularmente interessante, uma vez que evita diversos passos do processo de fertilização, como a ligação à zona pelúcida, penetração na zona e a fusão da membrana, além disso, a técnica não exige a capacitação do esperma ou reação acrossomal.

REFERÊNCIAS

BERTOZZO, B. R. et al. **Vantagens e desafios das biotécnicas avançadas utilizadas na reprodução equina assistida.** *Boletim de Indústria Animal*. Campo Grande, MS. v. 71, n. 1, p. 84-93, 2014.

BRAGA, J. V. C. **Bioteecnologias da reprodução e suas aplicações na conservação de espécies: uma revisão.** 2016. 49 f. Monografia (Bioteecnologia) – Universidade Federal do Pampa. São Gabriel, 2016.

CARDILLI, D. J. et al. Aspectos atuais das bioteecnologias da reprodução em carnívoros. **Ars veterinária**. Jaboticabal, SP, v.28, n.4, p.260-267, 2012.

CARNEIRO, G. F. Produção *in vivo* e *in vitro* de embriões em equinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal** [online], Minas Gerais, MG, v.40, n.4, p.158-166, 2016. Disponível em: <<http://cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v40.pdf>>. Acesso em 08 abril. 2020.

CARNEIRO, G. F. Técnicas de reprodução assistida aplicadas a equinos. **Ciência Animal**. Garanhuns, PE. v.22, n.1, p.308-324, 2012.

CRUZ, T. E. **Injeção intracitoplasmática de espermatozoide em equinos.** 2014. 18 f. Dissertação (Medicina Veterinária) – Unidade Júlio de Mesquita Filho, Universidade Estadual Paulista. Araçatuba, 2014.

DECO-SOUZA, T. et al. Comparação entre duas concentrações de glicerol para a criopreservação de sêmen de suçuarana (*Puma concolor*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Porto Alegre, RS, v. 33, n. 4, p. 512–516, 2013.

GRACIANO, J. L. **Injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI)**. 2014. 60 f. Monografia (Medicina Veterinária) – Universidade de Brasília – UnB, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Brasília, DF, 2014.

GUIMARÃES, T. P. **Técnicas de reprodução assistida em equinos**. 2014. Doutorado (Medicina Veterinária) – Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto. Portugal, 2014.

KOCH, J. **Produção in vitro de embriões bovinos através de técnicas de micromanipulação**. 2017. 58 f. Monografia (Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Catarina. Curitiba, 2017.

LÓPEZ-SAUCEDO, J. et al. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in small ruminants. **Animal Reproduction Science**. San Lorenzo, México, v.133, p.129– 138, 2012.

LUVONI, G. C. Current progress on assisted reproduction in dogs and cats: in vitro embryo production. **Reproduction Nutrition Development**. Milan, Italy, v.40, p.505–512, 2000.

MARTIN, M. J. Development of in-vivo-matured porcine oocytes following intracytoplasmic sperm injection. **Biology of reproduction**. Ohio, EUA, v.63, p.109–112, 2000.

MARTINS, C. F.; SILVA, A. E. D. F.; RUMPF, R. Injeção intracitoplasmática de células espermáticas e suas aplicações na reprodução dos bovinos. 2002. 37 f. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**. Brasília, DF, 2002.

MATOS, L. F. **Produção in vitro de embriões bovinos por meio da injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI)**. 2004. 133 f. Doutorado (Medicina Veterinária) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Rio de Janeiro, RJ, 2004.

MATTOS, L. M. **Biotecnologias em reprodução assistida na preservação de animais silvestres em extinção**. 2001. 45 f. Monografia (Ciências Biológicas) – Ciências da Saúde do Centro Universitário de Brasília. Brasília, DF, 2001.

MICHELETTI, T. et al. Reprodução assistida em felídeos selvagens – **Revista Brasileira de Reprodução Animal** [online]. Belo Horizonte, MG, v.35, n.4, p.408-417, out./dez. 2011. Disponível em: <<https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/395227>>. Acesso em 11 janeiro. 2020.

PIMENTEL, A. M. **Produção de embriões humanos através da injeção intracitoplasmática de espermatozoides obtidos do ejaculado, epidídimo ou testículo**. 2006. 44 f. Mestrado (Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS). Santa Maria, RS, 2006.

RUA, M. A. et al. Aspiração folicular, maturação in vitro e injeção intracitoplasmática em éguas. **Pubvet**. Campos dos Goytacazes, RJ, v.10, n.3, p.248-256, Mar., 2016.

SALAMONE, D. F.; RODRÍGUEZ, N. G. C. a. M. B. Intracytoplasmic sperm injection in domestic and wild mammals. **Society for Reproduction and Fertility**. Buenos Aires, Argentina, v.154, p.111-124, 2017.

SANTOS, M. S. **A utilização da injeção intracitoplasmática de espermatozoide no ovócito como recurso na infertilidade masculina**. 2016. 36 f. Monografia (Biomedicina) – Centro Universitário de Brasília – UniCEUB. Brasília, DF, 2016.

SILVA, C. P. D.; VERZELETTI, F. B. Avaliação do desenvolvimento embrionário através da técnica de ICSI (injeção intracitoplasmática de espermatozoide). **Cadernos da Escola de Saúde**. Curitiba, PR. 11: 168-178. 2017.

SOUZA, J. R. M. D. **Injeção intracitoplasmática de espermatozoide: métodos de ativação oocitária e desestabilização da membrana espermática**. 2017. 55 f. Mestrado (Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria - UFSM. Santa Maria, RS, 2017.

TERAPIA CELULAR COM CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS EM ANIMAIS COM HIPOPLASIA DE MEDULA ÓSSEA

Data de aceite: 02/08/2021

Data de submissão: 03/05/2021

Victor Moraes Amorim

Centro Universitário de Brasília
Brasília – DF
<http://lattes.cnpq.br/5507670241181962>

Patricia Furtado Malard

BIO CELL Terapia Celular
Brasília – DF
<http://lattes.cnpq.br/4704537164289400>

Hilana dos Santos Sena Brunel

BIO CELL Terapia Celular
Brasília – DF
<http://lattes.cnpq.br/130701561194613>

RESUMO: A hipoplasia de medula óssea é uma enfermidade que afeta cães e gatos, caracterizada pela não produção suficiente de uma (citopenia) ou todas (pancitopenia) as linhagens das células do sangue. Essa enfermidade é causada por danos na medula óssea, prejudicando a produção das células sanguíneas. O prognóstico é desfavorável na maioria dos casos, com o tratamento sendo limitado a combater a sua causa, utilizando fatores de crescimento hematopoético, tratamento de suporte (transfusões de sangue) e a terapia imunossupressora (anti-inflamatórios esteroidais). As células-tronco mesenquimais (CTM) atuam através da secreção dos seus fatores parácrinos (citocinas e fatores de crescimento) diminuindo a inflamação, a

apoptose, estimulando a multiplicação celular, estimulando a angiogênese e regulação do sistema imune. O objetivo do trabalho foi avaliar a terapia celular com CTM halógenas em animais com hipoplasia de medula óssea. Para o presente estudo, foram selecionados 6 cães para serem submetidos ao tratamento para hipoplasia medular com CTM. Os animais selecionados apresentaram diagnóstico de hipoplasia, não eram responsivos ao tratamento imunossupressor e não apresentavam outras comorbidades. Dentre os animais selecionados as causas da hipoplasia eram de origem: infecciosas, medicamentosa e imunomediada. O protocolo realizado foi de 3 aplicações de CTM endovenosa, através de fluidoterapia. Foram realizados o hemograma de todos os animais entre cada aplicação, que comprovou a resposta positiva da medula óssea ao tratamento com a elevação dos parâmetros hematológicos avaliados. Foi concluído que o tratamento com CTM auxiliou na recuperação da medula óssea em animais com hipoplasia de medula óssea.

PALAVRAS-CHAVE: Aplasia de medula, Pancitopenia, Terapia celular.

CELL THERAPY WITH MESENCHYMAL STEM CELLS IN ANIMALS WITH BONE MARROW HYPOPLASIA

ABSTRACT: Bone marrow hypoplasia is a disease that affects dogs and cats, characterized by the insufficient production of one (cytopenia) or all (pancytopenia) blood cell lines. This disease is caused by damage to the bone marrow, impairing the production of blood cells. The prognosis is unfavorable in most cases, with

treatment being limited to fighting its cause, using hematopoietic growth factors, support treatment (blood transfusions) and immunosuppressive therapy (steroidal anti-inflammatory drugs). Mesenchymal stem cells (MSC) act by secreting their paracrine factors (cytokines and growth factors), decreasing inflammation, apoptosis, stimulating cell multiplication, stimulating angiogenesis and regulation of the immune system. The aim of the study was to evaluate cell therapy with halogenous MSC in animals with bone marrow hypoplasia. For the present study, 6 dogs were selected to undergo treatment for spinal hypoplasia with MSC. The selected animals had a diagnosis of hypoplasia, were not responsive to immunosuppressive treatment and had no other comorbidities. Among the animals selected, the causes of hypoplasia were of origin: infectious, medication and immune-mediated. The protocol performed was 3 applications of intravenous MSC, fluid therapy pathway. The blood count of all animals was performed between each application, which proved the positive response of the bone marrow to the treatment with the increase of the hematological parameters evaluated. It was concluded that treatment with MSC helped in the recovery of bone marrow in animals with bone marrow hypoplasia.

KEYWORDS: Marrow aplasia, Pancytopenia, Cell Therapy.

1 | INTRODUÇÃO

A hematopoiese é a produção de células sanguíneas constantemente pelas células-tronco hematopoiéticas e células progenitoras na medula óssea, dependente do meio em que as células estão (nicho hematopoiético) e as interações entre as células. Essa produção envolve vários processos como multiplicação, diferenciação e maturação das células sanguíneas; auto renovação e reparação das células da medula. Os processos são regulados por fatores intrínsecos e extrínsecos (citocinas inflamatórias) e mecanismos regulatórios (CXCL12) que alteram o nicho hematopoiético influenciando na produção das células do sangue (AQMASHEH et al., 2017).

A hipoplasia de medula óssea é uma enfermidade que afeta cães e gatos, caracterizada pela baixa produção de uma ou todas as linhagens das células sanguíneas pela medula óssea. No caso do acometimento de apenas uma linhagem celular, chamada citopenia, podemos ter as anemias (eritrócitos), trombocitopenia (plaquetas) ou leucopenia (células brancas). Quando o acometimento é de todos os tipos celulares produzidos pela medula óssea, ocorre a pancitopenia. Pode ser classificada em aguda ou crônica, de acordo com a sua evolução (MORAES; TAKAHIRA, 2010).

A hipoplasia pode acontecer pela destruição das células-tronco hematopoiéticas ou das células progenitoras, mutação genética, desregularização das citocinas hematopoiéticas ou alterações no estroma; causada por medicamentos (drogas mielotóxicas) (HARCHEK; ROUSSEAU; WALLIG, 2010), toxinas, radiação, agentes infecciosos (babesia, ehrlichia ou leishmaniose) (MEGID; RIBEIRO; PAES, 2016), imunomediada ou idiopática. Esses fatores provocam danos na medula óssea, danificando as linhagens das células sanguíneas resultando na sua baixa produção (COSTA et al., 2019).

A suspeita de hipoplasia acontece quando são descartados outros possíveis diagnósticos para as alterações hematológicas no animal. O prognóstico da maioria dos casos de hipoplasia medular é desfavorável, visto que o tratamento é limitado a tratar a causa, ao uso de anti-inflamatórios esteroidais (em dose imunossupressoras), ao tratamento de suporte e às transfusões sanguíneas (LUCIDI; MARCELO, 2015). Entretanto, novas opções terapêuticas vêm sendo avaliadas, como a terapia com células-tronco mesenquimais (CTM).

As CTM podem ser obtidas a partir de diversos tecidos, entre eles o adiposo, polpa dentária ou a medula óssea. Essas células apresentam a capacidade de serem multipotentes, podem se multiplicar e diferenciar em várias linhagens de tecidos mesenquimais (como os condrócitos, osteoblastos e adipócitos) (NAUTA; FIBBE, 2007). As CTM são atraídas pelo processo inflamatório, onde há uma grande concentração de citocinas pró-inflamatórias e células em apoptose e geram uma resposta a esse microambiente em que estão. A resposta das CTM é a produção de fatores parácrinos (fatores de crescimento e citocinas anti-inflamatórias), causando a diminuição da inflamação, modulação da resposta imunológica, estimulação da angiogênese, aumento da taxa de multiplicação celular, diminuição da apoptose e auxiliar as células danificadas a se recuperar (SPEES; LEE; GREGORY, 2016).

Considerando o mecanismo de ação das CTM, alguns trabalhos relatam efeitos positivos no tratamento da hipoplasia de medula óssea (NOLTA et al., 2002; NAKAO et al., 2010; PANG *et al.*, 2017). Entretanto o número de informações ainda é muito escasso na literatura. O objetivo do trabalho foi avaliar a terapia celular com células-tronco mesenquimais halógenas em animais com hipoplasia de medula óssea.

2 | FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O tratamento da medula danificada consiste na eliminação do fator que está causando o dano na medula óssea, com o objetivo inicial de reverter a deficiente produção das células sanguíneas. Nos casos de leucopenia, onde ocorrem as infecções oportunistas, são utilizadas antimicrobianos para combater os agentes infecciosos. Quando a causa é a administração de medicação de substâncias mielotóxicas a suspensão da medicação é suficiente para a recuperação do animal em aproximadamente 1 ou 2 semanas (KEARNS; EWING, 2006; COSTA *et al.*, 2019).

Segundo Lucidi e Marcelo (2015) a administração de fatores de crescimento hematopoiéticos recombinantes (eritropoietina, trombopoietina, fator estimulantes de granulócitos) para o tratamento de citopenias, tem como o objetivo de estimular a medula óssea a produzir as células do sangue, mas não influencia na causa do dano e podem gerar resposta imune por parte do animal, produzindo leucócitos contra o os fatores de crescimento, podendo agravar o dano à medula óssea.

Dentre as causas de hipoplasia medular, podem-se citar as doenças autoimunes e

os agentes infecciosos, os quais causam uma supressão da medula óssea pela produção de citocinas pró-inflamatórias pelos linfócitos T, Interferon-gama (IFN- γ) e o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), que possuem a capacidade de causar danos à medula óssea, interferindo na produção das células sanguíneas (GRIMES; FRY, 2015). Segundo Sun e colaboradores (2018) a superprodução de IFN- γ e TNF- α causam danos à medula, inibindo a proliferação de células progenitoras e estimulando a expressão de Fas ligante (induzindo a apoptose das células).

A terapia imunossupressora com anti-inflamatórios esteroidais, como a prednisona, inibe a produção de mediadores inflamatórios produzidos pelos linfócitos T, auxiliando na hematopoiese (BAGBY *et al*, 1979). Mas em casos de animais resistentes, a prednisona pode ser associada a outros medicamentos imunossupressores (ciclosporina) (LUCIDI; MARCELO, 2015).

Segundo Shin, Lee e Lee (2014) a terapia celular com CTM é uma opção em casos quando não há resposta com o tratamento com terapia imunossupressora. Pang e colaboradores (2017) realizaram um estudo multicêntrico de fase II, não comparativo, utilizando CTM derivadas de medula óssea halogênica em seres humanos com anemia aplásica, sem resposta à terapia imunossupressora. Houve o auxílio na recuperação da medula óssea e dos parâmetros hematológicos dos pacientes após um ano da realização do tratamento com CTM. Nolta e colaboradores (2002) relatam recuperação da medula e diminuição de linfócitos T. Já Nakao e colaboradores (2010) associaram a melhor recuperação da medula óssea com a maior secreção da quimocina CXCL12 em decorrência da terapia com CTM provenientes de tecido adiposo.

3 | MÉTODO

A realização desse trabalho foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DO UniCEUB (CEUA/UniCEUB), em reunião de 07/12/18 sob o protocolo No: 024/2018.

As CTM foram isoladas e cultivadas a partir de tecido adiposo de um cão doador sadio. Para a coleta do tecido adiposo, o doador foi anestesiado, uma incisão foi feita na região lombar e aproximadamente 20 g de tecido adiposo foram coletados da base da cauda. O tecido adiposo foi lavado em solução salina de fosfato para remover resíduos celulares e sanguíneos, cortado em pequenos pedaços e, depois, exposto à hialuronidase, para passar por uma digestão enzimática. Depois disso, as células passaram por um processo de filtração para iniciar uma seleção das CTM. Posteriormente, as células foram colocadas em frascos de cultura com meio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), e foram incubadas a 37,5°C e 5% de CO₂. Após 24h, o meio foi descartado com as células não aderentes e o meio de cultura fresco foi adicionado aos frascos. O meio foi trocado a cada 3 dias, até as células atingirem 80% de confluência, quando foi realizada tripsinização

para retirar as células das garrafas, contagem na câmara de Neubauer e envase em palhetas (1×10^6 células / palheta) para congelamento com DMSO e soro fetal bovino no nitrogênio líquido. Cinco palhetas (5×10^6 células) foram descongeladas para caracterização das CTMs.

A caracterização das CTM foi realizada de acordo com a International Society for Cell Therapy. As CTM devem ser possuir certas propriedades específicas: serem aderentes ao plástico, expressar marcadores de superfície específicos e capaz de se diferenciar em outros tipos de tecido; analisados por citometria de fluxo no Amnis® Imaging Flow Cytometer. As CTM devem apresentar 95% dos receptores de superfície: CD73, CD90 e CD105 e os fatores de transcrição intranuclear: OCT3.4 e SOX-2; não expressando menos de 2% dos receptores: CD14 ou CD11b, CD19, CD34, CD45, CD79 e MHC classe II. Também devem ser capazes de diferenciar em osteoblastos, adipócitos e condrócitos *in vitro*.

O meio de cultura das células (DMEM) foram analisados por reação em cadeia da polimerase (PCR), em busca de contaminantes ou patógenos (fungos, micoplasma e bactérias). Foi realizado a viabilidade das CTM após o descongelamento, por meio da citometria de fluxo.

Os animais foram encaminhados para a Bio Cell Terapia Celular para realizar o tratamento com CTM para hipoplasia medular. Foram selecionados 6 cães, machos e fêmeas, de raças e idades diferentes, com confirmação de hipoplasia medular e resistentes ao tratamento imunossupressor com anti-inflamatório esteroidal (2mg/quilograma, duas vezes ao dia, por 10 dias). A confirmação da hipoplasia foi realizada por meio da avaliação clínica combinada a exames hematológicos e mielograma, não apresentando qualquer célula neoplásica. A causa primária da hipoplasia nos animais foi: 4 de origem infecciosa, 1 autoimune e 1 medicamentosa. As aplicações de CTM foram realizadas após a confirmação da doença, a descoberta da sua causa.

Para a aplicação das CTM halógenas foram utilizadas as palhetas produzidas pelo laboratório e congeladas com nitrogênio líquido. As CTM foram descongeladas e lavadas utilizando meio de lavagem e suspensas em meio de transporte, produzidos pelo laboratório. A quantidade de células aplicadas foi personalizada para cada animal, de acordo com o peso e gravidade de cada caso. O protocolo utilizado para cada tratamento foi de 3 aplicações de CTM, com 1 a 2×10^6 células por quilograma de peso por meio de soroterapia endovenosa, com intervalo de 21 dias entre cada aplicação. Antes do tratamento os tutores dos animais assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para a terapia com CTM, autorizando a publicação dos resultados obtidos pelo tratamento.

Foi realizado nos dias 1 e 15 após cada aplicação o contato com os tutores por telefone para verificar se houve qualquer reação adversa (febre, apatia e falta de apetite) com o animal. E 21 dias após cada aplicação foi coletado o sangue dos animais para a realização do hemograma completo, para avaliar a resposta do animal ao tratamento de CTM. Todos os dados colhidos foram arquivados no prontuário de cada animal.

Os exames foram tabulados e divididos em 4 fases de acordo com o número das aplicações: fase 0 (antes do tratamento), fase 1 (coletado com 21 dias após a 1ª aplicação), fase 2 (coletado com 21 dias após a 2ª aplicação), fase 3 (coletado com 21 dias após a 3ª aplicação).

Em um dos animais (F) foi possível realizar o mielograma após o tratamento para a comparação da resposta da medula óssea com a análise anterior ao tratamento.

4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o tratamento com CTM, os 6 animais acometidos pela hipoplasia apresentaram uma melhora clínica e melhora nos parâmetros hematológicos avaliados (tabela 1), e 5 animais ainda apresentam um ou mais parâmetros hematológicos abaixo do valor de referência, mas passaram a viver normalmente sem a necessidade de transfusão de sangue ou uso de medicação; com exceção do animal F que ainda necessita realizar as transfusões.

O animal A apresentou melhora nos parâmetros das hemácias, mas as plaquetas ainda continuaram abaixo do valor de referência. O animal B apresentou melhora na quantidade de leucócitos e plaquetas, porém, ainda se mantiveram abaixo dos valores de referência. O animal C apresentou aumento na quantidade das plaquetas, estabilizando após o tratamento acima dos valores de referência. O animal D ainda apresentava pancitopenia após o tratamento, porém, com aumento dos parâmetros próximo do valor de referência. O animal E também apresentou melhora da pancitopenia estabilizando dentro do valor de referência, com exceção dos leucócitos. O animal F necessitou realizar semanalmente transfusões de sangue para se manter estável, não tornando a avaliação dos exames de sangue confiáveis. Sendo utilizado para avaliação da resposta do animal ao tratamento o aumento do intervalo das transfusões, antes semanais para a cada três semanas, e a resposta positiva da medula na comparação do mielograma antes e após o tratamento (imagem 1).

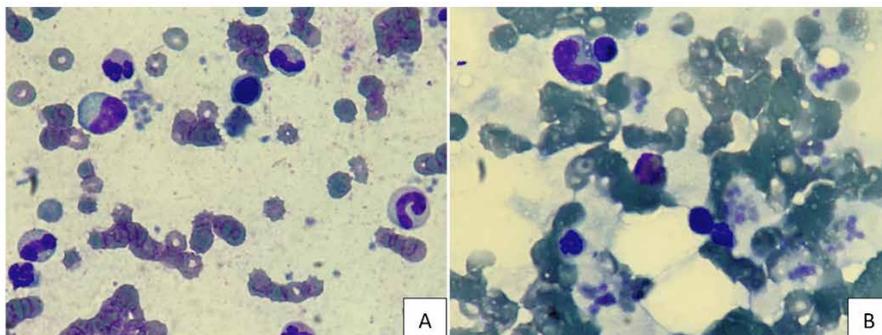


Imagem 1: Mielograma antes (A) e após (B) o tratamento.

Na imagem 1 A: a medula apresentava hiperplasia mielóide discreta, hipoplasia eritróide severa e não sendo possível avaliar a linhagem megacariocítica. B: a medula apresentava as linhagens mielóide e megacariocítica normais, e hipoplasia discreta da linhagem eritróide.

A terapia com as CTM tem a capacidade de apoiar a hematopoese pela secreção dos seus fatores parácrinos (fatores de crescimento e citocinas anti-inflamatórias), os quais tem função de inibir a apoptose, a produção de citocinas pró-inflamatórias, estimular a proliferação, auto renovação, diferenciação, migração e proteção das células-tronco hematopoiéticas. Visto que as CTM possuem propriedades imunomoduladoras, inibem a multiplicação e ativação dos leucócitos (linfócitos T e macrófagos), elas conseguem inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias (IFN- γ e TNF- α) e estimulam a produção de anti-inflamatórias (AQMASHEH et al., 2017; NAUTA; FIBBE, 2007), assim o uso de CTM diminui o dano causado pelas citocinas pró-inflamatórias e auxilia na recuperação da medula.

NAKAO e colaboradores (2010) relatam que CTM oriundas de tecido adiposo são melhores que as da medula óssea para reconstituição do tecido hematopoiético, por secretarem em maior quantidade a CXCL12. A CXCL12 é uma quimiocina abundante na medula óssea necessária para regular o desenvolvimento, a liberação, deslocamento e proteção de várias linhagens de células do sistema imune e células-tronco hematopoiéticas (GRIFFITH; SOKOL; LUSTER, 2014). Segundo ZHANG e colaboradores (2016) a CXCL12 aumenta o potencial de reconstituição do tecido hematopoiético e atua na proteção contra estresse oxidativo (o qual aumenta a apoptose de células, levando à exaustão da célula hematopoiética), sendo uma quimiocina de muita importância por afetar positivamente o meio extracelular da medula óssea e a própria célula-tronco hematopoiética.

Exames	Animal A				Animal B				Animal C				Animal D				Animal E				Animal F				Valor de referência
	Fase 0	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 0	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 0	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 0	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 0	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 0	Fase 1	Fase 2	Fase 3	
Hemácias	2,78	3,04	6,15	6,39	6,43	5	5,33	6,66	6,42	6,77	6,27	6,6	3,61	4,09	5,5	5,42	3,91	5,2	5,3	6	2,07	3,3	3,72	4,23	5,5 a 8,5 u ³
Hemoglobina	5,9	7,4	14,3	14,7	15	12,6	13,6	15,2	16	17,1	15,1	15,1	8,6	9,8	12,5	11,6	10,1	13,1	13,9	14,3	6,2	7,3	8,3	9,9	12 a 18 g/dL
Hematócrito	19,6	27,3	48,7	45,8	48,7	33,6	39,7	49,5	47	49,9	46,2	43	27,8	31,4	38,6	36,4	28	37,7	38,5	40,5	18,6	21,4	24	28,3	37 a 55 %
Volume corpuscular médio (VCM)	70,5	89,9	79,19	71,67	75,74	67,2	74,48	74,32	73,21	73,71	73,68	65,15	77,01	76,77	70,18	67,16	72,4	72,4	72,2	66,7	89,86	65,85	64,52	66,9	60 a 72 fl.
Hemoglobina corpuscular média (HCM)	21,22	24,34	23,25	23	23,33	25,2	25,52	22,82	-	25,26	24,08	-	23,82	23,96	22,73	21,4	-	-	25,9	23,5	-	-	-	-	19 a 23 pg
Concentração de hemoglobina média (CHCM)	30,1	27,11	29,36	32,1	30,8	37,5	34,26	30,71	34,04	34,27	32,68	35	31	31,21	32,38	31,87	35,6	34,6	35,9	35,2	33,33	34,11	34,58	34,98	31 a 37 g/dL
Leucócitos	10.900	9.900	4.300	6.900	1.700	3.300	4.200	3.600	11.600	11.400	4.100	7.300	4.600	3.000	4.500	5.700	1.600	4.160	2.730	3.800	18.300	9.100	16.300	8.500	6000 a 17000 mm ³
Bastonetes	0	198	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	124	81	38	549	0	163	0	0 a 510 mm ³
Segmentados	9.919	8.514	3.354	5.589	1.173	1.518	2.520	2.088	10.788	9.804	2.952	4.526	2.990	2.040	3.510	3.990	1.200	3.702	1.583	3.116	13.542	6.188	14.018	7.395	3600 a 13000 mm ³
Eosinófilos	109	0	86	345	0	0	42	0	0	0	0	292	0	60	0	57	-	0	27	114	0	91	0	85	0 a 1.700 mm ³
Linfócitos	763	1.188	817	621	442	1.782	1.386	1.332	696	1.482	943	1.898	1.150	600	900	1539	300	249	982	456	3843	2.457	1.141	680	720 a 5.100 mm ³
Monócitos	109	0	43	345	0	0	252	180	116	114	205	511	460	300	90	114	-	83	54	76	366	364	978	340	0 a 1.700 mm ³
Plaquetas	79.000	166.000	288.000	29.000	81.000	111.000	95.000	120.000	43.000	328.000	149.000	165.000	110.000	120.000	146.000	136.000	25.000	238.000	180.000	299.000	484.000	311.000	186.000	216.000	150000 a 500000 mm ³

Tabela 1: Hemogramas completos antes, durante e após o tratamento com CTM.

5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo demonstrou que o tratamento com células-tronco mesenquimais oriundas de tecido adiposo auxiliou na recuperação da medula óssea dos seis animais avaliados em decorrência do aumento da produção de células do sangue circulante, observado nos exames de sangue. Dessa forma, essa terapia mostra grande potencial para tratamento de hipoplasias de medula, desde que seja realizada uma correta triagem e acompanhamento dos pacientes para se obter bons resultados.

REFERÊNCIAS

AQMASHEH, S.; SHAMSASANJAN, K.; AKBARZADEHLALEH, P.; SARVAR, D. P.; TIMARI, H. **Effects of Mesenchymal Stem Cell Derivatives on Hematopoiesis and Hematopoietic Stem Cells**. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, v. 7, n. 2, p. 165-177, jun. 2017. DOI: 10.15171/apb.2017.021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5527230/#:~:text=MSCs%20release%20many%20growth%20factors,both%20erythroid%20and%20myeloid%20differentiation>. Acesso em: 10 set. 2020.

COSTA, J. N. R.; GOMES, A. A. D.; SANTOS, C. R. O.; MOROZ, L. R. **Aplasia de medula óssea em cães – Revisão de Literatura**. *Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação*, Ed. 49, v. 3, p. 66-73. 2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/332968155_Aplasia_de_medula_em_caes_-_Revisao_de_literatura_Bone_marrow_in_dogs_-_Literature_review. Acesso em: 10 out. 2020.

BAGBY, G. C.; GOODNIGHT, S. H.; MOONEY, W. M.; RICHERT-BOE, K. **Prednisone-Responsive Aplastic Anemia: A Mechanism of Glucocorticoid Action**. *BLOOD*, v. 54, n. 2, p. 322-333, agosto. 1979. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/313221/>. Acesso em: 25 jul. 2020.

GRIFFITH, J. W.; SOKOL, C. L.; LUSTER, A. D. **Chemokines and Chemokine Receptors: Positioning Cells for Host Defense and Immunity**. *Annual Review of Immunology*, v. 32, p.659-702, mar. 2014. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032713-120145. Acesso em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24655300/>. Acesso em: 09 agosto 2020.

GRIMES, C. N.; FRY, M. M. **Nonregenerative Anemia: Mechanisms of Decreased or Ineffective Erythropoiesis**. *Veterinary Pathology*, v. 52(2), p. 298-311. 2015. DOI: 10.1177/0300985814529315. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24807888/>. Acesso em: 19 set. 2020.

HARCHEK, W. M.; ROUSSEAU, C. G.; WALLIG, M. A. Hematopoietic System in: **Fundamentals of Toxicologic Pathology**. Segunda edição. Academic Press, 2010.

KEARNS, S.; EWING, P. **Causes of Canine and Feline Pancytopenia**. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian -North American Edition*, v. 28, n. 2, p. 122-133, fev. 2006. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/287446723_Causes_of_canine_and_feline_pancytopenia#:~:text=Many%20infectious%2C%20immune%2Dmediated%2C,of%20decreased%20hematopoietic%20cell%20production. Acesso em: 05 out. 2020.

LUCIDI, C. A.; MARCELLO, G. C. G. Abordagem às citopenias. In: JERICÓ, Márcia Marques; ANDRADE NETO, João Pedro; KOGIKA, Márcia Mery (org.). **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. 1. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2014.

MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. **Doenças Infecciosas em animais de produção e de companhia**. 1. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016.

MORAES, L. F.; TAKAHIRA, R. K. **Aplasia Medular em Cães**. Revista de Ciências Agroveterinárias, Lages, v.9, n.1, p. 99-108. 2010. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/140512>. Acesso em: 04 agosto 2020.

NAKAO, N. et al. **Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Facilitate Hematopoiesis in Vitro and in Vivo**. The American Journal of Pathology, v. 177, n. 2, p. 547-554, Aug. 2010. DOI: 10.2353/ajpath.2010.091042. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2913350/>. Acesso em: 15 jun. 2020.

NAUTA, A. J.; FIBBE, W. E. **Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells**. BLOOD, v. 110, n. 10, nov. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2007-02-069716>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30516112/#:~:text=Abstract,innate%20and%20adaptive%20immune%20response>. Acesso em: 19 fev. 2020.

NOLTA, J. A. et al. **The AFT024 stromal cell line supports long-term ex vivo maintenance of engrafting multipotent human hematopoietic progenitors**. Leukemia, v. 16, p. 352–361. 2002. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2402371>. Acesso em: <https://ashpublications.org/blood/article/110/10/3499/23332/Immunomodulatory-properties-of-mesenchymal-stromal>. Acesso em: 08 agosto 2020.

PANG, Yan et al. **Allogeneic Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cells Expanded In Vitro for Treatment of Aplastic Anemia: A Multicenter Phase II Trial**. Stem Cell Research & Therapy, v. 6, n. 7, p. 1569-1575, jul. 2017. DOI: 10.1002/sctm.16-0227 Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5689769/>. Acesso em: 26 set. 2020.

SHIN, S. H.; LEE, S. E.; LEE, J. W. **Recent advances in treatment of aplastic anemia**. The Korean Journal of Internal Medicine, v. 29, n. 6, p. 713-726, set. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.3904/kjim.2014.29.6.713>. Disponível em: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4219959/#:~:text=Allogeneic%20stem%20cell%20transplantation%20\(SCT,an%20alternative%20option%20for%20others](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4219959/#:~:text=Allogeneic%20stem%20cell%20transplantation%20(SCT,an%20alternative%20option%20for%20others). Acesso em: 20 set. 2020.

SPEES, J. L.; LEE, R. H.; GREGORY, C. A. **Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell function**. Stem Cell Research & Therapy, v. 7, n. 125, aug. 2016. DOI: 10.1186/s13287-016-0363-7. Disponível em: <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-016-0363-7>. Acesso em: 12 abril 2020.

SUN, W. et al. **Macrophage TNF- α licenses donor T cells in murine bone marrow failure and can be implicated in human aplastic anemia**. BLOOD, v. 132, n. 26, p. 2730–2743, dec. 2018. DOI: 10.1182/blood-2018-05-844928. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30361263/>. Acesso em: 12 agosto 2020.

ZHANG, Y. et al. **CXCR4/CXCL12 axis counteracts hematopoietic stem cell exhaustion through selective protection against oxidative stress**. Scientific Reports, v. 6, p. 1-13, nov. 2016. DOI: 10.1038/srep37827. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep37827/>. Acesso em: 09 agosto 2020.

TRATAMENTO HOMEOPÁTICO, REABILITAÇÃO E REINTRODUÇÃO À VIDA-LIVRE DE *CARACARA PLANCUS* POLIFRATURADO EM FASE JUVENIL

Data de aceite: 02/08/2021

Data de submissão: 06/05/2021

Julio Cesar Fernandes de Lima

Graduando do Curso de Medicina Veterinária da Universidade do Centro-Oeste Guarapuava – PR
<http://lattes.cnpq.br/1111827966926609>

Thiago Francisco da Costa Solak

Médico Veterinário especialista em medicina de animais selvagens e residente de clínica médica e cirúrgica de animais selvagens na Universidade Estadual do Paraná (Beto Carrero World) Penha-SC
<http://lattes.cnpq.br/1897657380688684>

Milena Lozove Grein da Silva

Graduanda do Curso de Medicina Veterinária da Universidade do Centro-Oeste Guarapuava – PR
<http://lattes.cnpq.br/3730017052748915>

Rodrigo Antonio Martins de Souza

Doutor em zoologia, docente do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Centro-Oeste Guarapuava – PR
<http://lattes.cnpq.br/8542263231718985>

Adriano de Oliveira Torres Carrasco

Doutor em microbiologia, docente do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Centro-Oeste Guarapuava - PR
<http://lattes.cnpq.br/6675057976344577>

RESUMO: Em vista a todos os animais selvagens, as aves são as que, querendo ou não, possuem um contato maior com os humanos. Esse maior contato também se deve ao crescimento urbano e diminuição de seu habitat natural sendo que frequentemente são encontradas feridas por colisões com janelas de residências ou com veículos. No Setor de Atendimento a Animais Selvagens (SAAS) da Universidade Estadual do Centro-oeste é oferecido, principalmente, serviços de reabilitação e reintrodução à natureza para animais que venham ser afetados, diretamente ou indiretamente, por interferências humanas. No presente trabalho é relatado o caso clínico de um filhote de *Caracara plancus* atendido no SAAS apresentando fraturas em epífise distal de fêmur direito, epífise proximal de tibiotarso direito, epífise distal de úmero direito e epífise distal de úmero esquerdo. O animal foi tratado com uma associação de medicação homeopática (*Calendula officinalis* e *Shymphytum officinale*) e alopatia, reabilitado com técnicas de falcoaria e reintroduzido à vida-livre pela equipe veterinária do SAAS após nove meses de internamento e reabilitação.

PALAVRAS-CHAVE: *Caracara plancus*, reabilitação, medicação homeopática.

YOUNG POLYFRACTURED CARACARA PLANCUS'S HOMEOPATHIC TREATMENT, REHABILITATION AND REINTRODUCTION TO WILDLIFE

ABSTRACT: Comparing with all wild animals, the birds are the ones who have bigger contact with humans. This human contact become at most due to urban growth and reduction of birds

natural habitat implying that they are often found injured by collisions with house windows or vehicles. At SAAS, Setor de Atendimento a Animais Selvagens (Wild Animal Care Sector) of UNICENTRO, Universidade Estadual do centro-oeste (Midwestern State University) are offered, mainly, rehabilitation and reintroduction to nature to animals who are affected, directly or indirectly, by human interference. The work presented here is a report of clinical case of *Caracara plancus* assisted at SAAS with fractures in the distal epiphysis of the right femur, proximal epiphysis of the right tibiotarsus, distal epiphysis of the right humerus and distal epiphysis of the left humerus. The animal was treated with an association of homeopathic medication (*Calendula officinalis* e *Shymphytum officinale*) and allopathy, rehabilitated with falconry techniques and reintroduced to free life by the veterinary team of SAAS after nine months of hospitalization.

KEYWORDS: *Caracara plancus*, rehabilitation, homeopathic medication.

1 | INTRODUÇÃO

Devido a crescente urbanização e expansão rural, o contato do ser humano com a fauna e flora silvestre tornam-se cada vez mais frequente. Como consequência disto, o número de incidentes envolvendo os animais selvagens cresceu, da mesma forma que o restante dos impactos ambientais (SERRANO et. al. 2008).

O tráfico de animais silvestres é a 3ª atividade ilegal mais rentável do planeta, e, dentro desse contexto o Brasil é considerado um dos maiores fornecedores de fauna para esse comércio (VIDOLIN, et. al, 2004), trazendo prejuízos a fauna silvestre e ao ecossistema. Segundo o Artigo no. 29 da Lei Federal no. 9.605, de 12/02/1998 (PERES, et. al. 2011), atividades que lesionam o meio ambiente como a caça predatória, comércio sem autorização, impedir a procriação da fauna sem licença, entre outros, requerem mediadas legais e administrativas.

O Serviço de Atendimento a Animais Selvagens (SAAS) da Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná (Unicentro-PR) é um dos variados serviços prestados pela Clínica Escola Veterinária Prof. Dr. Marcos Vinícius Tranquilim (CEVET), que está localizada no município de Guarapuava-PR nas dependências do campus Cedeteg da Unicentro. O SAAS é vinculado a diversos projetos e programas de extensão e pesquisa, entre eles o Programa de Extensão Saúde Única: A Integração da Saúde Animal, Humana e Ambiental e o Projeto de Extensão Medicina, Manejo e Atendimento a Animais Selvagens Encaminhados pela Polícia Ambiental do Paraná (Força Verde), Secretaria de Saúde do Estado do Paraná (SESA) e pelo Instituto Ambiental do Paraná (IAP).

O SAAS presta atendimento veterinário a animais silvestres oriundos de resgates e/ou apreensões que são realizadas pelos órgãos ambientais competentes em Guarapuava e região, entre eles: Instituto Água e Terra do Paraná (IAT), Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), Batalhão de Polícia Militar Ambiental do Paraná (BPAmb) e secretarias municipais de meio ambiente.

Além dos atendimentos à animais silvestres e consultoria aos órgãos ambientais, o SAAS vinculado aos outros serviços da CEVET também realiza consultas e outros procedimentos veterinários como cirurgias, internamentos e exames laboratoriais e de imagem em animais de estimação não convencionais, devidamente legalizados.

O SAAS tem como papel principal reabilitar os animais impactados pela interferência humana no meio ambiente, tanto diretamente, como por meio da caça e comércio, quanto indiretamente, com a expansão urbana e perda de habitat.

O número total de espécies conhecidas no Brasil varia entre 170 e 210 mil, sendo 103-134 mil animais e 43-49 mil, plantas. São inúmeros os fatores que ocasionam prejuízos à fauna silvestre, sendo muitos deles de caráter irreversível. A busca de desenvolvimento econômico, por meio industrial, agrícola ou florestal está entre os principais fatores de pressão sobre as áreas naturais, e conseqüentemente sobre as espécies da fauna (VIDOLIN, 2004).

Da família Falconidae, o *Caracara plancus* é uma espécie de ave que possui dieta variada, acompanhada de diversas táticas alimentares (SAZIMA, 2007). É um dos rapinantes mais comuns no Brasil, com ampla distribuição geográfica, medindo cerca de 56 cm da cabeça a cauda e 123 cm de envergadura. Por ser um carnívoro oportunista, provavelmente é um dos rapinantes mais bem-sucedidos. Possui um papel fundamental no controle populacional de pequenos animais como roedores, alimentando-se de invertebrados, vertebrados, restos de alimentos de outros animais, carcaças e até mesmo lixo urbano (SICK, 2001). É uma das aves de rapina mais atendidas pelo SAAS e o foco principal desta discussão.

Este trabalho visa relatar um caso clínico de um filhote de *Caracara plancus* que foi atendido no SAAS apresentando sinais de fraturas ao exame físico em membro pélvico direito e asa esquerda. O paciente em questão foi submetido a exames radiográficos para confirmação diagnóstica, foi tratado com uma associação de medicamento homeopático e alopátia, reabilitado com técnicas de falcoaria e reintroduzido à vida-livre pela equipe veterinária do SAAS após nove meses de internamento e reabilitação.

2 | METODOLOGIA

Foi atendido no SAAS no dia 14 de setembro de 2019 um filhote de *Caracara plancus* de aproximadamente 45 dias de idade, encaminhado pelo Batalhão de Polícia Ambiental do Paraná (BPAmb). O falcão havia sido encontrado na beira de uma estrada (BR-277) e foi resgatado por civis que transitavam no local. Após ser entregue à BPAmb o animal foi imediatamente recebido no SAAS para o devido atendimento veterinário.

Ao exame clínico, notou-se presença de criptação, hematomas e desvio ósseo no membro pélvico direito e asa esquerda em regiões articulares. Por se tratar de um filhote, levantou-se a suspeita de fraturas em linhas de crescimento (Sater-Harris). O

animal apresentava desconforto ao toque das regiões citadas, sendo assim, o mesmo foi encaminhado ao Serviço de Diagnóstico por Imagem da CEVET para a realização do exame radiográfico com o intuito de confirmar a suspeita clínica e investigar outras possíveis lesões em sistema locomotor.

Foram realizadas cinco incidências radiográficas, sendo essas: duas médio-dorsais (uma focando nos membros pélvicos e outra nas asas), duas médio-laterais (uma em cada antímero) e uma latero-lateral. A partir das radiografias foi possível visibilizar as fraturas em epífise distal de fêmur direito, epífise proximal de tibiotarso direito, epífise distal de úmero direito e epífise distal de úmero esquerdo, entretanto, não foram encontradas fraturas bem definidas em linhas de crescimento apesar da proximidade topográfica das lesões.

Logo após a conclusão diagnóstica iniciou-se o tratamento homeopático com a associação de *Calendula officinalis* CH18 e *Shymphytum officinale* CH18 que foram administrados pela via oral, cinco gotas a cada oito horas durante 30 dias consecutivos (três vezes ao dia), juntamente com a alimentação que consistia variavelmente em roedores inteiros recém abatidos, fígado bovino, peito de frango e carne moída bovina, sempre suplementados com carbonato de cálcio e solução de Ringer. Não foram realizados procedimentos cirúrgicos nem anestésicos ao decorrer deste caso. O animal recebeu suporte analgésico com Cloridrato de Tramadol a cada 12 horas (CARPENTER, 2018) nos primeiros 3 dias de internamento e após isso, a manutenção analgésica foi realizada apenas com a associação homeopática supracitada.

Também foram confeccionadas bandagens para imobilização dos membros fraturados. Por se tratar de um filhote e, portanto, estar em desenvolvimento corporal acelerado, as bandagens foram mantidas durante 15 dias, após esse período o paciente permaneceu sem bandagens porém com restrição de movimentos por mais 15 dias consecutivos.

Com um mês de internamento o animal foi introduzido em um recinto de voo com outros dois carcarás (adultos), para que desenvolvesse seus comportamentos naturais como caça, voo, pouso, empoleiramento e relacionamento com indivíduos da mesma espécie.

No dia 12 de novembro de 2019 iniciaram-se os treinamentos de voo e pouso com técnicas de falcoaria, utilizando-se: luvas de raspa de couro (equipamento de proteção individual para o treinador), tarseiras, jesses de atrelamento e fiador. Os treinamentos eram realizados em áreas de campo aberto próximas a CEVET, com equipes de três a sete pessoas incluindo veterinários(as), estagiários(as) e alunos(as) da CEVET. Ao total foram realizadas dez sessões de treinamento e no dia 12 de junho de 2020 o animal foi reintroduzido à natureza, nove meses após o atendimento inicial.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A utilização da associação homeopática de *Calendula officinalis* CH18 e *Shymphytum officinale* CH18 neste caso clínico, mostrou-se eficiente no controle da dor e como suporte cicatricial e anti-inflamatório, em associação analgésica com o Cloridrato de Tramadol, que foi utilizado nos três primeiros dias de tratamento. Segundo Oliveira (2016), o uso de *Calendula officinalis* homeopática e Quitosana na cicatrização de feridas cutâneas em ratas diabéticas promoveu o recrutamento de células polimorfonucleares e mononucleares, formação de tecido conjuntivo denso espesso e organizado ao final de 14 dias sendo que o uso da calêndula se mostrou superior ao da Quitosana também utilizada no estudo (OLIVEIRA, 2016).

As técnicas de falcoaria (SANTOS, C. B. T. et. al. 2017) empregadas neste caso se mostraram eficazes como método de reabilitação pois ao decorrer dos treinamentos, notou-se uma melhora na noção de voo, na distância alcançada e na qualidade de pouso. As sessões não estimularam o amansamento/domesticação do animal, mantendo seu instinto selvagem. Após a reintegração à natureza, foi feito o monitoramento no local de soltura durante 15 dias, observando o animal à distância, concluindo-se que o mesmo apresentava bom escore corporal e manteve as atividades essenciais como voo, caça e fuga de seres humanos.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A destruição e a fragmentação do ambiente natural causadas pela urbanização resultam, de maneira geral, em prejuízos para a fauna silvestre, incluindo a perda definitiva de hábitat levando a um contato maior entre os seres humanos e demais animais. Esse contato muitas vezes resulta em atropelamentos, “invasão” de propriedades rurais onde antes eram o ambiente do animal, amansamento por parte do oferecimento de alimentos e desequilíbrio na cadeia alimentar. A reabilitação e reintegração do animal no seu hábitat é estruturalmente uma parte de um processo, onde com o passar dos tempos, a humanidade criou com sua expansão e urbanização sendo nosso dever ajudar e proteger fauna e flora nativa para um bom equilíbrio e manutenção da vida silvestre.

AGRADECIMENTOS

Em agradecimento ao professor Dr Rodrigo Antonio Martins de Souza pela oportunidade de estágio no SAAS. Ao professor Dr Adriano de Oliveira Torres Carrasco, meu orientador do presente trabalho, pelo o oferecimento da bolsa de extensão em conjunto com o estágio voluntário no SAAS. Em agradecimento pelos conhecimentos passados a mim pelo residente Thiago Francisco da Costa Solak durante o período de estágio.

REFERÊNCIAS

CARPENTER, J. W. **Exotic Animal Formulary**. 5ª edição, Missouri: Elsevier, 2018.

OLIVEIRA, H. S.; SOUZA, D. R. A.; SILVA, M. N. da; **Etograma do Carcará**. *Rev. etol.* [online]. vol.13, n.2, pp. 1-9. 2014.

OLIVEIRA, L. M. **Ação da *calêndula officinalis* 6 CH e spray de quitosana na cicatrização de feridas cutâneas em ratos diabéticos**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade de Goiás, Goiânia, 2016.

SANTOS, C. B. T.; ULLONY, K. M. et. al. **Falcoaria, conservação e reabilitação de aves de rapina**. X Mostra Científica FAMEZ / UFMS, Campo Grande, 2017.

SAZIMA, I. **The jack-of-all-trades raptor: versatile foraging and wide trophic role of the Southern Caracara (*Caracara plancus*) in Brazil, with comments on feeding habits of the Caracariní**. *Revista Brasileira de Ornitologia*, 15(4), 592-597. 2007.

SERRANO, L.; BARBIERI, A. F.; **Meio ambiente e desenvolvimento sustentável no Brasil: uma descrição de indicadores de sustentabilidade ambiental aplicáveis à realidade brasileira**. XVI Encontro Nacional de Estudos Populacionais, Caxambu- MG, 2008.

SICK, H. **Ornitologia brasileira**. Rio de Janeiro, RJ: Nova Fronteira. 2001.

CAPÍTULO 13

TRATAMENTO TÓPICO CONTRA *Sarcoptes scabiei* EM *DIDELPHIS AURITA* COM EXTRATO AQUOSO DE PRÓPOLIS VERDE

Data de aceite: 02/08/2021

Data de submissão: 21/05/2021

Paula Velozo Leal

Docente no Departamento de Anatomia,
Patologia e Clínicas – UFBA
<http://lattes.cnpq.br/9326236207164636>

Yasmin Stangl Von Czekus

Discente do curso de Medicina Veterinária da
Universidade Federal da Bahia
<http://lattes.cnpq.br/0146045552920490>

Julia Hasselmann Barros

Discente do curso de Medicina Veterinária da
Universidade Federal da Bahia
<http://lattes.cnpq.br/6045561083836580>

Mylena Katarina Marques Vitória

Discente do curso de Medicina Veterinária da
Universidade Federal da Bahia
<http://lattes.cnpq.br/9714470991018893>

Marilaine Carlos de Sousa

Residente em Patologia Veterinária do
Laboratório de Patologia Veterinária da
Universidade Federal da Bahia
<http://lattes.cnpq.br/7124573905150791>

Tiago da Cunha Peixoto

Docente no Departamento de Anatomia,
Patologia e Clínicas – UFBA
<http://lattes.cnpq.br/2092167505993680>

Kathleen Ramos Deegan

Técnica do Hospital de Medicina Veterinária
(HOSPMEV) – UFBA
<http://lattes.cnpq.br/6726126502060359>

Leane Souza Queiroz Gondim

Técnica do Hospital de Medicina Veterinária
(HOSPMEV) - UFBA
<http://lattes.cnpq.br/9765528205049653>

RESUMO: A escabiose é uma ectoparasitose dermatológica comum em animais selvagens e de companhia. A resistência *in vitro* e o tratamento refratário à ivermectina já são relatados. Um filhote de gambá-de-orelhas-pretas, recebido pelo Setor de Animais Silvestres e Exóticos do Hospital Veterinário Professor Renato Rodenburg de Medeiros Neto, foi laboratorialmente diagnosticado com sarna sarcóptica e tratado com Ivermectina. Após sete dias o animal não havia apresentado melhora clínica e continuava positivo ao exame parasitológico de pele. Tratamento tópico alternativo com extrato aquoso de própolis verde foi realizado durante sete dias, com duas aplicações diárias, mostrando-se eficaz na eliminação do parasito e melhora do quadro clínico do animal.

PALAVRAS-CHAVE: Gambá-de-orelhas-pretas; Sarna sacóptica; Resistência à Ivermectina; Opoterapia.

TOPICAL TREATMENT AGAINST *Sarcoptes scabiei* IN *DIDELPHIS AURITA* WITH GREEN PROPOLIS AQUEOUS EXTRACT

ABSTRACT: Scabies is a common dermatological ectoparasitosis in wild and domestic animals. Refractory treatment to ivermectin and *in vitro* resistance already have been reported. The Wild

and Exotic Animal Sector of the Veterinary Hospital Professor Renato Rodenburg de Medeiros Neto received a black-eared opossum (*Didelphis aurita*) joey, it was laboratory diagnosed with sarcoptic mange and treated with Ivermectin. After seven days, the animal had not shown clinical improvement and was still positive on the parasitological skin exam. Alternative topical treatment with aqueous green propolis extract was then started and carried for seven days, with two daily applications, proving to be effective, eliminating the parasite and improving the animal's clinical condition.

KEYWORDS: Black-eared Opossum; Scabies; Resistance to Ivermectin; Opothrapy.

1 | INTRODUÇÃO

Pertencente a infraclasse dos marsupiais, o gambá-de-orelhas-pretas (*Didelphis aurita*), é um animal de pequeno porte que possui hábitos noturnos, solitários, e de grande adaptabilidade, que devido à perda de seu habitat natural vem sendo encontrado cada vez mais em grandes centros urbanos (BONVICINO, OLIVEIRA, 2011).

A Sarna sarcóptica, também conhecida como escabiose, é uma dermatose com grande potencial zoonótico, distribuição cosmopolita e altamente contagiosa (BANDI, SAIKUMAR, 2013; SKERRATT, MARTIN, HANDASYDE, 2008). O agente etiológico, ácaro da espécie *Sarcoptes scabiei*, parasita obrigatório da epiderme, possui o comportamento alimentar escavatório durante as fases de ninfa e larva, o que leva a reações de prurido, hipersensibilidade, hiperqueratose, inflamação, alopecia e seborreia intensa (METWALLY et al., 2018; BANDI, SAIKUMAR, 2013).

A patogênese e os sinais clínicos variam com o estado imunológico do hospedeiro, podendo evoluir para o óbito em casos onde há imunossupressão ou anorexia (PENCE, UECKERMANN, 2002). Em estudo realizado na cidade de São Paulo, Castro et al. (2005) relataram uma casuística média de 120 casos da doença por ano em animais domésticos.

A sarna sarcóptica foi descrita também, em animais selvagens de vida livre, como raposas (*Vulpes macrotis*) nos Estados Unidos (CYPHER et al., 2017), vombates (*Vombatus ursinus*) e coalas (*Phascolarctos cinereus*) na Austrália (SKERRATT, MARTIN, HANDASYDE, 2008; PENCE, UECKERMANN, 2002), e em cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) e cachorros-vinagre (*Speothos Venaticus*) no Brasil (JORGE, R. S. P.; LIMA, E. S.; LUCARTS, L. E. B, 2008; TEODORO et al., 2018).

A Ivermectina é um fármaco utilizado em larga escala desde sua comprovação antiparasitária, e foi considerada uma das drogas mais confiáveis para uso contra ectoparasitas e endoparasitas (TERADA et al., 2010). Como consequência deste uso extensivo, diversos casos de desenvolvimento de resistência vêm sendo reportados, tanto em animais de produção, onde era usado no controle de helmintos e como carrapaticida (XU et al., 1998; BENAVIDES, ROMERO, 2000), quanto em animais de companhia (TERADA et al., 2010; METWALLY et al., 2018), e até em seres humanos (CURRIE et al., 2004).

A escabiose é descrita como doença de difícil erradicação em coelhos, podendo

se apresentar refratários ao tratamento usual, onde maior sucesso é obtido em casos em que há associação de fármacos acaricidas, o que pode gerar diversos efeitos colaterais no animal (CURRIE et al., 2004; METWALLY et al., 2018). Neste contexto, tratamentos alternativos precisam ser pesquisados, visando maior eficácia.

A própolis é um produto apícola balsâmico e resinoso produzido a partir da coleta de exsudatos de diferentes tecidos de plantas, com adição de secreções salivares e cera de abelhas, e vem sendo utilizada desde a antiguidade na medicina popular, tanto humana quanto veterinária, devido as suas propriedades terapêuticas. Os relatos mais antigos datam do Egito, onde era utilizada para embalsamar cadáveres devido a seu efeito anti-putrefativo, passando pelos Gregos, Romanos e Incas como cicatrizante e antipirético, até a Segunda Guerra Mundial, quando foi empregado em diversas clínicas na União Soviética, como antimicrobiano e antisséptico (BRASIL, 2001; DE SOUZA et al., 2013).

Com mais de 300 constituintes já identificados e/ou caracterizados, a própolis tem-se mostrado um importante aliado no controle de microrganismos (ANDRADE et al., 2017; MACHADO et al., 2016). Os compostos voláteis da própolis, que são definidos como compostos fenólicos agem em diferentes processos fisiológicos, atuando na ação e absorção de vitaminas, nos processos de cicatrização, como antioxidantes e exercendo função antimicrobiana, moduladora do sistema imune e processo inflamatório (SILVA et al., 2017). Estes também são responsáveis pelo seu aroma específico e por suas atividades biológicas e farmacológicas, dentre elas, destacam-se as antivirais, antibacterianas (especialmente em bactérias Gram positivas), antifúngicas, antiparasitárias, anti-inflamatórias, cicatrizantes inclusive em úlceras crônicas de diferentes etiologias, (vasculares, diabéticas e por pressão) e feridas oncológicas (NETÍKOVÁ et al., 2013; FRANCHIN et al., 2016; SILVA et al., 2017; DE SOUZA et al., 2013; PEREIRA FILHO, BICALHO, SILVA, 2012). Estudos *in vivo* em diversos modelos de feridas sugerem o papel benéfico da própolis na cicatrização experimental, atuando como agente antimicrobiano, reduzindo a formação de biofilme e desta forma acelerando o processo cicatricial (METWALLY et al., 2018).

Dentre os 13 tipos catalogados de própolis brasileiras, uma das mais popularmente estudada é a verde, proveniente de um arbusto da família Asteracea, a *Baccharis dracunculifolia* (alecrim-do-campo). Como compostos de interesse destacam-se os sesquiterpenos, benzofuranos, derivados prenilados, derivados do ácido cinâmico, flavonoides e ácido benzoico (MACHADO et al., 2016; ANDRADE et al., 2017).

A ação de extrato de própolis contra a escabiose resistente à ivermectina já foi relatada em coelhos (METWALLY et al., 2018). Neste contexto, o objetivo com este trabalho é relatar o sucesso terapêutico do uso do extrato de própolis verde para tratamento de sarna sarcóptica, refratária à ivermectina, em um gambá-de-orelhas-pretas (*Didelphis aurita*).

21 RELATO DE CASO

Filhote de gambá-de-orelhas-pretas (*Didelphis aurita*) foi encaminhado pelo Centro de Triagem de Animais Selvagens Chico Mendes de Salvador – CETAS/IBAMA, ao Setor de Animais Silvestres e Exóticos do Hospital Veterinário Professor Renato Rodenburg de Medeiros Neto da UFBA. Durante o exame físico foi observada avulsão do olho esquerdo, notável inflamação do olho direito e laceração com perda do terço final da cauda. Após tratamento para as afecções oculares e do ferimento na cauda, notou-se que o animal apresentava hiperqueratose, com crostas espalhadas pelo corpo, prurido intenso e alopecia, suspeitou-se então de dermatose causada por sarna (Figura 1). A observação em microscopia óptica de raspado cutâneo profundo revelou a presença de diversos ácaros da espécie *Sarcoptes scabiei*, confirmando o diagnóstico de escabiose (Figura 2).



Figura 1: Filhote de *Didelphis aurita* após atendimento inicial. Figura 2: *Sarcoptes scabiei* em lâmina de raspado cutâneo. 400x.

Como tratamento inicial, foi utilizado antiparasitário Ivermectina, por via subcutânea na dose de 0,2 mg/Kg, como preconizado no Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária (CUBAS et al., 2014). Após sete dias da aplicação do fármaco, o animal não apresentou melhora do quadro clínico (Figura 3). Um novo exame parasitológico de pele constatou novamente a presença de ácaros *S. scabiei*, em amostra de raspado da epiderme. Iniciou-se, como alternativa, o tratamento com extrato aquoso de própolis verde de concentração 13% (p/v) da marca Apis Flora®. O composto foi administrado de forma tópica, duas vezes ao dia, por toda a extensão do corpo do animal. Ao quinto dia de tratamento o animal apresentou melhora significativa do quadro clínico, com ausência de prurido. Após sete dias de administração do extrato, o tratamento foi interrompido. Após dois dias de intervalo, novo raspado de pele foi coletado de diversos sítios e não foi observado nenhum espécime do ácaro *S. scabiei*. O tratamento com o extrato de própolis foi continuado por mais uma semana. Após três meses de observação, o animal não apresentou reincidência da afecção e recuperou aspecto saudável da pele e pelagem (Figura 4).



Figura 3: Filhote de *Didelphis aurita* no início do tratamento com a própolis. Figura 4: Filhote de *Didelphis aurita* duas semanas após o fim do tratamento com a própolis.

3 | DISCUSSÃO

Cada vez mais as ações antrópicas vêm modificando os fatores relacionados no processo entre hospedeiro e parasito, de modo que o desmatamento, a expansão da agricultura e pecuária próximas a áreas de mata, além do crescimento exponencial dos centros urbanos, vem trazendo de forma alarmante um contato não apenas com animais que antes eram exclusivamente selvagens, mas também com seus respectivos patógenos. Estes fatores predisponentes contribuem não apenas para alteração na dinâmica dos vetores, mas também facilitam o surgimento de novos hospedeiros e reservatórios de patógenos zoonóticos (CUBAS et al., 2014).

Desta forma, é importante ressaltar a relevância dos gambás para o ciclo epidemiológico de algumas doenças, pois ao albergarem alguns ectoparasitas, como os ácaros da sarna sarcóptica por exemplo, eles podem atuar como fonte de infecção, disseminando assim os agentes para outros hospedeiros como animais domésticos ou até ao ser humano (CUBAS et al., 2014; PENCE, UECKERMANN, 2002).

Apesar do status dos Didelphídeos de acordo com a IUCN seja considerado pouco preocupante, e a perda de alguns indivíduos para a escabiose não impacte na população geral, Pence e E. Ueckermann (2002) afirmaram que para populações ameaçadas ou de frágil equilíbrio, onde morte de poucos animais pode ser crítica para a perpetuação da espécie, esta patologia pode representar uma grave ameaça.

Embora o mecanismo de resistência da Ivermectina em *S. scabiei* não tenha sido completamente elucidado, estudos indicam que isso pode estar relacionado a seu uso indiscriminado e tratamentos consecutivos. Casos de nematódeos intestinais resistentes à Ivermectina em cavalos e ruminantes têm sido amplamente relatados, e supõe-se que haja relação ao uso de forma repetida do fármaco (SHOOP, 1993; STONEHAM, COLES, 2006). Além disso alguns experimentos demonstraram que essa resistência pode ser induzida após exposição intensa em moscas de chifre (BYFORD et al., 1999), moscas de frutas (KANE et al., 2000), bem como em carrapatos da espécie *Rhipicephalus (Boophilus)*

microplus (BENAVIDES, ROMERO, 2000).

Para comprovação da resistência de fato do *Sarcoptes scabiei* frente a Ivermectina também seriam necessários estudos *in vitro* e demonstração de alterações genéticas dos ácaros. De acordo com Terada e colaboradores (2010), o teste de Resistência *in vitro* pode ser realizado por avaliação do tempo de sobrevivência dos ácaros inoculados com Ivermectina fora do hospedeiro, porém o sistema de cultura exige condições específicas, como umidade e temperatura, para comparar a taxa de sobrevivência, e os autores não foram capazes de realizar um ensaio apropriado.

Outro fator limitante da Ivermectina são seus efeitos deletérios neurotóxicos, já postulados por Bangert e Hasbun (2019), onde foi demonstrado que ao contrário do que era descrito anteriormente, apesar de incomum, a droga pode causar cefaleia, ataxia, convulsões, perda de consciência e coma, em humanos. Além de efeitos hepatotóxicos, onde a Ivermectina em altas doses induziu apoptose em hepatócitos de ratos e aumento do estresse oxidativo (ZHU et al., 2013).

Currie e McCarthy em 2010 afirmaram que a dose única de Ivermectina é letal apenas para as fases adultas e larvais dos ácaros da sarna sarcóptica, não atingindo os ovos, sendo assim necessária mais de uma aplicação para eliminação de todos os parasitas. Esta necessidade de redosagem pode amplificar os efeitos tóxicos da droga no organismo, por outro lado a não redosagem pode fazer com que os parasitas remanescentes entrem em contato com uma quantidade residual do fármaco podendo assim induzir processos de resistência.

A poluição ambiental gerada pela Ivermectina também deve ser levada em consideração já que seus resíduos podem atingir o solo e a água, uma vez que o fármaco é excretado pelos animais de produção com seu princípio ativo relativamente inalterado, cerca de 80 a 98% da dose inicial administrada pode ser encontrada nas fezes desses animais (Domingues et al., 2016). Os resíduos da Ivermectina também podem ser encontrados no leite de bovinos mesmo após 28 dias de aplicação, apesar de em sua maioria, em quantidades aceitas pelo Ministério da Agricultura (LOBATO, RATH, REYES, 2006).

Todos estes fatores restritivos reforçam a necessidade da prospecção de medicamentos mais eficazes e seguros de forma que o uso de produtos naturais como a própolis, pode reduzir o desenvolvimento da resistência farmacológica, além de atingir somente a espécie alvo, ser biodegradável, não causar poluição ambiental e reduzir os resíduos excretados. Além disso, o consumidor tem se tornado cada vez mais exigente quanto a qualidade e a procedência de seus alimentos, dando preferência aos mais naturais (HEINZEN et al., 2012).

A própolis configura-se numa alternativa viável também no âmbito de eficácia, como descrito por Heinzen e colaboradores (2012) onde o produto apícola foi utilizado com sucesso no controle de helmintoses em bezerros, em Ferreira et al., onde foi avaliado sua aplicabilidade contra carrapatos da espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, e em

Metwally et al. (2018), contra sarna sarcóptica refratária a Ivermectina em coelhos. Além de seu uso na medicina humana como antimicrobiana, antisséptica e no auxílio da cicatrização de feridas de pacientes oncológicos e com lesões ulceradas crônicas (SILVA et al., 2017; PEREIRA FILHO, BICALHO, SILVA, 2012; DE SOUZA et al., 2013). Aliado a seu custo reduzido, ausência de efeitos colaterais (METWALLY et al., 2018) e facilidade de obtenção e utilização que tornam da própolis uma opção extremamente interessante.

4 | CONCLUSÃO

A própolis demonstrou efeito contra diversos patógenos *in vitro*, apesar deste efeito ser dose dependente. Porém, estudos *in vivo* são escassos, permanecendo uma grande lacuna a ser preenchida, não apenas em relação a outras espécies e outras vias de administração, como também em relação a definições dos patógenos que podem ser susceptíveis ao produto. O extrato aquoso de própolis verde se mostrou eficaz no tratamento tópico da sarna sarcóptica em gambá-de-orelhas-pretas. Desenvolver esquemas terapêuticos com a própolis na clínica de animais selvagens, com determinação de dosagem efetiva e elucidação dos mecanismos de ação envolvidos, são desafios que inspiram mais estudos na área.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, J. K. S.; DENADAI, M.; DE OLIVEIRA, C. S.; NUNES, M. L.; NARAIN, N. Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. **Food Research International**. v. 101, p. 129-38, 2017.

BANDI, K. M.; SAIKUMAR, C. Sarcoptic mange: a zoonotic ectoparasitic skin disease. **Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR**, v. 7, n. 1, p. 156, 2013.

BANGERT, M. K.; HASBUN, R. Neurological and Psychiatric Adverse Effects of Antimicrobials. **CNS drugs**, p. 1-27, 2019.

BENAVIDES, E; ROMERO, A. Preliminary results of a larval resistance test to ivermectins using *Boophilus microplus* reference strains. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 916, n. 1, p. 610-612, 2000.

BRASIL 2001. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº3 – Anexo VI – Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 19 Jan. 2001.

BYFORD, R. L.; CRAIG, M. E.; DEROUEN, S. M.; KIMBALL M. D.; MORRISON, D. G.; WYATT, W. E.; FOIL, L. D. Influence of permethrin, diazinon and ivermectin treatments on insecticide resistance in the horn fly (Diptera: Muscidae). **International journal for parasitology**, v. 29, n. 1, p. 125-135, 1999.

CASTRO, R. D. C. C.; LUCARTS, L. E. B.; DELAYTE, E. H.; OTSUKA, M.; GERMANO, P. M. L.; LARSSON, C. E. Levantamento retrospectivo de casos de escabiose canina e felina, atendidos na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no período compreendido entre 1984 e 2002. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 42, n. 2, p. 135-142, 2005.

CYPHER B. L.; RUDD J. L.; WESTALL T. L.; WOODS L. W.; STEPHENSON N.; FOLEY J. E. Sarcoptic Mange In Endangered Kit Foxes (*Vulpes macrotis mutica*): Case Histories, Diagnoses, And Implications For Conservation. **Journal of Wildlife Diseases**. Vol. 53, No. 1, pp. 46-53, 2017.

CURRIE, B. J.; HARUMAL, P.; MCKINNON, M.; WALTON, S. F. First Documentation of In Vivo and in Vitro Ivermectin Resistance in *Sarcoptes scabiei*, **Clinical Infectious Diseases**. v. 39, n. 1, p. e8–e12, 2004.

CURRIE, B. J.; MCCARTHY, J. S. Permethrin and ivermectin for scabies. **New England Journal of Medicine**, v. 362, n. 8, p. 717-725, 2010.

DE SOUZA, FRANCINE BRETANHA RIBEIRO; FISCHER, GEFERSON; VARGAS, GILBERTO D.ÁVILA. Efeito antimicrobiano da própolis contra agentes infecciosos de interesse veterinário. **Science and animal health**, v. 1, n. 1, p. 24-37, 2013.

DOMINGUES, I.; OLIVEIRA, R.; SOARES, A. M. V. M.; AMORIM, M. J. B. Effects of ivermectin on Danio rerio: a multiple endpoint approach: behaviour, weight and subcellular markers. **Ecotoxicology**, v. 25, n. 3, p. 491-499, 2016.

FERREIRA, F. B. P.; PEREIRA, M. F.; VIANA, R. V.; FERARRESE, L.; CERQUETANI, J. A.; ALBERTON, O.; PASCOTTO, C. R.; GAZIM, Z. C. Avaliação in vitro do extrato alcoólico da própolis para o controle do Rhipicephalus (Boophilus) microplus. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 16, n. 2, p. 107-112, jul./dez. 2013

FRANCHIN, M.; COLÓN, D. F.; DA CNHA, T. M.; CASTANHEIRA, F. V. S.; SARAIVA, A. L. L.; SILVA, B. B.; ALENCAR, S. M.; CUNHA, T. M.; ROSALEN, P. L. Neovestitol, an isoflavonoid isolated from Brazilian red propolis, reduces acute and chronic inflammation: involvement of nitric oxide and IL-6. **Scientific Reports**. v. 6, n. 3640, 2016

HEINZEN, E. L.; PEIXOTO, E. C. T. M.; JARDIM, J. G.; GARCIA, R. C., OLIVEIRA; N. T. E.; DE OLIVEIRA ORSI, R. Extrato de própolis no controle de helmintoses em bezerros. **Acta Veterinaria Brasileira**, v. 6, n. 1, p. 40-44, 2012.

International Union for Conservation of Nature's Red List of Threatened Species, 2020. Página inicial. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 29 de abril de 2020.

JORGE, R. S. P.; LIMA, E. S.; LUCARTS, L. E. B. Sarna sarcóptica ameaçando cachorros-vinagres (*Speothos venaticus*) de vida livre em Nova Xavantina-MT. In: Proceedings of the Annual Meeting of the Brazilian Society of Zoos (SZB),. Available at <http://www.szb.org.br/>[verified 15 December 2010]. 2008.

KANE, N. S.; HIRSCHBERG, B.; QIAN, S.; HUNT, D.; THOMAS, B.; BROCHU, R.; COHEN, C. J. Drug-resistant *Drosophila* indicate glutamate-gated chloride channels are targets for the antiparasitics nodulisporic acid and ivermectin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 25, p. 13949-13954, 2000.

LOBATO, V.; RATH, S.; REYES, F. G. R. Occurrence of ivermectin in bovine milk from the Brazilian retail market. **Food additives and contaminants**, v. 23, n. 7, p. 668-673, 2006.

MACHADO B. A. S.; SILVA, R. P. D.; BARRETO, G. A.; COSTA, S. S.; SILVA, D. F.; BRANDÃO, H. N.; et al. Chemical Composition and Biological Activity of Extracts Obtained by Supercritical Extraction and Ethanolic Extraction of Brown, Green and Red Propolis Derived from Different Geographic Regions in Brazil. **PLoS One**. v. 11, n. 1, 2016.

MARVULO, M.F.V.; DE CARVALHO, V.M. Zoonoses. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens: Medicina Veterinária**. 2.ed. São Paulo: Editora GEN/Roca, 2014. p. 2411-2425.

METWALLY, D. M., AL-OLAYAN, E. M., ALSHALHOOP, R. A., EISA, S. A. Biomarkers as Predictive Tools to Test the in Vivo Anti-Sarcoptic Mange Activity of Propolis in Naturally Infested Rabbits. **Bioscience Reports**. v. 38, n. 6, 2018.

NASCIMENTO, C.C.; HORTA, M.C. Didelphimorphia – (Gambá, Cuíca). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens: Medicina Veterinária**. 2.ed. São Paulo: Editora GEN/Roca, 2014. p. 761-788.

NETÍKOVÁ, L.; BOGUSCH, P.; HENEBERG, P. Czech Ethanol-Free Propolis Extract Displays Inhibitory Activity against a Broad Spectrum of Bacterial and Fungal Pathogenes. **Journal of Food Science**. v. 78, n. 9, p. 1421-9, 2013.

OLIVEIRA, J.A.; BONVICINO, C.R. Ordem Didelphimorphia. In: ROSSI, R.V.; BIANCONI, G.V.; PEDRO, W.A.; **Mamíferos do Brasil**. 2.ed. Londrina: Nélio R. Dos Reis, 2011. p. 27-67.

PENCE D.B., UECKERMANN, E.; Sarcoptic Mange in Wildlife. **Revue Scientifique et Technique (International Office Of Epizootics)**. v. 21, n. 1, p. 385-398, 2002.

PEREIRA FILHO, J. S.; BICALHO, L.; SILVA, D. A. Uso de própolis associada a outros componentes no tratamento de feridas oncológicas após excisão. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 3, n. 2, p. 15-25, 2012.

SILVA, A.P.R.; SOARES, A.P.S.; PESSANHA, C.S.; ROZA, C.M.; TAVARES, L.S.; SILVA, D.M.; CARDOSO, M.M.; PALERMO, T.A.C.; SANTOS, C.M. & SILVA, A.T.M.S. Uso terapêutico da pomada de própolis em diferentes feridas crônicas. **Perspectivas Online: Biológicas e Saúde**, v.7, n.24, p. 40-46, 2017.

SHOOP, W. L. Ivermectin resistance. **Parasitology Today**, v. 9, n. 5, p. 154-159, 1993.

SKERRATT, L. F.; MARTIN, R. W.; HANDASYDE, K. Sarcoptic mange in wombats. **Australian Veterinary Journal**, v. 76, p. 408-410, 1998.

STONEHAM, S; COLES, G. Ivermectin resistance in *Parascaris equorum*. **The Veterinary Record**, v. 158, n. 16, p. 572, 2006.

TABASSAM, S. M.; IQBAL, Z.; JABBAR, A.; CHATTHA, A. I. Efficacy of crude neem seed kernel extracts against natural infestation of *Sarcoptes scabiei* var. ovis. **Journal of Ethnopharmacology**. 115. 284-7, 2008.

TEODORO, T. G.W.; LIMA, P. A.; STEHLING, P. C.; OLIVEIRA JUNIOR, I. M.; VARASCHIN, M. S.; WOUTERS, A.T.B. Sarcoptic mange (*Sarcoptes scabiei*) in wild canids (*Cerdocyon thous*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 7, p. 1444-1448, 2018.

TERADA, Y.; MURAYAMA, N.; IKEMURA, H.; MORITA, T.; NAGATA, M. *Sarcoptes scabiei* var. *canis* refractory to ivermectin treatment in two dogs. **Veterinary dermatology**, v. 21, n. 6, p. 608-612, 2010.

XU, M.; MOLENTO, M.; BLACKHALL, W.; RIBEIRO, P.; BEECH, R.; PRICHARD, R. Ivermectin resistance in nematodes may be caused by alteration of P-glycoprotein homolog. **Molecular and biochemical parasitology**, v. 91, n. 2, p. 327-335, 1998.

ZHU, W. J., LI, M., LIU, C., QU, J. P., MIN, Y. H., XU, S. W., & LI, S. Avermectin induced liver injury in pigeon: mechanisms of apoptosis and oxidative stress. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 98, p. 74-81, 2013.

CAPÍTULO 14

TRATAMENTO, REABILITAÇÃO E REINTRODUÇÃO À NATUREZA DE *MAZAMA BORORO* (DUARTE 1996) COM FRATURAS EM CHIFRES

Data de aceite: 02/08/2021

Milena Lozove Grein da Silva

Estudante do curso Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Centro-Oeste (Unicentro), extensionista voluntária no Serviço de Atendimento a Animais Selvagens (SAAS) da Unicentro Guarapuava-PR
<http://lattes.cnpq.br/3730017052748915>

Thiago Francisco da Costa Solak

Pós-graduado em Medicina de Animais Selvagens, residente em Clínica Médica e Cirúrgica de Animais Selvagens da Universidade Federal do Paraná (UFPR) Beto Carrero World Penha-SC
<http://lattes.cnpq.br/1897657380688684>

Julio Cesar Fernandes de Lima

Estudante do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Centro-Oeste (Unicentro), bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Extensão Universitária PIBEX Guarapuava-PR
<http://lattes.cnpq.br/1111827966926609>

Rhuann Carlo Viero Taques

Estudante do curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual do Centro-Oeste (Unicentro), extensionista voluntário do Núcleo de Educação Ambiental Guarapuava-PR
<http://lattes.cnpq.br/8250506102496790>

Rodrigo Antonio Martins de Souza

Doutor em Zoologia, professor do Departamento de Medicina Veterinária e coordenador do Serviço de Atendimento a Animais Selvagens (SAAS) da Universidade Estadual do Centro-Oeste (Unicentro) Guarapuava-PR
<http://lattes.cnpq.br/8542263231718985>

RESUMO: O *Mazama bororo* (veado-vermelho) é desde 2008 classificado pela IUCN (*International Union for Conservation of Nature*) como vulnerável (VU), correndo o grande risco de entrar em processo de extinção, o que torna os trabalhos voltados à conservação e recuperação desta espécie de suma importância para a manutenção da mesma. O presente trabalho é um relato de tratamento, reabilitação e reintrodução à natureza de um veado-vermelho que foi atendido no SAAS (Serviço de Atendimento a Animais Selvagens da Unicentro) devido a fraturas nos chifres, o animal foi resgatado pelo corpo de bombeiros no município de Irati-PR e encaminhado pelo Instituto Água e Terra para o SAAS, onde procedeu-se o atendimento veterinário e internamento do paciente até o momento da soltura. Para a contenção farmacológica que permitiu a realização dos procedimentos clínicos, foi utilizado um protocolo dissociativo a base de cloridrato de cetamina 10mg/kg e xilazina 0,5mg/kg, administrados pela via intramuscular (IM) através de dardos de nylon com agulhas especiais e estabilizadores e zarabatana. Após a contenção foi realizado exame radiográfico e o procedimento cirúrgico para a remoção dos

fragmentos fraturados e desbridamento do velame adjacente. O animal ficou internado recebendo tratamento homeopático com *Calendula officinalis* CH12 e *Shymphytum officinale* CH12 durante três dias e após esse período, o veado foi solto no Parque Municipal São Francisco da Esperança em Guarapuava-PR, voltando à vida-livre.

PALAVRAS-CHAVE: Veados-vermelhos; radiografia; homeopatia; conservação.

CLINICAL APPROACH AND REINTRODUCTION TO THE NATURE OF MAZAMA BORORO (DUARTE 1996) - RED DEER WITH HORN FRACTURES

ABSTRACT: Since 2008, the animal called *Mazama bororo* (red deer) has been classified by the IUCN (Internationally vulnerable (VU), running the risk of becoming extinct). The Conservation Union of Nature focus its work on the conservation and recovery of these species, which are extremely important for its maintenance and continue development of its mission. The work presented here is a report of clinical examinations, treatment and reintroduction to the nature of a red deer that was attended at SAAS (Service of Attendance to Wild Animals of Unicentro) due to fractures in the two horns. The animal was rescued by the Firefighter Corps in the municipality of Irati-PR. The animal was transported by the Water and Earth institution (SAAS), where veterinary care and hospitalization of the patient were carried out until the moment of release. For the pharmacological containment (anesthesia) that allowed clinical procedures to be performed, a dissociative protocol based on ketamine hydrochloride (10mg / kg) and xylazine hydrochloride (0.5mg / kg), administered intramuscularly (IM), was used, through darts and blowguns. Later, containment, radiographic examination was performed for diagnostic confirmation and the surgical procedure was performed to remove fractured fragments and debridement of the spare canopy. The animal was hospitalized receiving homeopathic treatment with *Calendula officinalis* CH12 and *Shymphytum officinale* CH12 for three days and after that period, the deer was released into the environmental preservation area of the São Francisco da Esperança Municipal Park in Guarapuava-PR, Brazil.

KEYWORDS: Red deer; radiography; homeopathy; conservation.

1 | INTRODUÇÃO

Dentre os mamíferos silvestres que ocorrem na região de Guarapuava-PR, os veados do gênero *Mazama* são os Artiodáctilos silvestres mais atendidos no Serviço de Atendimento a Animais Selvagens (SAAS) da Universidade Estadual do Centro-oeste do Paraná (Unicentro). Este serviço é uma parceria extensionista que oferece atendimento veterinário a animais encaminhados por órgãos ambientais, tais como Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), Instituto Água e Terra do Paraná (IAT) - regionais Guarapuava, Irati e Pitanga, e Secretarias Municipais de Meio Ambiente da região e demais municípios que compreendem o quadro de atuação do 16º Batalhão da Polícia Militar do Paraná (Força Verde e Corpo de Bombeiros).

De acordo com o levantamento divulgado pela *International Union for Conservation of Nature* (IUCN), dentre as espécies de *Mazama*, *M. bororo* (Duarte, 1996) é desde 2008 classificado como vulnerável (VU) (VOGLIOTTI et al., 2016). O que torna os trabalhos

voltados à conservação e recuperação dessa espécie de suma importância para a manutenção da mesma tanto *in situ* quanto *ex situ*. Dito isso, o presente trabalho visa relatar e discutir o caso de um jovem macho da espécie *Mazama bororo* que sofreu traumas em chifres após colidir com uma cerca em uma propriedade rural.

O espécime foi socorrido pelo Corpo de Bombeiros e encaminhado ao SAAS pelo IAT (regional-Irati) no dia seguinte após o resgate. Posteriormente à avaliação clínica geral e realização dos exames de imagem, o animal recebeu suporte e tratamento homeopático, ficando isolado para recuperação e após esse período o mesmo foi solto em áreas de preservação ambiental sendo, portanto, reintroduzido em seu habitat.

2 | METODOLOGIA

No dia 26 de junho de 2020, foi atendido no SAAS um jovem macho da espécie *M. bororo*, o qual foi resgatado primeiramente pelo Corpo de Bombeiros, e, logo após, entregue aos responsáveis pelo setor de fauna do IAT no município de Irati-PR, que manteve o cervídeo em uma caixa de transporte de madeira (específica para o transporte de mamíferos de pequeno à médio porte) até o momento do deslocamento para o SAAS, localizado no *campus* Cedeteg da Unicentro no município de Guarapuava-PR.

Quando chegou foi imediatamente colocado numa sala acolchoada de indução e recuperação anestésica do Setor de Clínica Médica e Cirúrgica de Grandes Animais (SCMCGA) da Clínica Escola Veterinária Professor Doutor Marcos Vinicius Tranquilim (CEVET).

Após a acomodação do animal, ele foi avaliado à distância pela equipe veterinária do SAAS e se observou que os chifres estavam fora do eixo anatômico, pendurados na cabeça pelos velames, os quais encontravam-se edemaciados e sujos com sangue seco (figura 1). Levantou-se então a suspeita de fratura completa nos dois chifres.



Figura 1: *Mazama bororo* durante avaliação clínica à distância em sala acolchoada de indução e recuperação anestésica, evidenciando fraturas em chifres com presença de edema e sangue seco.

Fonte: SOLAK, T. F. C., 2020.

Nenhuma outra alteração importante foi visualizada no exame à distância. O paciente permaneceu em jejum de 12 horas de alimentos sólidos para realização da captura e contenção farmacológica que possibilitaria a realização dos procedimentos clínicos e demais exames necessários.

Para a contenção farmacológica (anestesia), foi utilizado um protocolo dissociativo a base de cloridrato de cetamina 10mg/kg (QUESSADA et al, 2015) e xilazina 0,5mg/kg (MUNERATO et al, 2012, MUNERATO et al, 2013), administrados pela via intramuscular (IM) através de dardos de nylon com agulhas especiais e estabilizadores (*Dist Inject®*). Os quais foram lançados no animal com o auxílio de uma zarabatana de longo alcance (*Zootech®*), com 175cm de comprimento (conectada à peça de alongamento), o tiro foi disparado pelo anestesista há uma distância segura de aproximadamente 3 metros do animal, dentro da sala de indução e recuperação anestésica do SCMCGA.

Foi necessário disparar um segundo dardo com mais uma dose de cetamina (5mg/kg) para obtenção de um plano anestésico que permitiu o manuseio do animal e que se manteve estável por 45 minutos, viabilizando a realização do exame clínico e radiográfico, evidenciando assim, as fraturas em chifres sem o comprometimento de ossos do crânio (figura 2).



Figura 2: exame radiográfico de cabeça de *Mazama bororo* projeção latero-lateral direita, evidenciando fraturas em chifres sem comprometimento dos demais ossos do crânio.

Fonte: Serviço de Diagnóstico por Imagem da Clínica Escola Veterinária Prof. Dr. Marcos Vinícius Tranquilim (CEVET - Unicentro), 2020.

Após a radiografia os fragmentos fraturados dos chifres foram removidos e o tecido sobressalente que restou dos velames foi desbridado com auxílio de bisturi (lâmina nº 10) e tesouras cirúrgicas de Metzembraum (curva e reta). Não foram necessárias suturas e ligaduras.

Em sequência ao desbridamento cirúrgico, a lesão foi coberta com uma pomada artesanal a base de Cutisanol®, iodo povidine, óleo fitoterápico de Calêndula (*Calendula officinalis*) e glicerina enriquecida com uma associação homeopática de *Calendula officinalis* CH12 e *Shymphytum officinale* CH12, a qual também foi administrada pela via oral (20 gotas diluídas em dois litros de água, disponibilizados no bebedouro do animal) durante três dias consecutivos. Além dos medicamentos homeopáticos supracitados, o paciente recebeu uma dose única de 40.000 UI/Kg de Pencivet® para controle de possíveis infecções oportunistas.

3 | ANÁLISE E DISCUSSÃO

Grande parte dos cervídeos machos possuem chifres, estas estruturas maciças desenvolvem-se a partir de pedúnculos, que são processos permanentes do osso frontal, recobertos por pele, onde se encontram as rosetas basilares, de onde emergem. O

crescimento e tamanho dos chifres pode variar entre as espécies de cervídeos, mas em todos os casos onde estão presentes a nutrição é promovida pelo velame, sendo esta, uma estrutura tegumentar altamente irrigada responsável por depositar cálcio na matriz óssea, durante o desenvolvimento do chifre. Ao fim do crescimento o velame involui e cai devido à interrupção na irrigação artério-venosa, deixando a matriz óssea exposta. Estas estruturas (os chifres) são utilizadas basicamente para defesa, reprodução e demarcação territorial (DUARTE, 2014).

No caso relatado neste trabalho, as fraturas ocorreram acima da roseta basilar, desta forma, o desenvolvimento dos chifres não foi comprometido pelo traumatismo. De acordo com Duarte (2014), fraturas em chifres de cervídeos possuem importância limitada, devido ao seu desenvolvimento e irrigação específicos, a não ser que a lesão ocorra abaixo das rosetas basilares. Os velames lesionados foram desbridados de forma a permitir que os mesmos continuassem recobrir a porção restante do chifre que voltará a crescer na próxima estação reprodutiva (DUARTE, 2014).

A acomodação de cervídeos em locais acolchoados e seguros (neste caso na sala de indução e recuperação anestésica do SCMCGA) se faz indispensável pois tratam-se de espécies com comportamento de presa, isto é, são altamente estressados e por conta disso, podem causar lesões na própria pele, músculos, ossos e articulações por tentativas incessantes de fuga, como descrito por Baldini e Duarte (2020) no Guia de Manejo Emergencial de Cervídeos desenvolvido pelo Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (Nupecce) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP, *campus* Jaboticabal-SP).

O contínuo declínio populacional de cervídeos, incluindo o *M. bororo*, é decorrente de diversos fatores como a caça predatória, contato com cães domésticos, destruição e fragmentação de habitat (neste caso, a Mata Atlântica), associadas à exploração ilegal do palmito (*Euterpe edulis*) e ao uso demasiado da terra (VOGLIOTTI et al, 2016). Atropelamentos, que frequentemente atingem essas espécies, também são relatados como de grande importância clínica e ecológica pois afetam diretamente esses animais (DUARTE et al, 2012).

Uma outra possível ameaça às populações de cervídeos são as doenças infecciosas emergentes de bovinos, que podem vir a afetar ruminantes silvestres (VOGLIOTTI et al, 2016). *Mazama bororo* é considerado vulnerável (VU) na lista de espécies ameaçadas de extinção do estado de São Paulo (MMA, 2018) e com Dados Deficientes (DD) no Paraná de acordo com o Plano de Ação Nacional para a Conservação dos Cervídeos Ameaçados de Extinção (DUARTE et al, 2012).

A recuperação da anestesia dissociativa foi tranquila e o animal foi deixado sozinho na sala de recuperação anestésica assim que conseguiu manter-se em decúbito lateral, onde permaneceu cativo por mais dois dias. No terceiro dia de internamento, uma nova avaliação clínica à distância foi realizada, constatando-se que o paciente encontrava-se

recuperado. O animal então recebeu alta médica sendo solto em uma área de preservação ambiental no Parque Municipal São Francisco da Esperança no município de Guarapuava-PR.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

O manejo, conduta clínica e protocolo anestésico adotados para a execução deste caso foram satisfatórios devido à notável recuperação do animal tratado, que por sua vez, ao ser reintroduzido ao ambiente silvestre, encontra-se apto a perpetuar a espécie através da reprodução *in situ*. Ademais, os trabalhos desenvolvidos no âmbito de extensão universitária permitem que não somente estudantes vivenciem práticas em medicina veterinária, como também possibilita ações em prol da comunidade e da conservação de espécies silvestres, através de projetos como os vinculados ao Serviço de Atendimento a Animais Selvagens. Ações de extensão como esta mostram a vocação da Medicina Veterinária da Unicentro como agente eficaz no manejo de fauna em uma parceria importante com órgãos ambientais.

REFERÊNCIAS

BALDINI, M. H. M.; DUARTE, J. M. B. **Guia de Manejo Emergencial de Cervídeos**. Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (Nupecce). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Jaboticabal, 2020.

DUARTE, J. M. B., VOGLIOTTI, A., ZANETTI, E. dos S., OLIVEIRA, M. L. de, TIEPOLO, L. M., RODRIGUES, L. F., ALMEIDA, L. B. de. Avaliação do risco de extinção do veado-mateiro-pequeno (*Mazama bororo* Duarte, 1996), no Brasil. **Biodiversidade Brasileira-BioBrasil**, n. 1, p. 42-49, 2012.

Ministério do Meio Ambiente (MMA). **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume I**. Brasília, DF: ICMBio/MMA, 2018. p. 84, 492 p. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/comunicacao/publicacoes/publicacoes-diversas/livro_vermelho_2018_vol1.pdf. Acesso em: 10 set. 2020.

MUNERATO, M. S., CAULKETT, N. A., TOMAS, W., & MARQUES, J. A. **Efeitos cardiorrespiratórios das associações tiletamina/zolazepam/xilazina e cetamina/midazolam/xilazina com e sem suplementação oxigênio em veados-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) de vida-livre**. In *Embrapa Pantanal-Artigo em anais de congresso*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MASTOZOOLOGIA, 6., Corumbá. A mastozootologia e a crise de biodiversidade: anais... Corumbá: Embrapa Pantanal; SBMZ, 2012.

MUNERATO, M. S., DUARTE, J. M. B., PEREIRA, G. T., MARQUES, J. A. Physiologic Effects of Three Different Protocols of Isoflurane Anesthesia in Captive Brown Brocket Deer (*Mazama gouazoubira*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 44, n. 4, p. 889–898, 31 dez. 2013.

VOGLIOTTI, A., OLIVEIRA, M. L. & DUARTE, J. M. B. 2016. *Mazama bororo*. **A Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN 2016**: e.T41023A22155086. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T41023A22155086.en>. Acessado em 09 set. 2020.

VOGLIOTTI, A., DUARTE, J. M. B. **Veado-mateiro-pequeno (*Mazama bororo*)** in DUARTE, J. M. B., DIAS, M. L. (org.). Plano de ação nacional para a conservação dos cervídeos ameaçados de extinção. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, ICMBio, p. 79, 128 p. 2012.

QUESSADA, A. M., PACHALY, J. R., DA COSTA NETO, J. M., VICENTE, J. D., & BORGES, T. B. Amputação bem sucedida de membro torácico em um veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) - Relato de caso. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.21; p. 50, 2015.

USO DA OZÔNIOterapia COMO ADJUVANTE NO TRATAMENTO DE SÍNDROME CÓLICA EQUINA: RELATO DE CASO

Data de aceite: 02/08/2021

Data de submissão: 03/06/2021

Laís Cecato Moura Leal

Médica Veterinária Residente em Clínica Médica de Grandes Animais pela Unesp - FMVA Araçatuba-SP
<http://lattes.cnpq.br/4557348213947004>

Kamila Ferraresi Zanotelli

Médica Veterinária Mestranda em Ciência Animal pela Unesp - FMVA Araçatuba-SP
<http://lattes.cnpq.br/0986031155323868>

Andressa da Silva Alves

Médica Veterinária Autônoma Rio de Janeiro-RJ
<http://lattes.cnpq.br/0509279218457968>

Caroline Clemente de Almeida

Médica Veterinária Aprimorada em Clínica Cirúrgica de Grandes Animais pela Unesp - FMVA Araçatuba-SP
<http://lattes.cnpq.br/0777225432595046>

Victória Galvão Leoni

Médica Veterinária Residente em Clínica Cirúrgica de Grandes Animais Unesp - FMVA Araçatuba-SP
<http://lattes.cnpq.br/8556098901969106>

Flávia de Almeida Lucas

Médica Veterinária docente em Clínica Cirúrgica de Grandes Animais e supervisora do Hospital Veterinário "Luiz Quintiliano de Oliveira" pela Unesp - FMVA Araçatuba-SP
<http://lattes.cnpq.br/7411508425015407>

RESUMO: A síndrome cólica equina, também conhecida como síndrome do abdome agudo, refere-se a um quadro de dor abdominal, mais comumente do trato gastrointestinal. Além disso, é a enfermidade que causa maior taxa de mortalidade entre a espécie, sendo que o reconhecimento precoce dos sinais e intervenção clínica é de extrema importância para o prognóstico e resolução do caso. O ozônio é um fármaco de forma gasosa multifatorial usado em terapia integrativas. Dependendo das doses e concentrações utilizadas, pode apresentar efeitos antissépticos, antimicrobianos, imunomodulatórios e analgésicos, tratando doenças sistêmicas, ortopédicas, dermatológicas e até mesmo oncológicas nos animais.

PALAVRAS-CHAVE: Cólica equina, ozonioterapia, equinos, abdome agudo.

USE OF OZONETHERAPY AS AN ADJUVANT IN THE TREATMENT OF EQUINE COLIC SYNDROME: CASE REPORT

ABSTRACT: Equine colic syndrome, also known as acute abdomen syndrome, refers to abdominal pain, most commonly in the gastrointestinal tract. In addition, it is the disease that causes the highest mortality rate among the species, and the early recognition of signs and clinical intervention is extremely important for the prognosis and resolution of the case. Ozone is a multifactorial gaseous drug used in integrative therapy. Depending on the doses and concentrations used, it may have antiseptic, antimicrobial, immunomodulatory and analgesic effects, treating systemic, orthopedic, dermatological and even

oncological diseases in animals.

KEYWORDS: Equine colic, ozonotherapy, horses, acute abdomen.

1 | INTRODUÇÃO

A síndrome cólica equina, também conhecida como síndrome do abdome agudo, refere-se a um quadro de dor abdominal, mais comumente do trato gastrointestinal. Além disso, é a enfermidade que causa maior taxa de mortalidade entre a espécie, sendo que o reconhecimento precoce dos sinais e intervenção clínica é de extrema importância para o prognóstico e resolução do caso. A cólica geralmente é de ocorrência repentina e pode ser acentuada ou leve, aguda ou crônica: casos intermitentes da síndrome são comuns em um mesmo indivíduo (OGILVIE, 2000).

O ozônio é um fármaco de forma gasosa multifatorial usado em terapia integrativas. Dependendo das doses e concentrações utilizadas, pode apresentar efeitos antissépticos, antimicrobianos, imunomodulatórios e analgésicos, tratando doenças sistêmicas, ortopédicas, dermatológicas e até mesmo oncológicas nos animais. O mesmo é formado por três moléculas de oxigênio, com funções diretas e indiretas. Ao ter contato direto com os microrganismos, causa a oxidação imediata das membranas plasmáticas e em envelopes lipídicos, estimulando poros que promovem o desbalanço hidroeletrólítico e a apoptose do mesmo. O mecanismo indireto ocorre principalmente pelas administrações por vias sistêmicas, há interação e reação com os eritrócitos com o alto dos ATPs e perfusão sanguínea, ativa o sistema imune do próprio organismo pelas suas funções oxidantes, libera fatores de crescimento como plaquetas e células-troncos circulantes (BASILE, et al., 2017; RODRIGUEZ, et al., 2018).

2 | RELATO DE CASO

Foi encaminhado até o Hospital Veterinário da UNESP “Luis Quintiliano de Oliveira” uma égua, da raça Quarto de Milha, 8 anos de idade com histórico de desconforto abdominal desde a manhã do mesmo dia. Durante a anamnese foi relatado que a mesma sofria de aerofagia. Foi realizado exame físico geral, complementares e tratamentos emergenciais convencionais, como fluidoterapia endovenosa, sondagem nasogástrica e hidratação oral. Observou-se estrias de sangue na lavagem estomacal, sinal sugestivo de gastrite e entre as prováveis causas predisponentes à síndrome. Na palpação transretal, notou-se aumento de volume na região ventral esquerda do abdome, constatando provável compactação de cólon. Após a descompactação, instituiu-se terapia adjuvante com ozonioterapia. Sabe-se que os equinos são sensíveis aos LPS, sendo assim, comumente são utilizados AINEs com função antitoxêmica, a fim de evitar evolução para um quadro de laminite, porém, atuam diretamente nas prostaglandinas da mucosa gástrica exacerbando o quadro de inflamação.

Neste relato, optou-se pelo uso de fluidoterapia ozonizada endovenosa na concentração de 20µg/L de O3 por 3 dias e a administração do gás intrarretal na mesma concentração. O ozônio por via sistêmica possui propriedades como aumento da perfusão sanguínea, bactericida, imunomodulação e além disso, provoca alta estimulação antioxidante pelo próprio organismo.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

O animal não apresentou pulso positivo em membros ou claudicação, após 15 dias foi contactado o proprietário e o mesmo relatou que ela não demonstrou claudicância neste período.

A insuflação retal é a via sistêmica de maior segurança, importância e mais simples, no reto há bastante irrigação sanguínea possibilitando rápida e melhor absorção do gás. Esta via de aplicação é indicada para uso adjuvante em amplas enfermidades, foi ação detoxificante e imunomodulatório. Enquanto a diluição do gás em fluidoterapia e a administração endovenosa, possuem propriedades de integração e reação com os eritrócitos, desidratando o mesmo e modificando a sua morfologia, assim há aumento da perfusão sanguínea (passa mais facilmente em capilares e atinge todo o organismo do animal), além da sua propriedade oxidante direta nas células do organismo provocando uma cascata antioxidante, melhorando o sistema imune do animal (RODRIGUEZ et al., 2018)

4 | CONCLUSÃO

É perceptível como as terapias integrativas estão crescendo e sendo incluídas nos protocolos e tratamentos clínicos, complementando-os e demonstrando bons resultados. Assim, é possível abranger a terapêutica e trazer mais benefícios aos animais.

REFERÊNCIAS

BASILE, R.C; et al. **Ozônio: um fármaco multifatorial**. Revista Brasileira de Medicina Equina, V.12, N.70, P.10-12, 2017.

OGILVIE, T. H. **Medicina Interna de Grandes Animais**. 4ªed. Porto Alegre: ArtMed Editora, 2000.

RODRIGUEZ, Z. B. Z. **Ozonioterapia em medicina veterinária**. 1ed. Multimídia Editora, 2018.

ANÁLISE COMPARATIVA SOBRE OS EFEITOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE COPAÍBA E ÓLEO DE GIRASSOL OZONIZADO EM UM MODELO EXPERIMENTAL DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM RATOS

Data de aceite: 02/08/2021

Data de submissão: 03/08/2021

Erick Ewdrill Pereira de Macêdo

Universidade Paulista - UNIP, Instituto de Ciências da Saúde
Bauru - São Paulo

Vanessa Foloni Torres

Universidade Paulista - UNIP, Instituto de Ciências da Saúde
Bauru - São Paulo

Júlia Bárbara Milsoni

Universidade Paulista - UNIP, Instituto de Ciências da Saúde
Bauru - São Paulo

RESUMO: A cicatrização é um processo complexo, que pode ser influenciado por uma série de fatores como, infecção local, doenças sistêmicas, extensão da ferida e estado nutricional, estes fatores podem fazer com que ocorra uma cicatrização tardia ou uma reinfecção da ferida. Alguns estudos têm descrito os benefícios do óleo essencial de copaíba, demonstrando suas propriedades anti-inflamatórias, antimicrobiana e analgésicas, porém, ainda não se tem uma quantidade de pesquisas científicas que possam afirmar essas propriedades. O objetivo deste projeto foi comparar os efeitos do óleo de girassol ozonizado e do óleo de copaíba e verificar a viabilidade como cicatrizantes de feridas de primeira intenção, do ponto de vista de melhor qualidade na cicatrização, menor tempo

na cicatrização, melhor efeito anti-inflamatório e antimicrobiano, por meio de exames macroscópicos como inspeção e palpação. Não foram observados aceleração na cicatrização de feridas tratadas com copaíba e óleo de girassol ozonizado, foi visto a presença de crostas e vermelhidão em todos os grupos de estudo, não sendo encontradas diferenças estatísticas. Além disso, nenhuma outra alteração foi vista em nenhum grupo de estudo. Diante dos resultados, podemos concluir que o óleo essencial de copaíba e o óleo de girassol ozonizado não apresentaram resultado superior na cicatrização de feridas de primeira intenção quando comparado ao grupo controle e que o óleo essencial de copaíba pode influenciar na presença de crostas em feridas.

PALAVRAS-CHAVE: Cicatrização, copaíba, ozônio.

COMPARATIVE ANALYSIS ON THE EFFECTS OF COPAÍBA ESSENTIAL OIL AND OZONIZED SUNFLOWER OIL IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF WOUND HEALING IN RATS

ABSTRACT: Healing is a complex process, which can be influenced by a number of factors, such as local infection, systemic diseases, wound extension and the patient's nutritional status. Innumerable drugs produced from plants have been used in medicine for wound healing. Studies describe the benefits of copaiba essential oil, demonstrating its anti-inflammatory, antimicrobial and analgesic properties. Other studies demonstrate ozone's healing and antimicrobial properties. The objective of this work was to compare the effects of ozonated

sunflower oil and the essential oil of copaiba and to verify their viability as healing agents of first intention wounds. Thus, thirty Wistar rats were used, which were divided into 3 groups (n = 10 per group). The animals suffered an incision in the abdominal line with subsequent suture. In group 1 0.9% saline, in group 2 the rats were treated with copaiba oil and in group 3 with ozonized oil. The results were very homogeneous, showing no acceleration in the healing process. A greater occurrence of crusts was observed in groups treated with copaiba essential oil. Based on the results, we can conclude that the essential oil of copaiba and the ozonized sunflower oil did not present superior results in the healing of first intention wounds when compared to the control group and that the essential oil of copaiba may influence the presence of crusts in wounds.

KEYWORDS: Healing, copaíba, ozone.

1 | INTRODUÇÃO

As feridas são definidas como perda tecidual e fisiológica da pele (BIONDO-SIMÕES et al., 2019). A cicatrização é um processo do organismo que ocorre com o intuito de reparar os tecidos epidérmicos e dérmicos após uma lesão (RAMOS, 2017).

A cicatrização é um processo complexo, que pode ser influenciado por uma série de fatores como, infecção local, doenças sistêmicas, extensão da ferida e estado nutricional, estes fatores podem fazer com que ocorra uma cicatrização tardia ou uma reinfecção da ferida (CAVALCANTI et al., 2005).

Nos últimos anos vem crescendo o interesse por produtos naturais utilizados na medicina popular. Assim, várias pesquisas com a utilização de fitoterápicos tem sido realizada, com a finalidade de se obter novos medicamentos para tratamento das enfermidades (CAVALCANTI et al., 2005; BARBOSA et al., 2009).

Tentando contribuir para os processos de cicatrização, diversas substâncias têm sido estudadas para auxiliar na cicatrização de feridas, como o óleo de copaíba e o óleo de girassol ozonizado (RAMOS, 2017; XIAO et al., 2017; BIONDO-SIMÕES et al., 2019).

O óleo extraído da copaíba é um produto natural extraído da de árvores do gênero *Copaifera*, que possui mais de 72 espécies, família leguminosas, encontradas principalmente nos biomas da bacia amazônica e cerrado (MARTINI et al., 2016). Desde a descoberta do Brasil o óleo extraído da árvore *Copaifera* vem sendo utilizados como fins de tratamento de doenças e para outros fins (VEIGA-JUNIOR & PINTO, 2002).

Alguns estudos tem descrito os benefícios do óleo de copaíba, demonstrando suas propriedades anti-inflamatórias, antimicrobiana, analgésicas, antitumorais, antineoplásicas e antinoceptivas, porém, ainda não se tem uma quantidade de pesquisas científicas que possam afirmar essas propriedades (VIEIRA, et al., 2008; LUCAS et al., 2017).

Além desses benefícios, outros trabalhos foram feitos pesquisando a aplicação do óleo de copaíba como um produto para acelerar o processo de cicatrização de feridas (MARTINI et al., 2016; BIONDO-SIMÕES et al., 2019).

Em um estudo realizado por Masson (et al., 2013) o óleo de copaíba foi testado

como antimicrobiano e foi constatado que ele tem propriedade antimicrobianas em bactérias gram-positivas, as principais bactérias encontradas na superfície da pele de humanos e animais. Em outro estudo realizado por Lucas (et al., 2017) com equinos, concluiu que o óleo de copaíba tem propriedades que auxiliam no processo de cicatrização de feridas por segunda intenção em equinos.

O girassol (*Helianthus annuus L*) está entre as maiores fontes de óleo vegetal do mundo, é uma planta tradicionalmente cultivada pelos índios, originária do México. A planta se espalhou pelo mundo até chegar a Rússia, onde foi comercializada como planta produtora de óleo. Baseado nessa produção, a cultura foi se expandindo e hoje é utilizada em todos os continentes e hoje tem seu uso medicinal (LENTZ et al., 2001; UNGARO et al., 2009).

O ozônio é uma molécula instável, presente na atmosfera terrestre, formada por 3 átomos de oxigênio que é capaz de rapidamente se decompor-se em oxigênio, desta forma, ele pode atuar fortemente como oxidante de microrganismos, se usado em uma concentração específica. O uso desse gás foi introduzido na medicina de forma empírica e sem precisão há vários anos. Nos últimos anos tem avançado o uso de ozônio devido a novos gerados de ozônio que são capazes de produzir concentrações precisas de ozônio em tempo real (ZENG & LU, 2018).

Devido a sua propriedade oxidante para microrganismos, o ozônio pode ser usado com segurança na medicina, inclusive introduzido no corpo através do sangue em quantidades baixas (ZENG & LU, 2018). É conhecido por suas propriedades antimicrobiana direta, principalmente para bactérias gram positivas e várias gram negativas. Além de suas propriedades antiviral, antifúngica, anti-inflamatória, imunorregulação, modificações epigenéticas, analgésicos e vasodiladores. Todas essas propriedades fazem dele um gás benéfico para utilização como cicatrizante, principalmente para o uso em tecidos moles (DIAZ et al., 2006; ZENG & LU, 2018; OLDOINI et al., 2020).

Os mecanismos de ação do ozônio como antimicrobiano é feito quando ele interrompe o ácido nucléico ou a camada lipossômica dos microrganismos, com isso, a membrana é facilmente invadida devido a sua permeabilidade aumentada, oxidando os microrganismos (ZENG & LU, 2018). Auxilia na inibição da atividade metabólica e na estimulação da produção de anticorpos (STUBINGER et al., 2006).

A ozonioterapia tem alta eficácia quando utilizada em concentrações menores, uma dosagem maior pode ser ineficaz. Em dosagens baixas a terapia com ozônio estimula uma ação antioxidante endógena, junto a produção de leucotrienos e interleucinas, tendo como consequência diminuição da inflamação e da dor (OLDOINI et al, 2020).

O ozônio pode estimular a produção de imunoglobulinas, ativar macrófagos e deixar os microrganismos mais sensíveis a fagocitose (TERESA et al., 2008). Além disso, pode ativar a expressão de várias citocinas que estão envolvidas no processo de cicatrização de feridas, além de haver aumento da migração de fibroblastos para área da lesão (XIAO

et al., 2017).

Alguns trabalhos na medicina veterinária têm relatado que o ozônio tem propriedades cicatrizantes e antimicrobianas. A ozonioterapia foi utilizada e foi confirmado seu efeito na cicatrização em alguns trabalhos, como: tratamento de lesões fúngicas em pele de tartaruga; cicatrização mais rápida em feridas em ratos; tratamento tópico para lesão de pele em porquinho-da-índia; diminuição do tempo de cicatrização de feridas contaminadas em canídeos; tratamento de ferida, suja, contaminada e profunda em equino, além de gradativa formação de tecido de cicatrização para substituir pele necrosada (HAYASHI & FRIOLANI, 2018).

O presente artigo teve por objetivo analisar se o óleo essencial de copaíba e o óleo de girassol ozonizado apresentam efeitos benéficos na cicatrização de feridas de primeira intenção. Comparando os efeitos destes óleos ao grupo controle onde foi utilizado somente soro fisiológico 0,9%. Verificando a viabilidade como cicatrizantes de feridas de primeira intenção, do ponto de vista de melhor qualidade na cicatrização, menor tempo na cicatrização, melhor efeito anti-inflamatório e antimicrobiano, por meio de exames macroscópicos.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Local da Pesquisa

O presente projeto foi realizado no departamento de farmacologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, localizada no município de Botucatu, estado de São Paulo, entre agosto de 2020 e julho de 2021. CEUA nº 4255151020.

2.2 Amostras

Trinta ratos da raça Wistar, fêmeas, com 12 a 16 semanas de idade, pesando entre 200 e 250g cada, que serão doados pelo departamento de farmacologia da UNESP, campus de Botucatu. Os animais ficaram alojados no Biotério do Departamento de Farmacologia do Instituto de Biociências de Botucatu (IBB) – UNESP, em gaiolas com no máximo 3 animais cada, com dimensões de 41x34x16cm com tampa de inox e forrada com maravalha branca de pino autoclavável. A limpeza da gaiola foi feita duas vezes por semana, com a lavagem da gaiola e troca da maravalha. O descarte foi feito em lixo branco, contaminado. Os animais permaneceram sob um ciclo de iluminação de 12 horas (claro-escuro) com temperatura controlada ($23 \pm 2^\circ\text{C}$), tendo acesso a ração e água filtrada “ad libitum”.

2.3 Distribuição dos grupos de estudo

30 trinta animais foram separados aleatoriamente em 3 grupos:

Grupo 1 (n=10): Este foi um grupo controle, o qual os outros foram comparados: Animais que tiveram sua ferida tratada com soro fisiológico a 0,9%, duas vezes ao dia, desde o dia da cirurgia até o 10º dia do pós-cirúrgico. A ferida foi limpa

com gaze e soro fisiológico a 0,9%. Todo o procedimento foi realizado por um dos pesquisadores.

Grupo 2 (n=10): Animais que tiveram sua ferida tratada com óleo essencial de copaíba (composto por *Copaifera coriacea*, *C. langsdorffii*, *C. officinalis* e *C. reticulata*) em concentração de 20%. Desde o dia da cirurgia até o 10º dia do pós-cirúrgico a ferida foi limpa com gaze e soro fisiológico a 0,9%. Após este procedimento foi utilizado óleo essencial de copaíba na ferida, duas vezes ao dia. Todo o procedimento foi realizado por um dos pesquisadores. Origem: DoTerra Lote: 2201714BR Validade: 06/2025.

Grupo 3 (n=10): Animais que tiveram sua ferida tratada com óleo de girassol ozonizado com índice de peróxido (IP) > 400 mEq/Kg. Desde o dia da cirurgia até o 10º dia do pós-cirúrgico a ferida foi limpa com gaze e soro fisiológico a 0,9%. Após este procedimento, foi utilizado óleo de girassol ozonizado na ferida, duas vezes ao dia. Todo o procedimento foi realizado por um dos pesquisadores. Origem: Ozontop Lote: 082020 Validade: 07/2021.

2.4 Anestesia e procedimento cirúrgico

Os animais foram transferidos, individualmente, da gaiola para uma campânula de vidro conectada ao sistema de anestesia inalatória para ratos (Insight Equipamentos Ltda, Ribeirão Preto, SP) com uso da mistura de sevoflurano 3% e oxigênio medicinal e com fluxo de 2L/minute para indução.

A manutenção da anestesia foi realizada com a mesma mistura, com máscara nasal para ratos, porém com concentração de sevoflurano de 1,5–2%. Confirmada a perda dos reflexos sensoriais e motores, cada animal foi posicionado em decúbito dorsal na mesa aquecedora cirúrgica (Heat Pad, Insight Equipamentos Ltda, Ribeirão Preto, Brasil). Foi feita tricotomia da região abdominal, seguido de antisepsia com digluconato de clorexidina a 2%. Após esta etapa, foi realizada uma incisão fusiforme de aproximadamente 5cm no plano ventral, na região da linha mediana com auxílio de bisturi, lâmina nº 21 e pinça dente de rato, com retirada de um retalho de tegumento de aproximadamente 3cm de margem. A incisão teve aproximação de bordas por meio de sutura (simples separado), para ocorrer cicatrização de primeira intenção, com auxílio de fio de nylon 3-0 agulhado, porta agulha Mayo e pinça dente de rato. Todos os equipamentos e materiais utilizados eram estéreis ou desinfetados.

2.5 Limpeza e tratamento das feridas

Todas as feridas foram limpas inicialmente com gaze estéril embebida por 2mL de soro fisiológico a 0,9%, a qual foi aplicada sobre a ferida, fazendo uma limpeza do centro dela em direção a periferia, sempre no mesmo sentido.

Os animais do Grupo 1, tiveram apenas o tratamento com soro fisiológico a 0,9%. Às feridas dos animais do Grupo 2, após a limpeza com soro fisiológico a 0,9%, tiveram o

leito da ferida coberto por 1mL do óleo essencial de copaíba através de nova gaze estéril. Às feridas dos animais do Grupo 3, após a limpeza com soro fisiológico a 0,9%, tiveram o leito da ferida coberto por 1mL do óleo de girassol ozonizado através de nova gaze. As feridas foram analisadas quanto ao processo de cicatrização e suas interferências nos dias 0, 3, 7 e 10 pelo método de inspeção e palpação. A palpação e inspeção avaliou a presença de aderências, deiscência de pontos, eritema, crosta, sangramento, secreção purulenta, situação das bordas da ferida cirúrgica e vermelhidão.

2.6 Eutanásia dos animais

Após conclusão do estudo os animais foram eutanasiados, para isso foram alocados, individualmente, em uma campânula de vidro conectada ao sistema de anestesia inalatória para ratos (Insight Equipamentos Ltda, Ribeirão Preto, SP), com uso de sevoflurano na concentração de 10%. Confirmada a perda dos reflexos sensoriais e motores, cada animal foi posicionado em decúbito dorsal na mesa aquecedora cirúrgica (Heat Pad; Insight Equipamentos Ltda, Ribeirão Preto, Brasil) e a manutenção da anestesia foi realizada com a máscara nasal para ratos mantendo a concentração de 10% do sevoflurano. Em seguida, foi feita a exsanguinação por punção cardíaca, utilizando-se uma seringa de 10 mL e agulha 0,7X25. A morte do animal aconteceu por hipovolemia.

2.7 Análise e Tratamento dos Dados

Os dados brutos foram submetidos ao teste de normalidade, apresentaram distribuição gaussiana e, posteriormente, os resultados foram expressos na forma percentagem e submetidos à análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida pelo pós-teste de Dunnet. As análises foram feitas pelo software GraphPad Prisma, com nível mínimo de significância estatística expresso pela probabilidade (P) <0,05.

3 | RESULTADOS

Dentre os critérios propostos no projeto, as únicas alterações observadas na cicatrização foram presença de crostas e vermelhidão. Não foram encontradas diferenças estatísticas significantes entre os grupos quanto a presença de crostas, quando comparado ao grupo controle ($P > 0,05$). Foi observado a presença de crostas em 40% dos animais do grupo controle no 3º dia do pós-cirúrgico, seguido de 50% no grupo copaíba e 30% no grupo ozônio, conforme figura abaixo:



Figura 1: Resultados quanto a presença de crostas na cicatrização no 3º dia de pós-cirúrgico em todos os grupos de estudo.

No 7º dia do pós-cirúrgico foi observado também a presença de crostas nas cicatrizações das incisões, porém em menor proporção. Não foram encontradas diferenças estatísticas significantes quando comparado ao grupo controle ($P > 0,05$). Foi observado a presença de crostas em 10% dos animais do grupo controle, 20% no grupo copaíba e 20% no grupo ozônio, conforme figura abaixo:

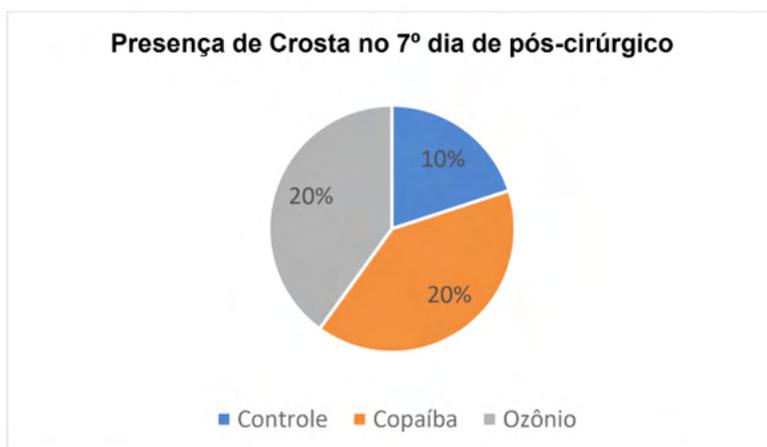


Figura 2: Resultados quanto a presença de crostas na cicatrização no 7º dia de pós-cirúrgico em todos os grupos de estudo.

No 3º e 7º dia do pós-cirúrgico foi observado a presença de vermelhidão nas incisões, mas não foram encontradas diferenças estatísticas significantes quando comparado ao grupo controle ($P > 0,05$). No 3º dia de pós-cirúrgico foi observado que 30% do grupo controle apresentava vermelhidão, seguido de 20% do grupo copaíba e 20% do grupo

ozônio, conforme figuras abaixo:



Figura 3: Resultados quanto a presença de vermelhidão na cicatrização no 3º dia de pós-cirúrgico em todos os grupos de estudo.

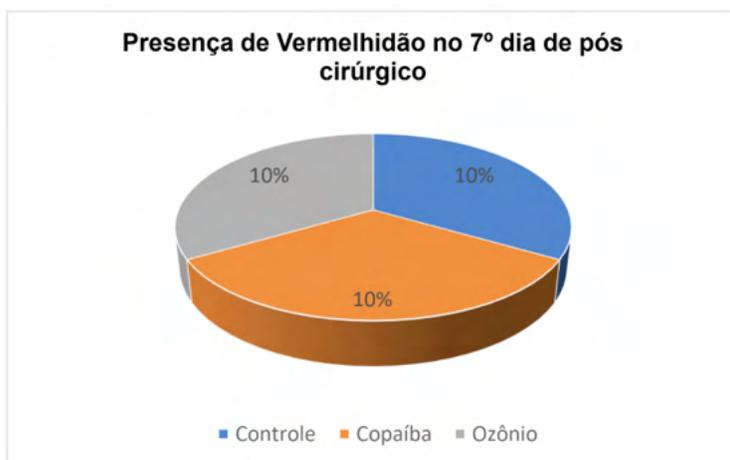


Figura 4: Resultados quanto a presença de vermelhidão na cicatrização no 7º dia de pós-cirúrgico em todos os grupos de estudo.

Em um único animal do grupo controle foi observado a presença de secreção no 3º dia de pós-cirúrgico, não sendo observado essa alteração nos demais grupos. Nos dias 0 e 10 do pós-cirúrgico, não foram encontradas nenhuma alteração durante a inspeção e palpação da incisão em nenhum dos grupos.



Figura 5: Incisões no 3º dia do pós-cirúrgico com presença de crosta e vermelhidão. Da esquerda para direita: Grupo controle, copaíba e ozônio.



Figura 6: Incisões no 7º dia do pós-cirúrgico com presença de crosta e vermelhidão. Da esquerda para direita: Grupo controle, copaíba e ozônio.



Figura 7: Cicatriz no 10º dia do pós-cirúrgico. Da esquerda para direita: Grupo controle, copaíba e ozônio.

4 | DISCUSSÃO

Os resultados encontrados nessa pesquisa vão contra aos resultados da literatura. Segundo Hayashi & Friolani (2018), o uso de óleo de girassol ozonizado faz com que a cicatrização de feridas ocorre mais rapidamente, porém os nossos resultados trouxeram uma cicatrização de tempo igual em grupos apenas tratados com soro fisiológico a 0,9% e grupos tratados com soro e óleo de girassol ozonizado.

O mesmo resultado foi obtido nos grupos tratados com óleo essencial de copaíba, a literatura fala que feridas tratadas com óleo essencial de copaíba tem uma cicatrização mais rápida, porém o grupo de animais com feridas tratadas com soro e óleo essencial de copaíba tiveram o mesmo tempo de cicatrização do grupo tratado apenas com soro fisiológico a 0,9% (MARTINI et al., 2016; LUCAS et al., 2017; BIONDO-SIMÕES et al., 2019).

Pesquisas chegaram ao resultados que tanto o óleo de copaíba, quanto o óleo de girassol ozonizado tem bons resultados quanto ao processo inflamatório, porém foi visto vermelhidão que pode ser um sinal de inflamação em alguns animais dos grupos tratados com óleo essencial de copaíba e óleo de girassol ozonizado, indo contra os resultados encontrados na literatura (VIEIRA, et al., 2008; LUCAS et al., 2017; ZENG & LU, 2018; BOINDO-SIMÕES et al., 2019).

Nos animais tratados com óleo essencial de copaíba foi visto uma maior presença de crostas, esses dados não são encontrados na literatura, podendo esse ser um achado diferencial dessa pesquisa.

5 | CONCLUSÃO

Diante dos resultados, podemos concluir que o óleo essencial de copaíba e o óleo de girassol ozonizado não apresentaram diferenças na cicatrização de feridas de primeira intenção, quando comparadas ao grupo controle. Os resultados foram bem homogêneos, não evidenciando uma aceleração na cicatrização ou qualquer uma das outras ações descritas em literatura desses agentes. Foi observado uma maior incidência de crostas em grupos tratados com óleo essencial de copaíba, podendo indicar que esse tipo de óleo pode influenciar no aparecimento de crostas em feridas, provavelmente estimulando os fibroblastos. O N baixo e a limpeza diária das feridas pode ser um fator determinante. Para avaliar melhor a influência do óleo de copaíba e de girassol ozonizado em cicatrização de feridas, sugere-se o uso destes óleos na cicatrização de feridas de segunda intenção.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, M.H. et al. **Therapeutic properties of propolis for treatment of skin lesions**. Revista Acta Paulista de Enfermagem, v. 22, p. 318-322, 2009.

- BIONDO-SIMÕES, M. L. et al. **Comparative analysis of the effects of honey, copaiba oil-resin and a commercial product (fibrinolysin, deoxyribonuclease and chloramphenicol) on second intention healing, in rats.** Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões, v. 46, n. 5, p. 17-27, 2019.
- CAVALCANTI, A.T. et al. **Análise comparativa entre o óleo-resina de copaíba e o digluconato de clorexidina no processo de cicatrização tecidual.** Estudo histológico em dorso de ratos. Revista Odontologia UNESP, v. 34, n. 2, p. 107-112, 2005.
- DIAS, M. F. et al. **Comparative Study of Ozonized Olive Oil and Ozonized Sunflower Oil.** Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 17, n. 2, p. 403-407, 2006.
- HAYASHI, M. P. FRIOLANI, M. **Aplicabilidade clínica cirúrgica da ozonioterapia em pequenos animais:** revisão de literatura. Revista Unimar Ciências, v. 27, n. 1-2, 2018.
- LENTZ, D. et al. **Prehistoric sunflower (*Helianthus annuus L.*) domestication in Mexico.** Economic Botany, v. 55, n. 3, p. 370-376, 2001.
- LUCAS, F. A. et al., **Copaiba oil in experimental wound healing in horses.** Jornal Ciência rural, v. 47, n. 4, 2017.
- MARTINI, C. A. N. et al. **Comparative analysis of the effects of *Copaifera multijuga* oil-resin and nitrofurazona in the cutaneous wound healing process.** Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões, v. 43, n. 6, p. 445-451, 2016.
- MASSON, D. S. et al. **Antimicrobial activity of copaiba (*Copaifera langsdorffii*) oleoresin on bacteria of clinical significance in cutaneous wounds.** Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 15, n. 4, p. 664-669, 2013.
- OLDOINI, G. et al. **Ozone Therapy for Oral Palatal Ulcer in a Leukaemic Patient.** European Journal of Case Reports in Internal Medicine, v. 7, n. 2, p. 1-4, 2020.
- RAMOS, C. S. 2017. **Efeitos do extrato de coité (*Crescentia cujete*) Sobre o reparo tecidual em lesões cutâneas não contaminadas e contaminadas em ratos - Goiás, Brasil.** Goiânia, Universidade Federal de Goiás. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. 72p. (Tese de Doutorado).
- STÜBINGER. S.; SABER, R.; FILIPPI, A. **The use of ozone in dentistry and maxillofacial surgery:** a review. Quintessence International, v. 24, n. 50, p. 353-359, 2006.
- TERESA, B.; WOLANSKA, E.; CIESZKO-BUK, M.; ORLOWSKI, M.; CHALAS, R. **Practical use of ozone in dentistry-comments.** Ann Universitalis Maria Curie- Sklodowska Lubin-Polonia, v. 63, n. 28, 2008.
- UNGARO, M.R.G et al. **Influência da temperatura do ar na composição de aquênios de girassol.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.32, n.4, p.351-356, 2009.
- VEIGA-JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. **O gênero *Copaifera L.*** Quim Nova, v. 25, n. 2, p. 273-286, 2002.
- VIEIRA, R. C. et al. **Influência do óleo de *Copaifera langsdorffii* no reparo de ferida cirúrgica em presença de corpo estranho.** Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 28, n. 8, p. 358-366, 2008.

XIAO, W. et al. **Ozone oil promotes wound healing by increasing the migration of fibroblasts via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway**. *Bioscience reports*, v. 37, p. 658-669, 2017.

ZENG, J.; LU, J. **Mechanisms of action involved in ozone-therapy in skin diseases**. *International immunopharmacology*, v. 56, p. 235-241, 2018.

SOBRE OS ORGANIZADORES

ALÉCIO MATOS PEREIRA - Graduado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Piauí-UFPI (2004), Mestre e Doutor em Ciência Animal (área de concentração em Reprodução Animal) também pela Universidade Federal do Piauí - UFPI. Atualmente é professor da Universidade Federal do Maranhão - UFMA, Campus IV, da disciplina de Anatomia e Fisiologia, nos cursos de Zootecnia, Agrônoma e Biologia. Tem experiência na área de Medicina Veterinária, com ênfase em Fisiologia Endócrina. E-mail para contato: aleciomatos@gmail.com; Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2057530058619654>

CLEDSON GOMES DE SÁ - Graduado em Zootecnia pela Universidade Federal do Maranhão – UFMA (2020). Atualmente é mestrando em ciência Animal pela Universidade Federal do Maranhão (PPGCA – UFMA). Tem experiência em manejo e conservação de volumosos, atuando principalmente na produção de silagens de ração total. E-mail para contato: cledsongom@gmail.com; Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4149289991528939>

DANRLEY MARTINS BANDEIRA - Graduado em Zootecnia pela Universidade Federal do Maranhão - UFMA (2019). Atualmente é mestrando em Ciência Animal pela Universidade Federal do Maranhão - UFMA (2020), com bolsa da FAPEMA. Foi bolsista BIPIC de 2016 a 2019, é Integrante do Grupo de Pesquisa em Ruminantes no Maranhão (GEPRUMA). Tem experiência na área de Zootecnia, com ênfase em nutrição de ruminantes, forragicultura, produção vegetal, e conservação de forragens. E-mail para contato: danrleymartins12@gmail.com Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6307340066874453>

ÍNDICE REMISSIVO

A

Abdome agudo 112, 113
Abdômen agudo 61
Acupuntura 1, 2
Analgesia 8, 31, 32, 38
Anestesia regional 32, 38
Antibiograma 63, 64, 65, 66, 67
Aplasia de medula 79, 86

B

Baço 25, 26, 27, 28, 29
Bem-estar 43, 44, 47, 49
Biotecnologia da reprodução 69
Bone histomorphometry 4, 7, 9
Brasileiro de hipismo 61

C

Canino 32
Cão 31, 33, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 82
Caracara plancus 88, 89, 90, 93
Cat 52, 59, 60
Celiotomia 61
Cólica equina 112, 113
Conservação 28, 75, 76, 93, 104, 105, 106, 109, 110, 111, 127
Corpo estranho 40, 41, 42, 125
Cysts 25, 26, 30, 52, 60

E

Echinococcus 51, 52, 53, 59, 60
Efeito calórico 43
Efeitos ambientais 43
Equino 1, 61, 72, 118
Equinos 1, 2, 61, 72, 76, 77, 112, 113, 117
Esofagotomia 40, 42

Esplenopatia 25

G

Gambá-de-orelhas-pretas 94, 95, 96, 97, 100

H

Homeopatia 105

Hydatidosis 52

I

ICSI 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78

Ictiopatologia 25, 27

Impactação 61

Injeção intracitoplasmática de espermatozoide 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78

J

Jabuti-piranga 63, 64, 66, 68

L

Lumbar vertebral micro-structure 4

M

Medicação homeopática 88

Membro torácico 1, 32, 33, 34, 35, 38, 39, 111

N

Nutrição 43, 67, 109, 127

O

Opoterapia 94

Osteoporosis 3, 4, 5, 6, 7, 16, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 24

Ozonioterapia 112, 113, 114, 117, 118, 125

P

Pancitopenia 79, 80, 84

R

Radiografia 1, 40, 105, 108

Reabilitação 88, 90, 92, 93, 104

Resistência à ivermectina 94

S

Sarna sacóptica 94

Serum bone turnover markers 4, 7, 11, 15

Sheep 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 52

T

Tainha 25

Tendinite equina 1, 2

Terapia celular 79, 81, 82, 83

Tigres-d'água 63, 64, 65

V

Veado-vermelho 104, 105

Z

Zoonosis 51, 52, 55, 56, 57



REFERÊNCIAS, MÉTODOS E TECNOLOGIAS ATUAIS NA MEDICINA VETERINÁRIA 2

 www.atenaeditora.com.br

 contato@atenaeditora.com.br

 [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)

 www.facebook.com/atenaeditora.com.br


Ano 2021



REFERÊNCIAS, MÉTODOS E TECNOLOGIAS ATUAIS NA MEDICINA VETERINÁRIA 2

 www.atenaeditora.com.br

 contato@atenaeditora.com.br

 @atenaeditora

 www.facebook.com/atenaeditora.com.br


Ano 2021