



XV ENAPAVE – ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA
I CBPV – CONGRESSO BRASILEIRO DE PATOLOGIA VETERINÁRIA
V SIMPÓSIO BRASILEIRO DA CL DAVIS FOUNDATION

CENTRO DE CONVENÇÕES
GOIÂNIA, GO

PROGRAMAÇÃO CIENTÍFICA

26/09/11 - Segunda-feira		
Horário	Local	Atividade
15:30 às 18:30	Área de exposição	Inscrições e entrega de material*
19:00 às 19:30	Auditório Lago Azul	Cerimônia de abertura
19:30 às 20:30	Auditório Lago Azul	Palestra Magistral A evolução da Patologia Veterinária no Brasil <i>Claudio Severo Lombardo de Barros - UFSM, Santa Maria, RS</i>
20:30 às 23:00	Área de exposição	Coquetel

*No dia 26/09 (2ª feira), as atividades da secretaria executiva do evento encerrar-se-ão pontualmente às 18h30min, para evitar atrasos na programação. Nos demais dias, o funcionamento ocorrerá nos seguintes períodos: 8h00min às 10h00min e 14h00min às 16h00min.

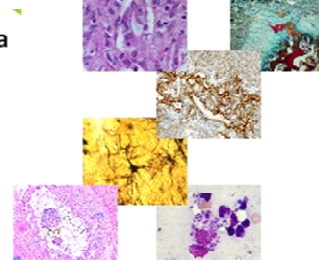
27/09/11 - terça-feira

Horário	Local	Atividade
8:30 às 10:00	Sala 1	Minicurso I - Citopatologia Veterinária Aplicação do citodiagnóstico na Medicina Veterinária <i>Noeme Sousa Rocha - FMVZ/UNESP, Botucatu, SP</i>
	Sala 2	Minicurso II - Patologia de aves domésticas e selvagens <i>H.L. Shivaprasad - UC Davis School of Veterinary Medicine, USA</i> <u>Palestra com tradução simultânea</u>
	Sala 3	Minicurso III - Introdução à patologia toxicológica experimental e industrial Associação Latino-Americana de Patologia Toxicológica <i>Carla Adriene da Silva Franchi - FM/UNESP/Botucatu, SP</i> Introdução à patologia toxicológica industrial e ao desenvolvimento de fármacos <i>Evelyne Polack - Biogen Idec, USA</i>
10:00 às 10:30	Intervalo para café e prosa	
10:30 às 12:00	Sala 1	Minicurso I - Citopatologia Veterinária Aplicação do citodiagnóstico na Medicina Veterinária <i>Noeme Sousa Rocha - FMVZ/UNESP, Botucatu, SP</i>
	Sala 2	Minicurso II - Patologia de aves domésticas e selvagens <i>H.L. Shivaprasad - UC Davis School of Veterinary Medicine, USA</i> <u>Palestra com tradução simultânea</u>
	Sala 3	Minicurso III - Introdução à patologia toxicológica experimental e industrial Toxicopatologia experimental: Aspectos éticos da experimentação animal e modelos para detecção do potencial cancerígeno de agentes químicos <i>Carla Adriene da Silva Franchi - FM/UNESP/Botucatu, SP</i> Papel do toxicopatologista veterinário na indústria farmacêutica <i>Evelyne Polack - Biogen Idec, USA</i>
8:30 às 12:00 - Área de exposição - pôsteres/stands		
12:00 às 14:00	Intervalo para almoço	
14:00 às 15:30	Sala 1	Palestra - Patologia de suínos Processo diagnóstico das enfermidades de suínos <i>Roberto Maurício de Carvalho Guedes - EV/UFGM, Belo Horizonte, MG</i>
	Sala 2	Palestra - Biologia molecular Patologia molecular: novas fronteiras para o diagnóstico e pesquisa em patologia <i>Renato de Lima Santos - EV/UFGM, Belo Horizonte, MG</i>
	Sala 3	Palestra - Ensino em Patologia Veterinária Perspectivas e desafios no ensino de Patologia Veterinária <i>Paulo César Maiorka - FMVZ/USP, São Paulo, SP</i>
15:30 às 16:00	Intervalo para café e prosa	
16:00 às 17:30	Sala 1	Palestra - Patologia de suínos Processo diagnóstico das enfermidades de suínos <i>Roberto Maurício de Carvalho Guedes - EV/UFGM, Belo Horizonte, MG</i>
	Sala 2	Palestra - Biologia molecular Biologia molecular aplicada ao diagnóstico oncológico <i>Renée Laufer Amorim - FMVZ/UNESP, Botucatu, SP</i>
	Sala 3	Palestra - Patologia forense Entomologia cadavérica: quando os insetos ajudam a resolver crimes <i>Raimundo Alberto Tostes - UFPR, Palotina, PR</i>
14:00 às 17:30 - Área de exposição - pôsteres/stands		

28/09/11 - quarta-feira		
Horário	Local	Atividade
8:30 às 10:00	Sala 1	Minicurso I - Citopatologia Veterinária Dennis De Nicola - Chief Veterinary Educator at IDEXX Laboratories, USA <u>Palestra com tradução simultânea</u>
	Sala 2	Minicurso II - Patologia de aves domésticas e selvagens H.L. Shivaprasad - UC Davis School of Veterinary Medicine, USA <u>Palestra com tradução simultânea</u>
	Sala 3	Minicurso III - Introdução à patologia toxicológica experimental e industrial Técnicas de necropsia e alterações macroscópicas e microscópicas incidentais em roedores e coelhos - Márcia Elisa Pereira - Histo-Scientific Research Laboratories, USA
10:00 às 10:30	Intervalo para café e prosa	
10:30 às 12:00	Sala 1	Minicurso I - Citopatologia Veterinária Dennis De Nicola - Chief Veterinary Educator at IDEXX Laboratories, USA <u>Palestra com tradução simultânea</u>
	Sala 2	Minicurso II - Patologia de aves domésticas e selvagens H.L. Shivaprasad - UC Davis School of Veterinary Medicine, USA <u>Palestra com tradução simultânea</u>
	Sala 3	Minicurso III - Introdução à patologia toxicológica experimental e industrial Técnica de necropsia e processamento histológico do sistema nervoso em estudos toxicológicos (roedores, cães e primatas) - Ingrid Pardo - Pfizer, USA Técnicas de necropsia e alterações macroscópicas e microscópicas incidentais em cães e primatas - Márcia Elisa Pereira - Histo-Scientific Research Laboratories, USA
8:30 às 12:00 - Área de exposição - pôsteres/stands		
12:00 às 14:00	Intervalo para almoço	
14:00 às 15:30	Sala 1	Palestra - Neuropatologia de pequenos animais Epidemiologia, sinais clínicos e características patológicas das principais doenças neurológicas de cães e gatos Rafael Almeida Fighera - UFSM, Santa Maria, RS
	Sala 2	Palestra - Patologia de animais silvestres Doenças e biodiversidade: o que podemos aprender com o mico-leão preto de buri? José Luiz Catão Dias - FMVZ/USP, São Paulo, SP
	Sala 3	Palestra - Dermatopatologia veterinária A importância da determinação do padrão lesional macroscópico e microscópico no diagnóstico das dermatopatias Juliana Werner - Laboratório Werner & Werner, Curitiba, PR
15:30 às 16:00	Intervalo para café e prosa	
16:00 às 17:30	Sala 1	Palestra - Neuropatologia de grandes animais Principais doenças neurológicas de bovinos, equinos e ovinos no Brasil Claudio Severo Lombardo de Barros - UFSM, Santa Maria, RS
	Sala 2	Palestra - Patologia de animais silvestres Fisiopatologia da fibropapilomatose em tartarugas marinhas Eliana Reiko Matushima - FMVZ/USP, São Paulo, SP
	Sala 3	Palestra - Histoquímica e imunoistoquímica em Patologia Veterinária Problemas e soluções em histoquímica, histoquímica com lectinas, imunoistoquímica e microscopia de fluorescência confocal: um relato de 20 anos de experiência Eduardo Juan Gimeno, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina
14:00 às 17:30 - Área de exposição - pôsteres/stands		
17:45 às 19:45	A definir	Assembleia Geral da ABPV

29/09/11 - quinta-feira		
Horário	Local	Atividade
8:00 às 10:00	Auditório Lago Azul	Palestra – Enfermidades parasitárias Interesting parasite cases from the registry of Veterinary Pathology, Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C. <i>Chris H. Gardiner – Department of Veterinary Pathology – AFIP, USA</i> <u>Palestra com tradução simultânea</u>
10:00 às 10:30	Intervalo para café e prosa	
10:30 às 12:00	Auditório Lago Azul	Fórum de Lâminas
8:00 às 12:00 - Área de exposição - pôsteres/stands		
12:00 às 14:00	Intervalo para almoço	
14:00 às 15:30	Auditório Lago Azul	V SIMPÓSIO CL DAVIS FOUNDATION Identification of protozoan and metazoan parasites in histological section with an extra lecture on fixation of parasites during necropsies <i>Chris H. Gardiner – Department of Veterinary Pathology – AFIP, USA</i>
15:30 às 16:00	Intervalo	
16:00 às 18:00	Auditório Lago Azul	V SIMPÓSIO CL DAVIS FOUNDATION Identification of protozoan and metazoan parasites in histological section with an extra lecture on fixation of parasites during necropsies <i>Chris H. Gardiner – Department of Veterinary Pathology – AFIP, USA</i>
14:00 às 18:00 - Área de exposição - pôsteres/stands		
20:00 às 24:00	Jantar de confraternização (por adesão) – Lancaster Buffet e Eventos	

30/09/11 - sexta-feira		
Horário	Local	Atividade
8:30 às 10:00	Sala 1	Minicurso I - Citopatologia Veterinária <i>Dennis De Nicola - Chief Veterinary Educator at IDEXX Laboratories, USA</i> <u>Palestra com tradução simultânea</u>
	Sala 2	Minicurso II - Patologia de aves domésticas e selvagens <i>H.L. Shivaprasad - UC Davis School of Veterinary Medicine, USA</i> <u>Palestra com tradução simultânea</u>
	Sala 3	Minicurso III - Introdução à patologia toxicológica experimental e industrial Enfermidades e lesões espontâneas do sistema nervoso de roedores (ratos e camundongos) que podem afetar estudos toxicológicos - <i>Ingrid Pardo - Pfizer, USA</i> Enfermidades e lesões espontâneas do sistema nervoso de cães e primatas que podem afetar estudos toxicológicos - <i>Ingrid Pardo - Pfizer, USA</i>
10:00 às 10:30	Intervalo para café e prosa	
10:30 às 12:00	ENTREGA DO PRÊMIO JEFFERSON ANDRADE DOS SANTOS E ENCERRAMENTO	
8:30 às 12:00 - Área de exposição - pôsteres/stands		



CORPO DE RELATORES DOS COMITÊS CIENTÍFICO E DE NORMATIZAÇÃO

Adriano Tony Ramos	UFT
Alessandra Aparecida Medeiros	UFU
Ana Paula Iglesias Santin	UFG
Antonio Carlos Alessi	UNESP - Jaboticabal
David Driemeier	UFRGS
Elan Cardozo Paes de Almeida	UFF
Eliana Reiko Matushima	FMVZ – USP
Fabiana Lessa Silva	UESC
Fabiano José Ferreira de Santana	UFG Jataí
Geovanni Dantas Cassali	UFMG
Giovana Wingeter Di Santis	UEL
Helder Esteves Thomé	UNIFEOB
José Luiz Catão Dias	FMVZ – USP
Lilian Rose Marques de Sá	FMVZ – USP
Liliana Borges de Menezes	UFG
Louisiane de Carvalho Nunes	UFES
Luiz Augusto Batista Brito	UFG
Marcela Marcondes Pinto Rodrigues	UNESP - Botucatu
Maria Cecília Rui Luvizotto	UNESP - Araçatuba
Marina Pacheco Miguel	UFG
Milene Alvarenga Rachid	UFMG
Moema Pacheco Chediak Matos	UFG
Pedro Pinczowski	UNIPINHAL
Raimundo Alberto Tostes	UFPR
Regiani Nascimento Gagno Porto	UFG
Renato de Lima Santos	UFMG
Renée Laufer Amorim	UNESP - Botucatu
Roberto Mauricio Carvalho Guedes	UFMG
Sara Maria de Carvalho e Suzano	UNICASTELO
Tatiane Alves da Paixão	UFMG
Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura	UFG

Paratuberculose em bovinos no Rio Grande do Sul

Juliana S. Brum, Tessie B. Martins, Ricardo B. Lucena, Paula Roberta Giaretta, Bianca Tessele, Claudio S. L. Barros

Universidade Federal de Santa Maria, Laboratório de Patologia Veterinária, Avenida Roraima, 1000, prédio 97B, Campus Universitário, Bairro Camobi, Santa Maria, RS, CEP 97105-900, telefone: (55) 3220-8168, e-mail:

julianasbrum@yahoo.com.br

Identificação do animal: bovino, fêmea, Holandês, 3 anos

Histórico: a doença ocorreu em uma fazenda que possui cerca de 600 bovinos de leite, holandês, 280 desses são vacas em lactação, 140 delas importadas do Uruguai. Os sinais clínicos incluíam queda abrupta da produção de leite, diarreia crônica e intermitente e emagrecimento ao longo de semanas. Foram relatadas quatro mortes de bovinos com esses sinais clínicos, um dos quais foi submetido à eutanásia e necropsiado. Duas vacas permanecem na propriedade com os sinais clínicos. O proprietário adota o manejo que é aspergir o estrume das vacas no campo onde pastam todos os bovinos (incluindo os terneiros) da propriedade. No passado, casos de tuberculose foram diagnosticados em bovinos da propriedade.

Descrição macroscópica: alterações na necropsia incluíam péssimo estado corporal, edema do mesentério, principalmente do mesocólon. A serosa intestinal era levemente opaca e edematosa. A parede do intestino, principalmente do íleo estava espessada. A mucosa dessas áreas era corrugada, espessa, moderadamente hiperêmica e com dobras transversais que não podiam ser desfeitas manualmente. A válvula ileocecal estava aumentada de volume e rugosa. A superfície de corte dos linfonodos mostrava a cortical espessada, brancacenta e nodular. Os linfonodos hepáticos e mesentéricos estavam aumentados. Ao corte fluía pequena quantidade de líquido levemente brancacento podiam ser observadas áreas brancas e salientes. Os vasos linfáticos da serosa intestinal estavam proeminentes e tortuosos.

Descrição histopatológica: nas seções de íleo e cólon examinadas há acentuado infiltrado inflamatório composto predominantemente por macrófagos, células epitelioides e células

gigantes, e uma menor quantidade de plasmócitos e linfócitos (Figura 1). Esse infiltrado é observado em maior quantidade na lâmina própria e na submucosa. Nas camadas musculares o infiltrado é preferencialmente perivascular e composto por linfócitos, macrófagos e plasmócitos. As placas de Peyer estão hiperplásicas e, por vezes, fundem-se formando um extenso manto celular. Em algumas delas há necrose central. Nas secções de jejuno e íleo submetidas à coloração de Ziehl-Neelsen foram observados bacilos álcool-ácido resistentes no interior de macrófagos e células gigantes (Figura 2). Nos fragmentos de jejuno e ceco examinados há infiltrado inflamatório semelhante ao descrito anteriormente, porém com menor intensidade. Linfonodo hepático – observam-se aglomerados de células inflamatórias, predominando macrófagos, células epitelioides e células gigantes tipo Langhans (Figura 3). Esses aglomerados são observados nos seios marginais, perinodulares e na zona paracortical. A grande maioria dos centros germinativos está substituída por infiltrado semelhante ao descrito anteriormente. Há dilatação dos cordões medulares. Na cápsula há focos de infiltrado inflamatório linfo-histiocítico. Em cortes submetidos à coloração de Ziehl-Neelsen foram observados bacilos álcool-ácido resistentes no interior de macrófagos e de células gigantes (Figura 4). No fígado (não submetido) observam-se áreas multifocais aleatórias de necrose de hepatócitos, associadas a discreto infiltrado inflamatório composto por macrófagos, linfócitos e plasmócitos. Nestas áreas também há focos de hemorragia. No citoplasma de alguns hepatócitos da região cetrolobular há pequenos e numerosos vacúolos (degeneração microvacuolar).

Diagnóstico morfológico:

- 1) Intestino delgado (íleo), enterite granulomatosa, difusa acentuada com células gigantes contendo numerosos bacilos álcool-ácido resistentes intra-histiocitários, bovino, fêmea, Holandês, 3 anos.
- 2) Linfonodo (hepático), linfadenite granulomatosa, difusa acentuada com células gigantes associadas a numerosos bacilos álcool-ácido resistentes intra-histiocitários, bovino, fêmea, Holandês, 3 anos.

Comentários: o diagnóstico de paratuberculose foi baseado nos sinais clínicos, achados de necropsia, histopatologia e visualização de bactérias álcool-ácido na coloração especial de Ziehl-Neelsen.

A paratuberculose ou doença de Johne tem distribuição mundial e afeta,

principalmente, bovinos, mas tem sido descrita em bubalinos, ovinos, caprinos, ruminantes selvagens, equinos, suínos, lebres, raposas e roedores. Em todas as espécies acometidas, os animais podem ser portadores subclínicos da doença, sendo esta a principal forma de introdução da doença em um rebanho. Embora considerada uma doença esporádica no Brasil, tem sido relatada em vários estados, geralmente em bovinos importados ou em sua progênie. Também há relatos em ovinos, caprinos e bubalinos. O primeiro relato no Brasil se deu em 1915, porém, a primeira publicação científica ocorreu somente em 1956, no Rio de Janeiro, em um touro importado.

A transmissão ocorre pelo consumo de pastagens e outros alimentos contaminados com fezes de animais infectados ou pela via intrauterina. O período de incubação é, geralmente, de dois anos ou mais. Alguns animais desenvolvem a enfermidade; outros conseguem eliminar o agente; e outros ainda, não adoecem, mas permanecem como portadores assintomáticos. Estima-se que em um rebanho onde a porcentagem de doença clínica é em torno de 5%, tem-se uma porcentagem de 50% de animais infectados.

Foi demonstrado que *map* pode ser encontrada no leite, mesmo pasteurizado, de casos subclínicos de paratuberculose. Isso tem implicância em saúde pública, pois há indicações entre *map* e a doença de Crohn em humanos. O modo mais comum de transmissão da paratuberculose é pelo leite da vaca para o terneiro recém-nascido. É sugerido que neste surto a transmissão da doença possa ter sido facilitada pela prática de aspergir as fezes das vacas da propriedade na pastagem.

Na doença de Johne observa-se diarreia crônica e intermitente, acompanhada de emagrecimento progressivo. Os bovinos acometidos estão em péssimo estado corporal devido à má absorção de nutrientes, consequência da enterite granulomatosa. Os sinais clínicos observados na paratuberculose não são específicos. Várias doenças que afetam o intestino e provocam diarreia crônica produzem sinais semelhantes. Desta maneira podemos considerar como diagnóstico diferenciais, entre outras, parasitoses intestinais, salmonelose e deficiência de cobre. O quadro da doença em búfalos não difere do observado em bovinos. Em ovinos e caprinos raramente se observa diarreia.

As lesões observadas macroscopicamente são características da paratuberculose. A enterite proliferativa observada é caracterizada por mucosa intestinal espessada e irregular, com dobras bem evidentes. As lesões ocorrem principalmente nas porções terminais do intestino delgado, válvula ileocecal, ceco e porção inicial do cólon. As dobras observadas no intestino não desaparecem quando este é esticado. Isto é importante para se diferenciar da

persistência do peristaltismo que ocorre logo após a morte, onde as dobras são facilmente desfeitas. As lesões podem estar presentes também nos linfonodos mesentéricos e no fígado. Histologicamente estas lesões caracterizam-se por uma reação granulomatosa. Há acentuada infiltração por macrófagos, células epitelioides, células gigantes, linfócitos e plasmócitos. As lesões são observadas na mucosa e lâmina própria do intestino, nos linfonodos e no fígado. Porém nem sempre todas as lesões estão presentes em um mesmo animal ou podem ser pouco evidentes à necropsia.

O diagnóstico baseia-se dos sinais clínicos e não oferece dificuldades. Isolamento de *map* das fezes ou material de necropsia pode ser realizado. As bactérias álcool-ácido resistentes podem ser visualizadas mediante a coloração de Ziehl-Neelsen em esfregaços de fezes, rapados das porções finais do intestino e em cortes histológicos. Nos casos subclínicos, além do isolamento da bactéria das fezes e do leite, provas sorológicas PCR ou testes alérgicos podem ser realizados. Estes últimos são realizados devido à ocorrência de reações cruzadas com a tuberculose bovina.

Após o diagnóstico deste caso, foram realizados testes alérgicos cervicais comparativos (TCC) em 164 vacas em lactação da propriedade, utilizando tuberculina bovina (TB) e aviária (TA), produzidas conforme preconizado. Treze vacas mostraram reação para TA aumentada. Esse teste, embora não específico para *Mycobacterium avium* subesp. *Paratuberculosis*, pode ser usado como um indicador de infecção por alguma subespécie de *Mycobacterium avium* ou micobactérias atípicas. Os resultados deste relato apoiam a impressão de que a doença esteja disseminada em nosso estado. Isso pode ter interferência nos testes alérgicos usados para o controle da tuberculose, pois pelas normas do programa alguns bovinos com reação para TB são considerados negativos para tuberculose, caso apresentem uma reação proporcional a TA no teste cervical comparativo, embora essa última possa indicar casos de paratuberculose.

O controle da doença é difícil. Isso ocorre devido ao longo período de incubação e pela dificuldade em identificar todos os animais infectados. Testes periódicos devem ser realizados no rebanho por um período mínimo de três anos. Como não existem vacinas e tratamentos eficazes, acredita-se que pode se tornar um sério problema sanitário no país.

Referências consultadas:

DRIEMEIER, D. et al., Aspectos clínicos e patológicos da paratuberculose em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 19:109-115, 1999.

LILENBAUM, W. et al., Interference of tuberculosis on the performance of ELISAs used in the diagnosis of paratuberculosis in cattle, **Brazilian Journal of Microbiology**, 38:472-477, 2007.

MOTA, R. A. et al., Ocorrência de paratuberculose em búfalos (*Bubalus bubalis*) em Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 30:237-242, 2006.

NORTON, S., Evaluation of diagnostic tests for Johne's disease (*Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*) in New Zealand dairy cows, **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, 22:341-351, 2010.

RAMOS, E.T. et al., Paratuberculose em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, **A Hora Veterinária**, 34: 28-32, 1986.

RIET-CORREA, F. & DRIEMEIER, D. Doenças Bacterianas. In: RIET-CORREA et al, **Doenças de Ruminantes de Eqüídeos**, 3ed., v.2, Santa Maria: Pallotti, 2007.

OLIVEIRA, D. M. et al., Paratuberculose em caprinos e ovinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 30: 67-72, 2010.

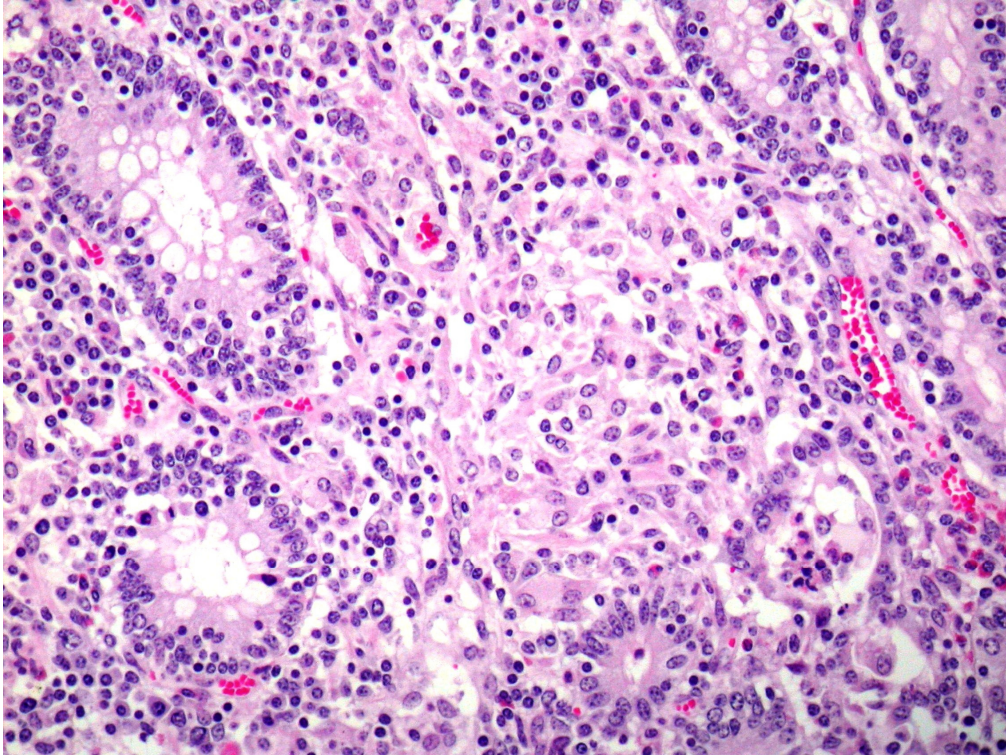


Figura 1 – Intestino delgado (jejuno), bovino. Observa-se acentuado infiltrado inflamatório composto predominantemente por macrófagos, células epitelioides e células gigantes, e uma menor quantidade de plasmócitos e linfócitos. (HE, 100x)

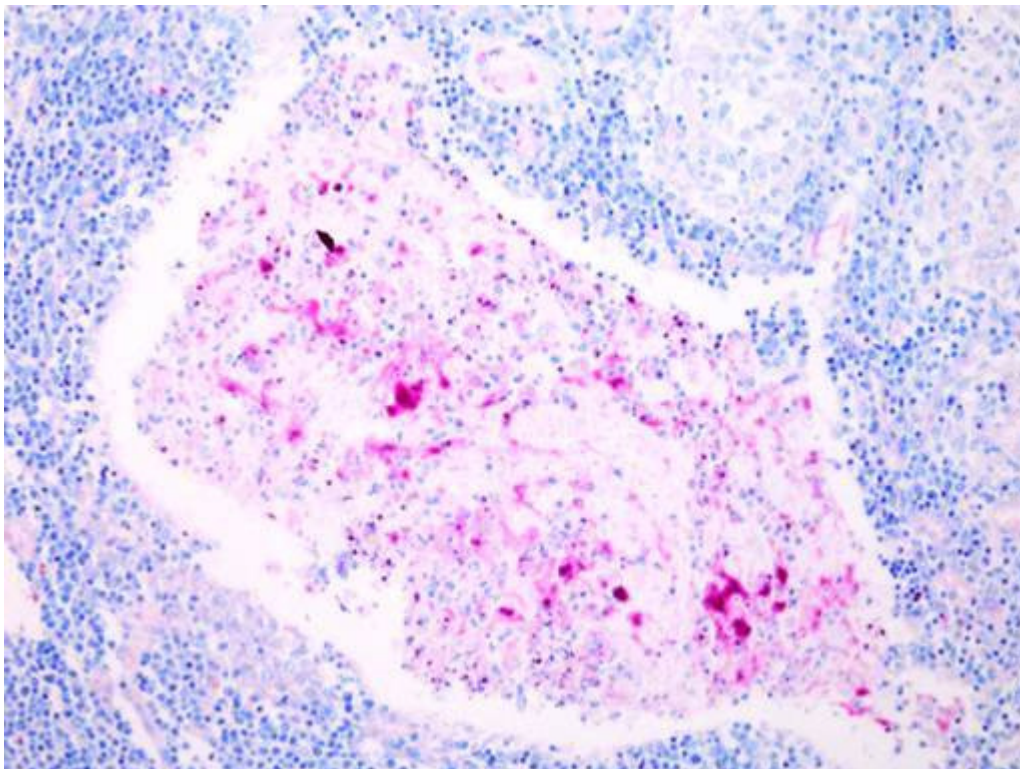


Figura 2 – Intestino delgado (jejuno), bovino. Nas secções de jejuno submetidas à coloração de Ziehl-Neelsen foram observados bacilos álcool-ácido resistentes no interior de macrófagos e células gigantes, corados fortemente em rosa. (Ziehl-Neelsen, 20x)

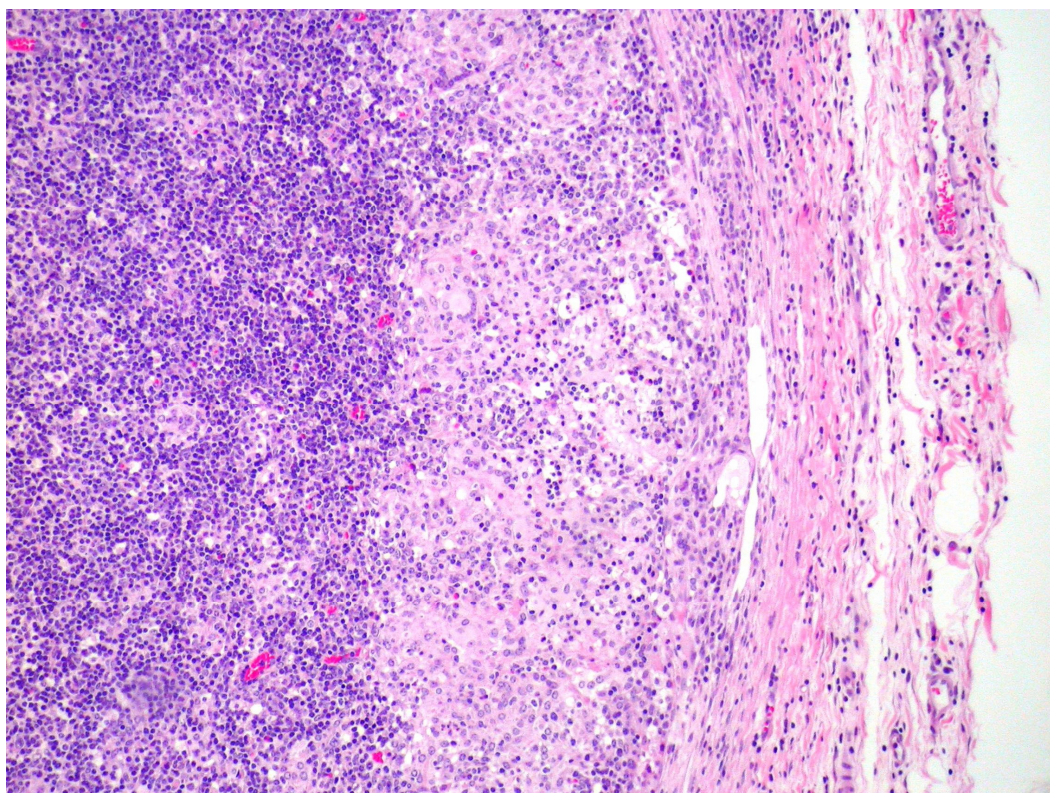


Figura 3 – Linfonodo hepático, bovino. No seio marginal observam-se aglomerados de células inflamatórias, predominando macrófagos, células epitelioides e células gigantes tipo Langhans. (HE, 10x)

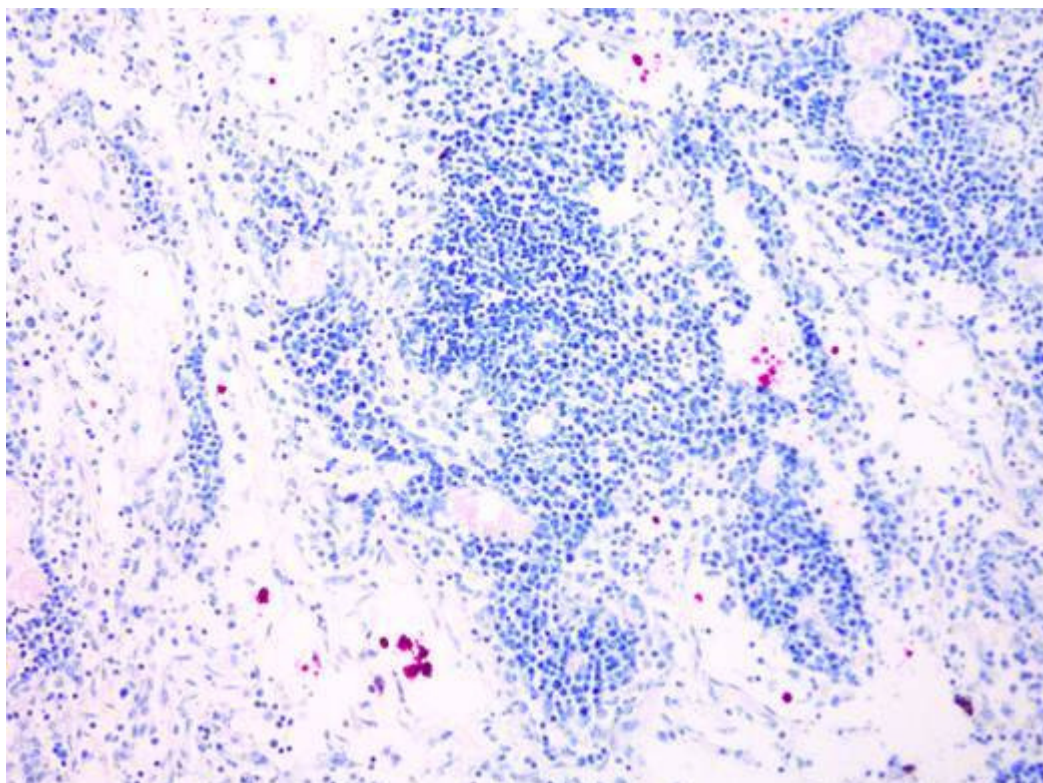


Figura 3 – Linfonodo hepático, bovino. Em cortes submetidos à coloração de Ziehl-Neelsen foram observados bacilos álcool-ácido resistentes no interior de macrófagos e de células gigantes, corados fortemente em rosa. (Ziehl-Neelsen, 20x)

Intoxicação crônica por cobre em um carneiro

Tessie B. Martins, Juliana S. Brum, Ricardo B. Lucena, Claudio S. L. Barros

Universidade Federal de Santa Maria. Laboratório de Patologia Veterinária
Avenida Roraima, 1000, prédio 97B, Campus Universitário, Bairro Camobi, Santa Maria – RS, CEP
97105-900 Telefone: (55)3220-8168. E-mail: tessiemartins@via-rs.net

Identificação do animal: Ovino (*Ovis aries*), macho não-castrado, Texel, 1 ano

Histórico: O carneiro estava sendo preparado para exposição e recebia alimentação à base de alfafa e ração comercial. Não havia controle sobre a composição da ração, dosagem de metais e minerais. O proprietário relatou apatia, anorexia e anúria desde 12/06 e encaminhou o animal ao hospital veterinário da UFSM em 15/06, quando foram observados sinais clínicos de apatia, anorexia, anúria, taquicardia, taquipneia, ausência de movimentos ruminais, sialorreia e icterícia. O carneiro permanecia em estação, com a cabeça apoiada na mureta da baía e, quando movimentado, demonstrava incoordenação leve.

Exames complementares: O hemograma demonstrou anemia hemolítica grave com indícios de regeneração, diminuição marcada do número de eritrócitos e hemoglobinemias (Tabela 1). O painel bioquímico revelou dano hepático acentuado, com elevação da atividade sérica das enzimas AST (indicativo de necrose hepática) e GGT (indicativo de colestase). Os valores excepcionalmente altos de ureia e creatinina configuraram quadro de azotemia, que sugeriu insuficiência renal grave, com comprometimento de, no mínimo, 75% do parênquima renal (Tabela 2).

Após a necropsia foi realizada dosagem de cobre em amostras de fígado e rim, a qual resultou nas concentrações de 1055 ppm (fígado, matéria seca) e 54,4 ppm (rim, matéria seca). A dosagem foi realizada por espectrofotometria de absorção atômica.

Com base na história clínica e nos resultados de laboratório descritos acima, um diagnóstico clínico de intoxicação crônica por cobre foi estabelecido. Devido ao estado clínico grave e ao prognóstico desfavorável para esta condição, o carneiro foi submetido à eutanásia com tiopental e solução superconcentrada de cloreto de sódio.

Descrição macroscópica: O cadáver estava em ótima condição corporal. Todas as mucosas externamente visíveis (oral, ocular e peniana) estavam acentuadamente amarelas (icterícia), bem como o tecido subcutâneo e as fáscias musculares. O fígado apresentava-se difusamente alaranjado e friável, com acentuação do padrão lobular ao corte. Quando fixado em formol, o tecido adquiriu coloração verde intensa. Os rins estavam marcadamente marrom-escuros e demonstram aspecto metalizado e fino pontilhado enegrecido. Ao corte, ambas as camadas cortical e medular estavam comprometidas. A bexiga continha 600 ml de líquido marrom escuro, semelhante a vinho do Porto. O baço estava levemente aumentado de volume, com superfície de corte carnosa e exangue.

Descrição histopatológica: Rim: As lesões estão basicamente restritas aos túbulos, com comprometimento adicional leve dos glomérulos. As células epiteliais dos túbulos proximais têm o citoplasma ricamente vacuolizado e repleto de pigmento granular marrom-dourado (Figura 1); parte dele cora pelo azul da Prússia (hemossiderina) (Figura 2). Ocasionalmente, as células estão individualizadas e redondas e destacadas da membrana basal e células vizinhas. O citoplasma destas células é compacto e fortemente eosinofílico e o núcleo, quando visível, pequeno e hipercromático (degeneração e necrose pontuais). Alguns túbulos têm, em contrapartida, grupos de células com núcleos vesiculosos, acentuadamente grandes e polimórficos (indícios de regeneração). Na luz dos túbulos há pequena quantidade de material eosinofílico amorfo (proteína) e células epiteliais descamadas (Figura 3). Os túbulos distais estão difusamente conspícuos e exibem dilatação marcada (Figura 4), com degeneração e necrose epitelial multifocal mais acentuada que os primeiros. A luz comumente contém células esfoliadas, detritos celulares e neutrófilos. Além disso, há grande quantidade de material amorfo alaranjado (hemoglobina) na forma de grânulos grosseiros que, quando aglutinados formam cilindros densos, de aspecto refrangível (Figuras 5 e 6). Os cilindros de hemoglobina são bastante numerosos, e se concentram principalmente na camada medular interna do rim, onde são vistos também na luz de túbulos coletores. Adicionalmente, há focos esparsos de mineralização tubular. Alguns glomérulos têm o espaço de Bowman parcialmente ocupado por material proteináceo. Fígado (não submetido): há marcadas degeneração e necrose dos hepatócitos centro-lobulares, com rarefação do parênquima nesses locais. Boa parte dos hepatócitos tem o citoplasma substituído por vacúolos múltiplos, de tamanhos diversos, que circundam o núcleo (degeneração hidrópica). Alguns hepatócitos estão destacados dos demais, pequenos, com citoplasma intensamente eosinofílico e núcleo encarquilhado e hipercromático ou fragmentado (apoptose). Por todo o parênquima, mas

principalmente no centro dos lóbulos, há grande quantidade de material amorfo amarelo e denso no citoplasma de hepatócitos e células de Kupffer. Esse pigmento também é visto no citoplasma dos hepatócitos degenerados previamente descritos. Parte desse pigmento cora pelo azul da Prússia e parte, pelo ácido periódico de Schiff (PAS), o que sugere tratar-se de hemossiderina e uma mistura de ceroide-lipofuscina, respectivamente. Nos canalículos biliares há pequenos cilindros de material amarelado denso (pigmento biliar). Adicionalmente, há focos aleatórios de necrose hepática associados a pigmento biliar e pequenas hemorragias. Baço (não submetido): há grande quantidade de macrófagos com citoplasma repleto de hemossiderina. Encéfalo (não submetido): há vacuolização massiva da substância branca, sob a forma de vacúolos periaxonais grandes, e raros esferoides axonais. As alterações foram mais apreciadas nas seções do bulbo, ponte, tálamo e mesencéfalo e cerebelo. A rarefação do parênquima neural fica evidente também à avaliação macroscópica das seções histológicas coradas por hematoxilina-eosina.

Diagnóstico morfológico:

- 1) Rim, necrose tubular difusa, moderada, associada a material eosinofílico intraluminal e pigmento intracitoplasmático no epitélio tubular, ovino, macho, Texel, 1 ano
- 2) Fígado, degeneração e necrose hepatocelular centrolobular, difusa, acentuada, com colestase, associada a pigmento intracitoplasmático em hepatócitos, ovino, macho, Texel, 1 ano
- 3) Encéfalo, substância branca, degeneração esponjosa multifocal acentuada, ovino, macho, Texel, 1 ano

Diagnóstico etiológico: Hepatopatia e nefropatia tóxicas. Encefalopatia metabólica

Comentários: A intoxicação por cobre é uma doença tóxica, que já foi descrita em todas as espécies domésticas ao redor do mundo e que ocorre nas formas aguda e crônica, geralmente sob forma de surtos.

A intoxicação aguda é rara e ocorre quando há ingestão de grandes quantidades de cobre de uma única vez, o que desencadeia transtornos gastrintestinais devido à propriedade cáustica do mineral. A intoxicação crônica é mais relatada que a forma aguda e, portanto, mais importante como causa de morte em ovinos. A apresentação crônica da intoxicação pode ser (a) primária, causada pelo consumo de alimentos contendo níveis elevados de cobre; (b) fitógena, associada ao consumo de pastagens que contêm níveis normais de cobre e teores

reduzidos de molibdênio; e (c) hepatógena, em que o acúmulo de cobre ocorre em consequência de lesões hepáticas causadas por plantas que contêm alcaloides pirrolizidínicos.

A intoxicação crônica é muito comum e acomete especialmente ovinos, que são considerados os animais mais susceptíveis aos efeitos tóxicos do mineral. Este fato é atribuído a uma maior sensibilidade à captação e menor eficiência na excreção de cobre e, portanto, maior suscetibilidade à intoxicação do que outras espécies.

Há ainda diferenças de suscetibilidade à intoxicação entre as diferentes raças de ovinos; as raças de carne são mais sensíveis que as raças de lã, uma característica provavelmente relacionada à capacidade genética desses animais em absorver o cobre. A raça North Ronaldsay é a mais sensível à intoxicação, seguida pela Texel. A de menor suscetibilidade é a raça Merino, que possui maiores necessidades de cobre e tem maior resistência para sobreviver à crise hemolítica. No Uruguai, não tem sido observada variação de suscetibilidade entre as raças criadas naquele país. No Rio Grande do Sul, a doença tem sido descrita em Corriedale, Romney Marsh, Ideal, Ile de France, Texel e Suffolk. No Nordeste do Brasil, ocorre em diversas raças, como Santa Inês, Morada Nova e Dorper, mas não se sabe se essas são mais susceptíveis que as raças criadas no Sul e Sudeste.

No Rio Grande do Sul, surtos de intoxicação crônica por cobre em ovinos são frequentes e geralmente associados à ingestão excessiva desse elemento através da suplementação alimentar à base de concentrados e/ou à intoxicação por *Senecio brasiliensis*. Num estudo recentemente realizado no RS sobre causas de mortes em 361 ovinos concluiu-se que 5,8% das mortes foram atribuídas à intoxicação por cobre, o que correspondeu a 14% das intoxicações. No nordeste do Brasil, os surtos são associados à intoxicação por *Crotalaria retusa*.

A intoxicação crônica por cobre é caracterizada por duas fases, uma subclínica, durante a qual o cobre se acumula no fígado durante semanas ou meses, e outra fase aguda, em que o cobre liberado na corrente sanguínea causa crise hemolítica e morte num período que varia de 6 horas a 6 dias.

Depois de absorvido sob a forma de sais, 70-90% do cobre é internalizado pelos hepatócitos, onde é armazenado nos lisossomos, redistribuído para a bile, através da qual é excretado, ou utilizado na formação de ceruloplasmina. A excreção ocorre numa taxa menor que 1% do montante ingerido, no caso dos ruminantes, e o restante do mineral fica acumulado no fígado até que os hepatócitos fiquem saturados, sem causar sinais clínicos. Quando os hepatócitos morrem (espontaneamente ou em resposta a estresse ambiental ou mudanças na dieta), ocorre liberação de grandes quantidades de cobre cúprico na corrente sanguínea. O

excesso de cobre na circulação causa desnaturação da hemoglobina e dano oxidativo direto à membrana celular dos eritrócitos com conseqüente hemólise intravascular. A destruição dos eritrócitos de maneira abrupta (crise hemolítica) causa necrose de hepatócitos que libera ainda mais cobre na circulação, gerando um ciclo vicioso de crises hemolíticas e necrose hepática. A crise hemolítica é a responsável pelas lesões de necrose hepática e nefrose hemoglobinúrica que levam o animal à morte quase invariavelmente.

A fase hemolítica da intoxicação pelo cobre geralmente é desencadeada por estímulos nocivos que incluem transporte, mudanças hierárquicas, administração de fármacos oxidativos, inanição ou troca de ambiente, mas o mecanismo que relaciona eventos estressantes à liberação de cobre pelos hepatócitos é desconhecido.

Os sinais clínicos observados na fase aguda da intoxicação incluem depressão, anorexia, fraqueza, taquipneia, ptialismo, hemoglobinúria, icterícia e morte aguda. Achados de necropsia incluem icterícia, rins tumefeitos de cor metálica, urina com cor de vinho do Porto e baço aumentado, com parênquima castanho ou preto e fígado alaranjado e friável. Histologicamente, vê-se, no rim, necrose tubular aguda associada à hemoglobina (nefrose hemoglobinúrica) e, no fígado, necrose hepática centro-lobular, acúmulo de pigmento biliar e macrófagos repletos de pigmento castanho ao redor dos espaços-porta. A histoquímica utilizando o PAS e a rodanina revela que esse pigmento é uma mistura de lipofuscina-ceroide e cobre, respectivamente.

Sabe-se que a hemoglobina por si só não é nefrotóxica. No caso da intoxicação por cobre, os animais afetados geralmente têm isquemia renal secundária a choque hipovolêmico ou anemia grave e a hemoglobinúria pode ter um efeito deletério adicional sobre o epitélio tubular já comprometido pela necrose isquêmica. No entanto, grandes concentrações deste elemento no soro sanguíneo e no filtrado glomerular podem exacerbar a necrose tubular que ocorre como resultado de isquemia.

Há poucos relatos sobre acometimento do sistema nervoso central (SNC) na intoxicação por cobre. A degeneração esponjosa, ou *status spongiosus*, é descrita no encéfalo de ovinos que morrem durante ou após a crise hemolítica. O achado mais frequente é a vacuolização da substância branca, que decorre de edema no citoplasma dos oligodendrócitos. Adicionalmente, alguns animais apresentam satelitose, degeneração neuronal, neuronofagia e presença de astrócitos Alzheimer tipo II no encéfalo e na medula e espinhal. Encefalomalacia foi descrita em uma ocasião. Recentemente foi demonstrada correlação fortemente positiva entre os altos níveis de cobre no fígado e no encéfalo de ovinos intoxicados por cobre e que desenvolveram sinais clínicos e lesões neurológicas. Através de histoquímica ficou

demonstrado acúmulo de cobre no citoplasma de astrócitos tumefeitos. No ovino deste relato, os sinais neurológicos e degeneração esponjosa foram atribuídos à lesão hepática (encefalopatia hepática). Normalmente, substâncias tóxicas são eliminadas quando de sua passagem pelo fígado, o que não ocorre quando há lesão hepática difusa grave com insuficiência hepática. A amônia é considerada a principal substância envolvida na patogênese da encefalopatia hepática, onde a elevada quantidade de amônia no sangue leva ao acúmulo dessa substância no encéfalo e prejudica o metabolismo cerebral, levando ao aparecimento de sinais clínicos. Embora a amônia sérica não tenha sido dosada neste animal, o nível de ureia estava nove vezes acima do limite fisiológico máximo, o que poderia ter causado hiperamonemia.

O quadro clínico, alterações macroscópicas e histológicas juntamente com os dados epidemiológicos sugerem o diagnóstico presuntivo. O diagnóstico pode ser confirmado através da determinação dos níveis do mineral no alimento (sendo a concentração limite de 16 mmol de cobre/kg) ou nos tecidos do animal (plasma e soro sanguíneos, fígado e rim). A concentração normal de cobre no plasma varia de 13 a 20 $\mu\text{mol/L}$ (0,8 a 1,2 $\mu\text{g/mL}$). Os valores aceitáveis para o soro variam de 0,6 e 1,5 $\mu\text{mol/L}$ (0,6 a 1,5 ppm). Concentrações plasmáticas entre 2,4 e 20 $\mu\text{g/mL}$ (2,4 a 20 ppm) são diagnósticas de toxicose aguda. A concentração normal de cobre no fígado é de 173 ± 130 ppm (média \pm SD) e 129 ± 59 ppm (matéria seca) para adultos e cordeiros, respectivamente. As concentrações para matéria úmida são de 429 ± 249 ppm. No caso do rim, concentrações de 15 e 50 ppm para matéria seca e úmida, respectivamente, são observadas durante a crise hemolítica.

As concentrações de cobre no fígado e no rim, quando consideradas em conjunto, são o indicador mais confiável para o diagnóstico de intoxicação por cobre em animais mortos. Em animais vivos o diagnóstico pode ser realizado pelo estudo da patologia clínica ou pela determinação de cobre em biópsias hepáticas.

Os diagnósticos diferenciais para hemoglobinúria em ovinos incluem leptospirose (*Leptospira interrogans* serovares *pomona*, *icterohemorrhagica* e *hardjo*), babesiose (*Babesia ovis* e *B. motasi*), hemoglobinúria bacilar (caráter experimental) e intoxicação por plantas dos gêneros *Brassica* (*B. napus*, nabo; *B. oleracea* sps., couve e repolho), *Allium* (ex. cebola) e *Quercus* (carvalho). Hemoglobinúria também é descrita como parte da doença do cordeiro amarelo, entidade que tem sido relatada em diversos países que não o Brasil e que é atribuída ao agente *Clostridium perfringens* tipo A.

A diferenciação entre as doenças listadas pode ser facilmente realizada através do histórico clínico do animal, combinação das lesões macroscópicas e microscópicas do rim

com os demais órgãos, demonstração dos agentes infecciosos nos casos pertinentes, tanto através de achados histológicos quando de técnicas microbiológicas e moleculares e determinação dos níveis de cobre a partir de tecidos do animal, como descrito previamente.

Tabela 1 – Hemograma (valores de referência entre parênteses*)

Hemograma					
Eritrócitos ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	3,58	(9-15)	HCM (pg)	15,36	8-12
Hemoglobina (g/dL)	5,50	(9-15)	CHCM (%)	30,90	(31-34)
Hematócrito (%)	17,80	(27-45)	RDW (Índice de anisocitose)	32,60	(11-14)
VCM (fl)	49,70	(28-40)			

*SMITH, B. P. Large animal internal medicine. 4.ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2009

Tabela 2 – Painel bioquímico

Parâmetro	Unidade	Resultado	Valores de referência*
Aspartato aminotransferase (AST)	U/L	3.300	60-280
γ -glutamilttransferase (GGT)	U/L	600	40-94
Creatinina	mg/dL	17	1,2-1,9
Ureia	mg/dL	500	8-20
Proteína sérica	g/dL	10	6,0-7,9

*SMITH, B. P. Large animal internal medicine. 4.ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2009

Referências consultadas:

MÉNDEZ, M. C.; RIET-CORREA, F. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. **Doenças dos ruminantes e eqüinos**. 3.ed. Santa Maria: Palloti, p. 62-68. 2007.

ALEMAN, M.; CARLSON, G. P. Diseases of the hematopoietic and hemolympathic systems. In: SMITH, B. P. **Large animal internal medicine**. 4.ed. St. Louis: Mosby Elsevier, p. 1144-1188. 2009.

BELKNAP, E. B.; PUGH, D. G. Diseases of the urinary system. In: Pugh, D. G. **Sheep and goat medicine**. Philadelphia: Saunders, p. 255-276. 2002.

BOZYNSKI, C. C.; EVANS, T. J.; DAE, Y. K.; JOHNSON, G. C.; HUGHES-HANKS, J. M.; MITCHELL, W. J.; ROTTINGHAUS, G. E.; PERRY, J.; MIDDLETON, J. R. Copper toxicosis with hemolysis and hemoglobinuric nephrosis in three adult Boer goats. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Athens, v. 21, p. 395-400, 2009.

DOHERTY, P. C.; BARLOW, R. M.; ANGUS, K. W. Spongy changes in the brains of sheep poisoned by excess dietary copper. **Research in Veterinary Science**, London, v. 10, n. 3, p. 303-304, 1969.

FIGHERA, R. A.; GRAÇA, D. L. Sistema hematopoiético. In: SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. **Patologia veterinária**. São Paulo: Roca, p. 337-422. 2010.

GIADINIS, N. D.; PAPAIOANNOU, N.; KRITSEPI-KONSTANTINOU, M.; ROUBIES, N.; RAIKOS, N.; KARATZIAS, H. Acute encephalopathy and clinical pathology findings in a sheep with chronic copper poisoning. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, Istanbul, v. 33, n. 4, p. 363-366, 2009.

HAYWOOD, S.; PARIS, J.; RYVAR, R.; BOTTERON, C. Brain copper elevation and neurological changes in North Ronaldsay sheep: a model for neurodegenerative disease? **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 139, p. 252-255, 2008.

HOWELL, J. MCC.; BLAKEMORE, W. F.; GOPINATH, C.; HALL, G. A. Chronic copper poisoning and changes in the central nervous system of sheep. **Acta neuropathologica**, Berlin, v. 29, p. 9-24, 1974.

ILHA, M. R. S.; LORETTI, A. P.; BARROS, S. S.; BARROS, C. S. L. Intoxicação espontânea por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em ovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 3, p. 123-138, 2001.

LEMONS, R. A. A.; RANGEL, J. M. R.; OSÓRIO, A. L. A. R.; MORAES, S. S.; NAKAZATO, L.; SALVADOR, S. C.; MARTINS, S. Alterações clínicas, patológicas e laboratoriais na intoxicação crônica por cobre em ovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 27, n. 3, p. 457-463, 1997.

NEWMAN, S. J.; CONFER, A. W.; PANCIERA, R. J. Urinary system. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Pathologic basis of veterinary disease**. 4.ed. St. Louis: Mosby Elsevier, p. 613-692. 2007.

RANKINS JR., D. L., RUFFIN, D. C.; PUGH, D. G. Feeding and nutrition. In: Pugh, D. G. **Sheep and goat medicine**. Philadelphia: Saunders, p. 19-60. 2002.

RIET-CORREA, F.; OLIVEIRA, J. A.; GIESTA, S. SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C. Intoxicação crônica por cobre em ovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 9, p. 51-54, 1989.

SARGISON, N. D.; SCOTT, P. R.; PENNY, C. D.; PIRIE, R. S. Polioencephalomalacia associated with chronic copper poisoning in a Suffolk ram lamb. **Veterinary Record**, London, v. 135, p. 556-557, 1994.

SCOTT, P. R. Other neurologic diseases. In: AITKEN, I. **Diseases of sheep**. 4.ed. Ames: Wiley-Blackwell, p. 259-270. 2007.

STOCKHAM, S. L. Anemia associated with bacterial and viral infections. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 163-168. 2000.

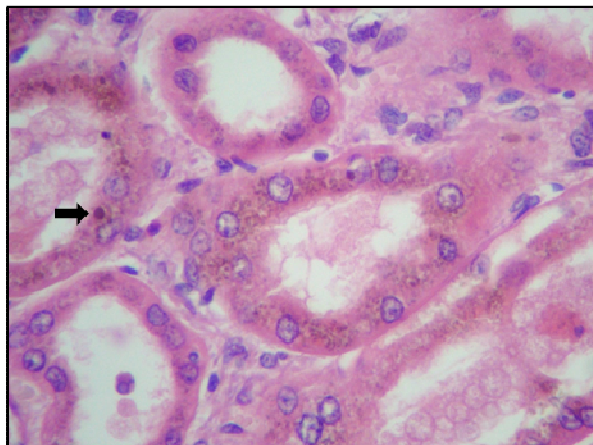


Figura 1: Rim, carneiro. O citoplasma das células dos túbulos proximais está repleto de pigmento marrom-dourado. Por vezes, o pigmento forma grânulos densos (seta). (HE, obj. 40).

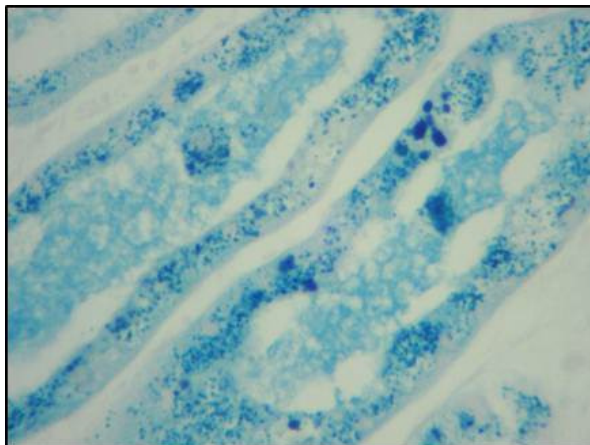


Figura 2: Rim, carneiro. Parte do pigmento marrom-dourado no citoplasma das células tubulares consiste de hemosiderina. (Azul da Prússia, obj. 40).

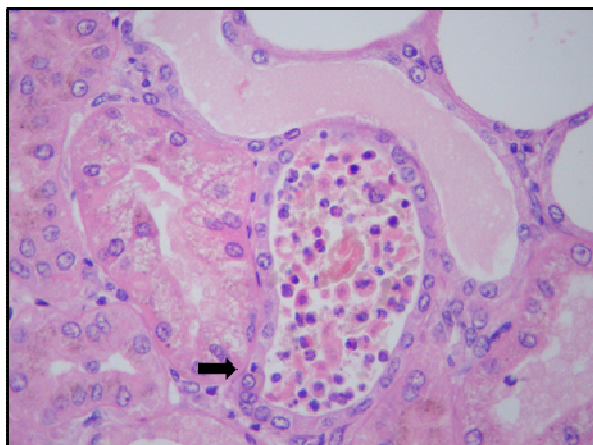


Figura 3: Rim, carneiro. Há túbulos repletos de detritos celulares ou material proteináceo (túbulo ao alto). As células epiteliais exibem marcada vacuolização citoplasmática (túbulo à esquerda) e apoptose ocasional (seta). (HE, obj. 40).

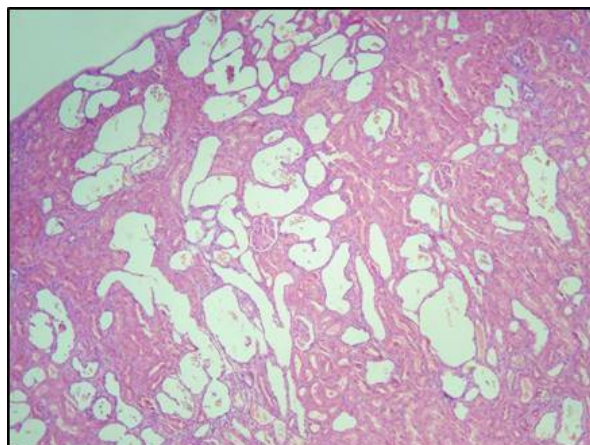


Figura 4: Rim, carneiro. Há dilatação tubular difusa acentuada, especialmente dos túbulos proximais. (HE, obj. 10).

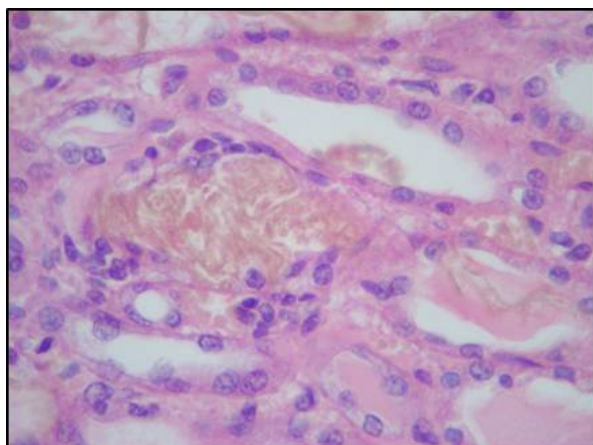


Figura 5: Rim, carneiro. Os túbulos têm a luz preenchida por material amorfo alaranjado (hemoglobina), visto eventualmente como grânulos grosseiros. (HE, obj. 40).

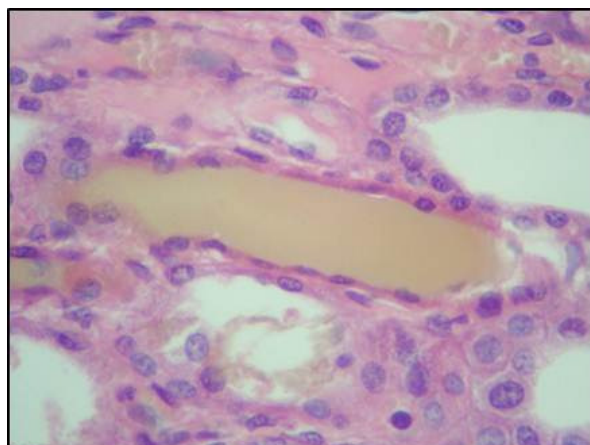


Figura 6: Rim, carneiro. Alguns túbulos contêm cilindros alaranjados, densos e de aspecto refrangível (hemoglobina). (HE, obj. 40).

Intoxicação crônica por cobre em um carneiro

Tessie B. Martins, Juliana S. Brum, Ricardo B. Lucena, Claudio S. L. Barros

Universidade Federal de Santa Maria. Laboratório de Patologia Veterinária
Avenida Roraima, 1000, prédio 97B, Campus Universitário, Bairro Camobi, Santa Maria – RS, CEP
97105-900 Telefone: (55)3220-8168. E-mail: tessiemartins@via-rs.net

Identificação do animal: Ovino (*Ovis aries*), macho não-castrado, Texel, 1 ano

Histórico: O carneiro estava sendo preparado para exposição e recebia alimentação à base de alfafa e ração comercial. Não havia controle sobre a composição da ração, dosagem de metais e minerais. O proprietário relatou apatia, anorexia e anúria desde 12/06 e encaminhou o animal ao hospital veterinário da UFSM em 15/06, quando foram observados sinais clínicos de apatia, anorexia, anúria, taquicardia, taquipneia, ausência de movimentos ruminais, sialorreia e icterícia. O carneiro permanecia em estação, com a cabeça apoiada na mureta da baía e, quando movimentado, demonstrava incoordenação leve.

Exames complementares: O hemograma demonstrou anemia hemolítica grave com indícios de regeneração, diminuição marcada do número de eritrócitos e hemoglobinemias (Tabela 1). O painel bioquímico revelou dano hepático acentuado, com elevação da atividade sérica das enzimas AST (indicativo de necrose hepática) e GGT (indicativo de colestase). Os valores excepcionalmente altos de ureia e creatinina configuraram quadro de azotemia, que sugeriu insuficiência renal grave, com comprometimento de, no mínimo, 75% do parênquima renal (Tabela 2).

Após a necropsia foi realizada dosagem de cobre em amostras de fígado e rim, a qual resultou nas concentrações de 1055 ppm (fígado, matéria seca) e 54,4 ppm (rim, matéria seca). A dosagem foi realizada por espectrofotometria de absorção atômica.

Com base na história clínica e nos resultados de laboratório descritos acima, um diagnóstico clínico de intoxicação crônica por cobre foi estabelecido. Devido ao estado clínico grave e ao prognóstico desfavorável para esta condição, o carneiro foi submetido à eutanásia com tiopental e solução superconcentrada de cloreto de sódio.

Descrição macroscópica: O cadáver estava em ótima condição corporal. Todas as mucosas externamente visíveis (oral, ocular e peniana) estavam acentuadamente amarelas (icterícia), bem como o tecido subcutâneo e as fáscias musculares. O fígado apresentava-se difusamente alaranjado e friável, com acentuação do padrão lobular ao corte. Quando fixado em formol, o tecido adquiriu coloração verde intensa. Os rins estavam marcadamente marrom-escuros e demonstram aspecto metalizado e fino pontilhado enegrecido. Ao corte, ambas as camadas cortical e medular estavam comprometidas. A bexiga continha 600 ml de líquido marrom escuro, semelhante a vinho do Porto. O baço estava levemente aumentado de volume, com superfície de corte carnosa e exangue.

Descrição histopatológica: Rim: As lesões estão basicamente restritas aos túbulos, com comprometimento adicional leve dos glomérulos. As células epiteliais dos túbulos proximais têm o citoplasma ricamente vacuolizado e repleto de pigmento granular marrom-dourado (Figura 1); parte dele cora pelo azul da Prússia (hemossiderina) (Figura 2). Ocasionalmente, as células estão individualizadas e redondas e destacadas da membrana basal e células vizinhas. O citoplasma destas células é compacto e fortemente eosinofílico e o núcleo, quando visível, pequeno e hiper cromático (degeneração e necrose pontuais). Alguns túbulos têm, em contrapartida, grupos de células com núcleos vesiculosos, acentuadamente grandes e polimórficos (indícios de regeneração). Na luz dos túbulos há pequena quantidade de material eosinofílico amorfo (proteína) e células epiteliais descamadas (Figura 3). Os túbulos distais estão difusamente conspícuos e exibem dilatação marcada (Figura 4), com degeneração e necrose epitelial multifocal mais acentuada que os primeiros. A luz comumente contém células esfoliadas, detritos celulares e neutrófilos. Além disso, há grande quantidade de material amorfo alaranjado (hemoglobina) na forma de grânulos grosseiros que, quando aglutinados formam cilindros densos, de aspecto refrangível (Figuras 5 e 6). Os cilindros de hemoglobina são bastante numerosos, e se concentram principalmente na camada medular interna do rim, onde são vistos também na luz de túbulos coletores. Adicionalmente, há focos esparsos de mineralização tubular. Alguns glomérulos têm o espaço de Bowman parcialmente ocupado por material proteináceo. Fígado (não submetido): há marcadas degeneração e necrose dos hepatócitos centro-lobulares, com rarefação do parênquima nesses locais. Boa parte dos hepatócitos tem o citoplasma substituído por vacúolos múltiplos, de tamanhos diversos, que circundam o núcleo (degeneração hidrópica). Alguns hepatócitos estão destacados dos demais, pequenos, com citoplasma intensamente eosinofílico e núcleo encarquilhado e hiper cromático ou fragmentado (apoptose). Por todo o parênquima, mas

principalmente no centro dos lóbulos, há grande quantidade de material amorfo amarelo e denso no citoplasma de hepatócitos e células de Kupffer. Esse pigmento também é visto no citoplasma dos hepatócitos degenerados previamente descritos. Parte desse pigmento cora pelo azul da Prússia e parte, pelo ácido periódico de Schiff (PAS), o que sugere tratar-se de hemossiderina e uma mistura de ceroide-lipofuscina, respectivamente. Nos canalículos biliares há pequenos cilindros de material amarelado denso (pigmento biliar). Adicionalmente, há focos aleatórios de necrose hepática associados a pigmento biliar e pequenas hemorragias. Baço (não submetido): há grande quantidade de macrófagos com citoplasma repleto de hemossiderina. Encéfalo (não submetido): há vacuolização massiva da substância branca, sob a forma de vacúolos periaxoniais grandes, e raros esferoides axoniais. As alterações foram mais apreciadas nas seções do bulbo, ponte, tálamo e mesencéfalo e cerebelo. A rarefação do parênquima neural fica evidente também à avaliação macroscópica das seções histológicas coradas por hematoxilina-eosina.

Diagnóstico morfológico:

- 1) Rim, necrose tubular difusa, moderada, associada a material eosinofílico intraluminal e pigmento intracitoplasmático no epitélio tubular, ovino, macho, Texel, 1 ano
- 2) Fígado, degeneração e necrose hepatocelular centrolobular, difusa, acentuada, com colestase, associada a pigmento intracitoplasmático em hepatócitos, ovino, macho, Texel, 1 ano
- 3) Encéfalo, substância branca, degeneração esponjosa multifocal acentuada, ovino, macho, Texel, 1 ano

Diagnóstico etiológico: Hepatopatia e nefropatia tóxicas. Encefalopatia metabólica

Comentários: A intoxicação por cobre é uma doença tóxica, que já foi descrita em todas as espécies domésticas ao redor do mundo e que ocorre nas formas aguda e crônica, geralmente sob forma de surtos.

A intoxicação aguda é rara e ocorre quando há ingestão de grandes quantidades de cobre de uma única vez, o que desencadeia transtornos gastrintestinais devido à propriedade cáustica do mineral. A intoxicação crônica é mais relatada que a forma aguda e, portanto, mais importante como causa de morte em ovinos. A apresentação crônica da intoxicação pode ser (a) primária, causada pelo consumo de alimentos contendo níveis elevados de cobre; (b) fitógena, associada ao consumo de pastagens que contêm níveis normais de cobre e teores

reduzidos de molibdênio; e (c) hepatógena, em que o acúmulo de cobre ocorre em consequência de lesões hepáticas causadas por plantas que contêm alcaloides pirrolizidínicos.

A intoxicação crônica é muito comum e acomete especialmente ovinos, que são considerados os animais mais susceptíveis aos efeitos tóxicos do mineral. Este fato é atribuído a uma maior sensibilidade à captação e menor eficiência na excreção de cobre e, portanto, maior suscetibilidade à intoxicação do que outras espécies.

Há ainda diferenças de suscetibilidade à intoxicação entre as diferentes raças de ovinos; as raças de carne são mais sensíveis que as raças de lã, uma característica provavelmente relacionada à capacidade genética desses animais em absorver o cobre. A raça North Ronaldsay é a mais sensível à intoxicação, seguida pela Texel. A de menor suscetibilidade é a raça Merino, que possui maiores necessidades de cobre e tem maior resistência para sobreviver à crise hemolítica. No Uruguai, não tem sido observada variação de suscetibilidade entre as raças criadas naquele país. No Rio Grande do Sul, a doença tem sido descrita em Corriedale, Romney Marsh, Ideal, Ile de France, Texel e Suffolk. No Nordeste do Brasil, ocorre em diversas raças, como Santa Inês, Morada Nova e Dorper, mas não se sabe se essas são mais susceptíveis que as raças criadas no Sul e Sudeste.

No Rio Grande do Sul, surtos de intoxicação crônica por cobre em ovinos são frequentes e geralmente associados à ingestão excessiva desse elemento através da suplementação alimentar à base de concentrados e/ou à intoxicação por *Senecio brasiliensis*. Num estudo recentemente realizado no RS sobre causas de mortes em 361 ovinos concluiu-se que 5,8% das mortes foram atribuídas à intoxicação por cobre, o que correspondeu a 14% das intoxicações. No nordeste do Brasil, os surtos são associados à intoxicação por *Crotalaria retusa*.

A intoxicação crônica por cobre é caracterizada por duas fases, uma subclínica, durante a qual o cobre se acumula no fígado durante semanas ou meses, e outra fase aguda, em que o cobre liberado na corrente sanguínea causa crise hemolítica e morte num período que varia de 6 horas a 6 dias.

Depois de absorvido sob a forma de sais, 70-90% do cobre é internalizado pelos hepatócitos, onde é armazenado nos lisossomos, redistribuído para a bile, através da qual é excretado, ou utilizado na formação de ceruloplasmina. A excreção ocorre numa taxa menor que 1% do montante ingerido, no caso dos ruminantes, e o restante do mineral fica acumulado no fígado até que os hepatócitos fiquem saturados, sem causar sinais clínicos. Quando os hepatócitos morrem (espontaneamente ou em resposta a estresse ambiental ou mudanças na dieta), ocorre liberação de grandes quantidades de cobre cúprico na corrente sanguínea. O

excesso de cobre na circulação causa desnaturação da hemoglobina e dano oxidativo direto à membrana celular dos eritrócitos com consequente hemólise intravascular. A destruição dos eritrócitos de maneira abrupta (crise hemolítica) causa necrose de hepatócitos que libera ainda mais cobre na circulação, gerando um ciclo vicioso de crises hemolíticas e necrose hepática. A crise hemolítica é a responsável pelas lesões de necrose hepática e nefrose hemoglobinúrica que levam o animal à morte quase invariavelmente.

A fase hemolítica da intoxicação pelo cobre geralmente é desencadeada por estímulos nocivos que incluem transporte, mudanças hierárquicas, administração de fármacos oxidativos, inanição ou troca de ambiente, mas o mecanismo que relaciona eventos estressantes à liberação de cobre pelos hepatócitos é desconhecido.

Os sinais clínicos observados na fase aguda da intoxicação incluem depressão, anorexia, fraqueza, taquipneia, ptialismo, hemoglobinúria, icterícia e morte aguda. Achados de necropsia incluem icterícia, rins tumefeitos de cor metálica, urina com cor de vinho do Porto e baço aumentado, com parênquima castanho ou preto e fígado alaranjado e friável. Histologicamente, vê-se, no rim, necrose tubular aguda associada à hemoglobina (nefrose hemoglobinúrica) e, no fígado, necrose hepática centro-lobular, acúmulo de pigmento biliar e macrófagos repletos de pigmento castanho ao redor dos espaços-porta. A histoquímica utilizando o PAS e a rodanina revela que esse pigmento é uma mistura de lipofuscina-ceroide e cobre, respectivamente.

Sabe-se que a hemoglobina por si só não é nefrotóxica. No caso da intoxicação por cobre, os animais afetados geralmente têm isquemia renal secundária a choque hipovolêmico ou anemia grave e a hemoglobinúria pode ter um efeito deletério adicional sobre o epitélio tubular já comprometido pela necrose isquêmica. No entanto, grandes concentrações deste elemento no soro sanguíneo e no filtrado glomerular podem exacerbar a necrose tubular que ocorre como resultado de isquemia.

Há poucos relatos sobre acometimento do sistema nervoso central (SNC) na intoxicação por cobre. A degeneração esponjosa, ou *status spongiosus*, é descrita no encéfalo de ovinos que morrem durante ou após a crise hemolítica. O achado mais frequente é a vacuolização da substância branca, que decorre de edema no citoplasma dos oligodendrócitos. Adicionalmente, alguns animais apresentam satelitose, degeneração neuronal, neuronofagia e presença de astrócitos Alzheimer tipo II no encéfalo e na medula e espinhal. Encefalomalacia foi descrita em uma ocasião. Recentemente foi demonstrada correlação fortemente positiva entre os altos níveis de cobre no fígado e no encéfalo de ovinos intoxicados por cobre e que desenvolveram sinais clínicos e lesões neurológicas. Através de histoquímica ficou

demonstrado acúmulo de cobre no citoplasma de astrócitos tumefeitos. No ovino deste relato, os sinais neurológicos e degeneração esponjosa foram atribuídos à lesão hepática (encefalopatia hepática). Normalmente, substâncias tóxicas são eliminadas quando de sua passagem pelo fígado, o que não ocorre quando há lesão hepática difusa grave com insuficiência hepática. A amônia é considerada a principal substância envolvida na patogênese da encefalopatia hepática, onde a elevada quantidade de amônia no sangue leva ao acúmulo dessa substância no encéfalo e prejudica o metabolismo cerebral, levando ao aparecimento de sinais clínicos. Embora a amônia sérica não tenha sido dosada neste animal, o nível de ureia estava nove vezes acima do limite fisiológico máximo, o que poderia ter causado hiperamonemia.

O quadro clínico, alterações macroscópicas e histológicas juntamente com os dados epidemiológicos sugerem o diagnóstico presuntivo. O diagnóstico pode ser confirmado através da determinação dos níveis do mineral no alimento (sendo a concentração limite de 16 mmol de cobre/kg) ou nos tecidos do animal (plasma e soro sanguíneos, fígado e rim). A concentração normal de cobre no plasma varia de 13 a 20 $\mu\text{mol/L}$ (0,8 a 1,2 $\mu\text{g/mL}$). Os valores aceitáveis para o soro variam de 0,6 e 1,5 $\mu\text{mol/L}$ (0,6 a 1,5 ppm). Concentrações plasmáticas entre 2,4 e 20 $\mu\text{g/mL}$ (2,4 a 20 ppm) são diagnósticas de toxicose aguda. A concentração normal de cobre no fígado é de 173 ± 130 ppm (média \pm SD) e 129 ± 59 ppm (matéria seca) para adultos e cordeiros, respectivamente. As concentrações para matéria úmida são de 429 ± 249 ppm. No caso do rim, concentrações de 15 e 50 ppm para matéria seca e úmida, respectivamente, são observadas durante a crise hemolítica.

As concentrações de cobre no fígado e no rim, quando consideradas em conjunto, são o indicador mais confiável para o diagnóstico de intoxicação por cobre em animais mortos. Em animais vivos o diagnóstico pode ser realizado pelo estudo da patologia clínica ou pela determinação de cobre em biópsias hepáticas.

Os diagnósticos diferenciais para hemoglobinúria em ovinos incluem leptospirose (*Leptospira interrogans* serovares *pomona*, *icterohemorrhagica* e *hardjo*), babesiose (*Babesia ovis* e *B. motasi*), hemoglobinúria bacilar (caráter experimental) e intoxicação por plantas dos gêneros *Brassica* (*B. napus*, nabo; *B. oleracea* sps., couve e repolho), *Allium* (ex. cebola) e *Quercus* (carvalho). Hemoglobinúria também é descrita como parte da doença do cordeiro amarelo, entidade que tem sido relatada em diversos países que não o Brasil e que é atribuída ao agente *Clostridium perfringens* tipo A.

A diferenciação entre as doenças listadas pode ser facilmente realizada através do histórico clínico do animal, combinação das lesões macroscópicas e microscópicas do rim

com os demais órgãos, demonstração dos agentes infecciosos nos casos pertinentes, tanto através de achados histológicos quando de técnicas microbiológicas e moleculares e determinação dos níveis de cobre a partir de tecidos do animal, como descrito previamente.

Tabela 1 – Hemograma (valores de referência entre parênteses*)

Hemograma					
Eritrócitos ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	3,58	(9-15)	HCM (pg)	15,36	8-12
Hemoglobina (g/dL)	5,50	(9-15)	CHCM (%)	30,90	(31-34)
Hematócrito (%)	17,80	(27-45)	RDW (Índice de anisocitose)	32,60	(11-14)
VCM (fl)	49,70	(28-40)			

*SMITH, B. P. Large animal internal medicine. 4.ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2009

Tabela 2 – Painel bioquímico

Parâmetro	Unidade	Resultado	Valores de referência*
Aspartato aminotransferase (AST)	U/L	3.300	60-280
γ -glutamilttransferase (GGT)	U/L	600	40-94
Creatinina	mg/dL	17	1,2-1,9
Ureia	mg/dL	500	8-20
Proteína sérica	g/dL	10	6,0-7,9

*SMITH, B. P. Large animal internal medicine. 4.ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2009

Referências consultadas:

MÉNDEZ, M. C.; RIET-CORREA, F. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. **Doenças dos ruminantes e eqüinos**. 3.ed. Santa Maria: Palloti, p. 62-68. 2007.

ALEMAN, M.; CARLSON, G. P. Diseases of the hematopoietic and hemolympathic systems. In: SMITH, B. P. **Large animal internal medicine**. 4.ed. St. Louis: Mosby Elsevier, p. 1144-1188. 2009.

BELKNAP, E. B.; PUGH, D. G. Diseases of the urinary system. In: Pugh, D. G. **Sheep and goat medicine**. Philadelphia: Saunders, p. 255-276. 2002.

BOZYNSKI, C. C.; EVANS, T. J.; DAE, Y. K.; JOHNSON, G. C.; HUGHES-HANKS, J. M.; MITCHELL, W. J.; ROTTINGHAUS, G. E.; PERRY, J.; MIDDLETON, J. R. Copper toxicosis with hemolysis and hemoglobinuric nephrosis in three adult Boer goats. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Athens, v. 21, p. 395-400, 2009.

DOHERTY, P. C.; BARLOW, R. M.; ANGUS, K. W. Spongy changes in the brains of sheep poisoned by excess dietary copper. **Research in Veterinary Science**, London, v. 10, n. 3, p. 303-304, 1969.

FIGHERA, R. A.; GRAÇA, D. L. Sistema hematopoiético. In: SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. **Patologia veterinária**. São Paulo: Roca, p. 337-422. 2010.

GIADINIS, N. D.; PAPAIOANNOU, N.; KRITSEPI-KONSTANTINOU, M.; ROUBIES, N.; RAIKOS, N.; KARATZIAS, H. Acute encephalopathy and clinical pathology findings in a sheep with chronic copper poisoning. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, Istanbul, v. 33, n. 4, p. 363-366, 2009.

HAYWOOD, S.; PARIS, J.; RYVAR, R.; BOTTERON, C. Brain copper elevation and neurological changes in North Ronaldsay sheep: a model for neurodegenerative disease? **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 139, p. 252-255, 2008.

HOWELL, J. MCC.; BLAKEMORE, W. F.; GOPINATH, C.; HALL, G. A. Chronic copper poisoning and changes in the central nervous system of sheep. **Acta neuropathologica**, Berlin, v. 29, p. 9-24, 1974.

ILHA, M. R. S.; LORETTI, A. P.; BARROS, S. S.; BARROS, C. S. L. Intoxicação espontânea por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em ovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 3, p. 123-138, 2001.

LEMONS, R. A. A.; RANGEL, J. M. R.; OSÓRIO, A. L. A. R.; MORAES, S. S.; NAKAZATO, L.; SALVADOR, S. C.; MARTINS, S. Alterações clínicas, patológicas e laboratoriais na intoxicação crônica por cobre em ovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 27, n. 3, p. 457-463, 1997.

NEWMAN, S. J.; CONFER, A. W.; PANCIERA, R. J. Urinary system. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Pathologic basis of veterinary disease**. 4.ed. St. Louis: Mosby Elsevier, p. 613-692. 2007.

RANKINS JR., D. L., RUFFIN, D. C.; PUGH, D. G. Feeding and nutrition. In: Pugh, D. G. **Sheep and goat medicine**. Philadelphia: Saunders, p. 19-60. 2002.

RIET-CORREA, F.; OLIVEIRA, J. A.; GIESTA, S. SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C. Intoxicação crônica por cobre em ovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 9, p. 51-54, 1989.

SARGISON, N. D.; SCOTT, P. R.; PENNY, C. D.; PIRIE, R. S. Polioencephalomalacia associated with chronic copper poisoning in a Suffolk ram lamb. **Veterinary Record**, London, v. 135, p. 556-557, 1994.

SCOTT, P. R. Other neurologic diseases. In: AITKEN, I. **Diseases of sheep**. 4.ed. Ames: Wiley-Blackwell, p. 259-270. 2007.

STOCKHAM, S. L. Anemia associated with bacterial and viral infections. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 163-168. 2000.

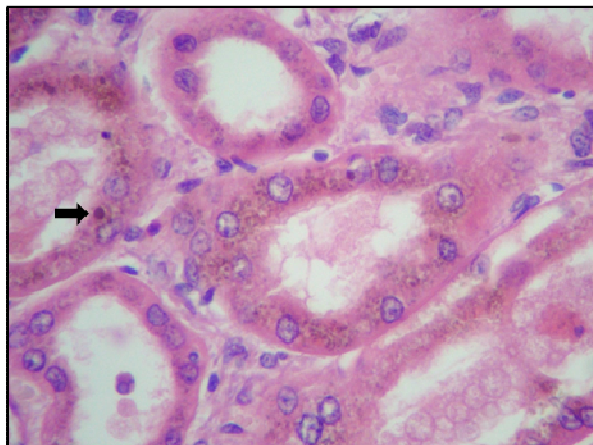


Figura 1: Rim, carneiro. O citoplasma das células dos túbulos proximais está repleto de pigmento marrom-dourado. Por vezes, o pigmento forma grânulos densos (seta). (HE, obj. 40).

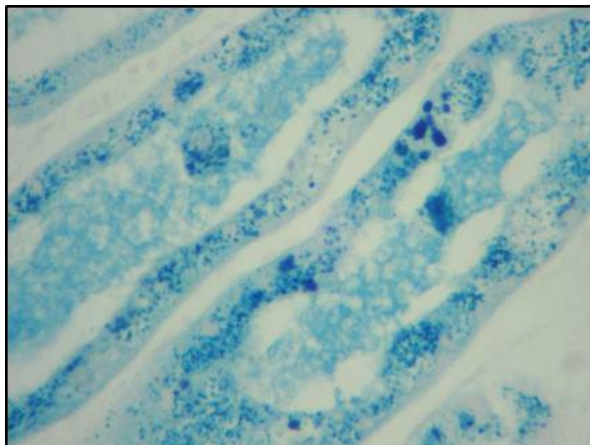


Figura 2: Rim, carneiro. Parte do pigmento marrom-dourado no citoplasma das células tubulares consiste de hemosiderina. (Azul da Prússia, obj. 40).

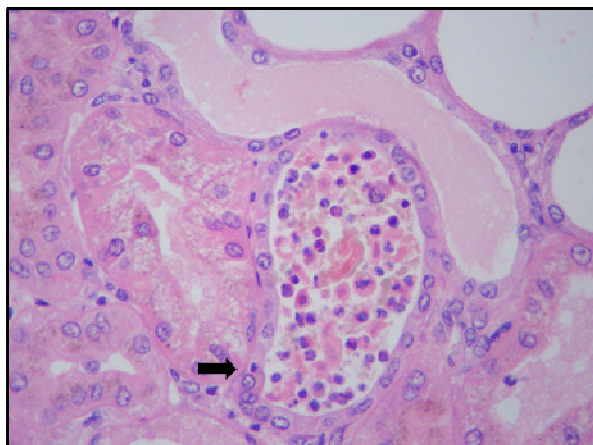


Figura 3: Rim, carneiro. Há túbulos repletos de detritos celulares ou material proteináceo (túbulo ao alto). As células epiteliais exibem marcada vacuolização citoplasmática (túbulo à esquerda) e apoptose ocasional (seta). (HE, obj. 40).

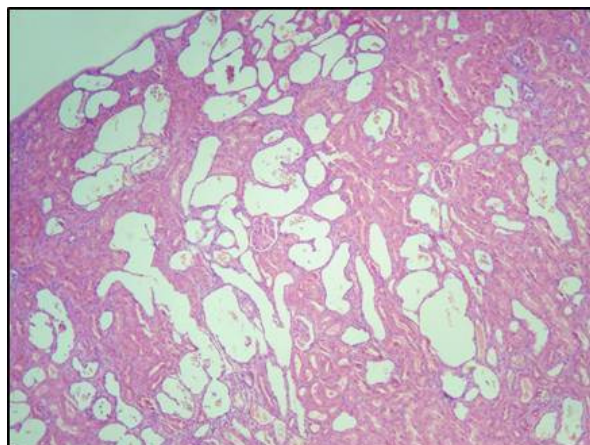


Figura 4: Rim, carneiro. Há dilatação tubular difusa acentuada, especialmente dos túbulos proximais. (HE, obj. 10).

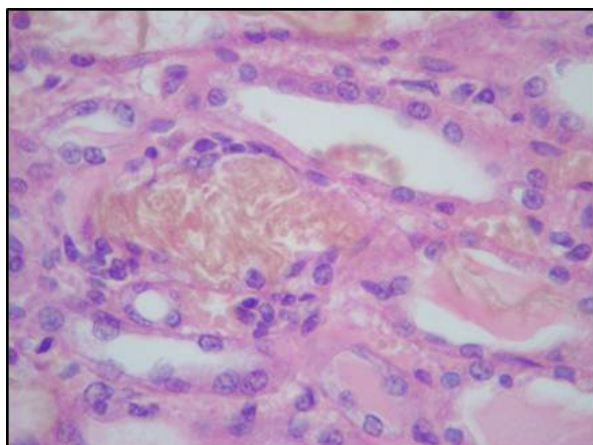


Figura 5: Rim, carneiro. Os túbulos têm a luz preenchida por material amorfo alaranjado (hemoglobina), visto eventualmente como grânulos grosseiros. (HE, obj. 40).

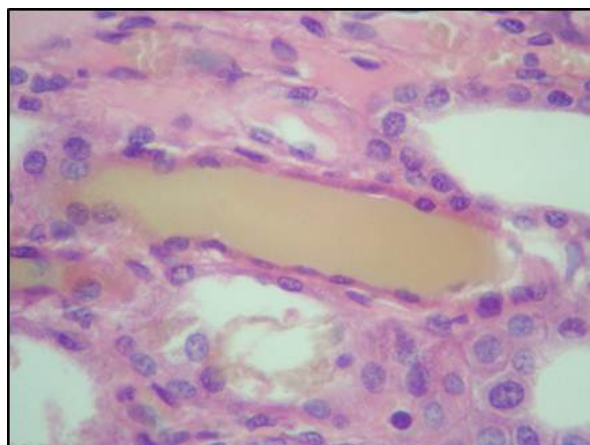


Figura 6: Rim, carneiro. Alguns túbulos contêm cilindros alaranjados, densos e de aspecto refrangível (hemoglobina). (HE, obj. 40).

Intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em um bovino

Juliana S. Brum, Tessie B. Martins, Ricardo B. Lucena, Paula Roberta Giaretta, Bianca Tessele, Claudio S. L. Barros

Universidade Federal de Santa Maria, Laboratório de Patologia Veterinária, Avenida Roraima, 1000, prédio 97B, Campus Universitário, Bairro Camobi, Santa Maria, RS, CEP 97105-900, telefone: (55)3220-8168, e-mail: julianasbrum@yahoo.com.br

Identificação do animal: bovina (*Bos taurus*), macho castrado, mestiço, 2 anos

Histórico: este bovino pertencia a um rebanho de 12 animais com cerca de dois anos de idade que foram colocados em uma pastagem altamente infestada com samambaia (*Pteridium aquilinum*). Cinco bovinos (incluindo o aqui descrito) morreram depois de apresentar sinais clínicos que incluíam febre, hemorragias através das narinas, petéquias nas mucosas e hematúria. Os bovinos foram colocados no campo infestado com samambaia na metade do mês de outubro (primavera) e as mortes ocorreram no final de dezembro e início de janeiro (verão). Quando examinado pela primeira vez, o bovino aqui descrito estava deprimido e tinha o pelo arrepiado. Observaram-se algumas petéquias na mucosa ocular e a urina estava levemente vermelha. As fezes eram amolecidas e tinham pequenos coágulos sanguíneos. A temperatura retal era de 40,2°C. Nos dias seguintes a temperatura aumentou para 42,2°C e os sinais clínicos agravaram-se; havia significativa hematúria, hemorragia nasal, depressão e as fezes estavam amolecidas, negras, com coágulos de sangue e odor pútrido. Este bovino morreu em seis dias do início dos sinais clínicos (os outros animais afetados morreram em até 25 dias). Nas fases terminais da doença, a temperatura retal diminuiu para 39°C.

Exames complementares: marcada trombocitopenia e neutropenia foram observadas. Na Tabela 1 podem-se observar os resultados hematológicos obtidos um dia antes da morte desse bovino.

Tabela 1 – Hemograma

Parâmetro	Unidade	Resultado	Valores de referência
Eritrócitos	(x10 ⁶ /mm ³)	5,1	(5-10)
Hemoglobina	(g/dl)	7,9	(8-15)
Hematócrito	(%)	23	(24-46)
VCM	(fl)	45,1	(40-60)
CHCM	(%)	34,3	(30-36)
Leucócitos totais	(/mm ³)	5.100	(4.000-12.000)
Neutrófilos	(%)	0	(15-45)
	(/mm ³)	0	(600-4.000)
Linfócitos	(%)	100	(45-75)
	(/mm ³)	5.100	(2.500-7.500)
Monócitos	(%)	0	(2-7)
	(/mm ³)	0	(25-840)
Eosinófilos	(%)	0	(0-20)
	(/mm ³)	0	(0-2.400)
Basófilos	(%)	0	(0-2)
	(/mm ³)	0	(0-200)
Plaquetas	(x10 ³ /mm ³)	3	(100-800)

Descrição macroscópica: grandes áreas de hemorragia foram observadas no tecido subcutâneo da região torácica e abdominal, principalmente nas regiões de atrito. Várias áreas de hemorragia com aproximadamente 0,5 cm de diâmetro eram observadas na superfície subepicárdica e focos hemorrágicos foram observados em ambos os ventrículos. As superfícies natural e de corte dos linfonodos estavam hemorrágicas. Havia hemorragia capsular no baço. Petéquias, equimoses e hematomas foram observados no omento, mesentério e na serosa dos intestinos e estômagos. Na mucosa do abomaso havia múltiplas pequenas úlceras e no lúmen, próximo ao piloro, havia um coágulo cilíndrico com 17 x 4 cm. Havia úlceras recobertas com sangue na mucosa intestinal, principalmente ao redor das placas de Peyer. Parte do sangue estava misturada com o conteúdo do intestino grosso e um coágulo cilíndrico com 15 x 3 cm foi observado no lúmen do ceco. A mucosa dos ureteres estava

acentuadamente edematosa e hemorrágica. Na bexiga havia aproximadamente 200 ml de urina com sangue; a mucosa desse órgão também estava edematosa e hemorrágica. Havia coágulos nas cavidades articulares dos membros pélvicos.

Descrição histopatológica: em seções da medula óssea do esterno observou-se marcada aplasia, caracterizada pela acentuada escassez ou ausência de células nucleadas. Os sinusoides estavam distendidos devido à falta de pressão exercida normalmente pelas células hematopoéticas (Figura 1A). Esta alteração fica mais fácil de ser observada quando comparada a uma medula óssea normal de um bovino de mesma idade (Figura 1B). Todas as hemorragias observadas macroscopicamente foram confirmadas histologicamente (não submetidas).

Diagnóstico morfológico: medula óssea (esterno), aplasia acentuada, bovino, macho castrado, mestiço, 2 anos.

Diagnóstico etiológico: mielopatia tóxica

Comentários: samambaia (*Pteridium aquilinum*) é a segunda mais importante planta que causa intoxicação em bovinos no sul do Brasil, sendo responsável por 12% de todas as mortes em bovinos nessa região. A ingestão da samambaia resulta em três formas clínicas bem descritas no bovino.

Duas destas formas são crônicas e caracterizadas pelo desenvolvimento de neoplasmas: carcinoma de células escamosas do trato digestivo superior (base da língua, esôfago e entrada do rúmen); e vários tipos de neoplasmas na bexiga. Essa última condição é associada com hemorragia da bexiga e universalmente conhecida como hematúria enzoótica. A cocarcinogênese da samambaia com o papilomavírus-4 (BPV-4) e BPV-2 é implicado, respectivamente, na patogênese do carcinoma de células escamosas no trato digestivo superior e da bexiga.

A terceira condição causada pela ingestão da planta é caracterizada por aplasia da medula óssea e tendências hemorrágicas. Descreve-se aqui um caso dessa condição, que é geralmente referida como a forma aguda da intoxicação por samambaia. É uma doença de bovinos, mas também tem sido ocasionalmente descrita em ovelhas.

Intoxicação aguda por samambaia foi originalmente descrita na Inglaterra no final do século 19 como uma doença aguda caracterizada por febre alta, hemorragias e altas taxas de letalidade. Durante este tempo a etiologia era somente suspeitada, mas foi confirmada nos anos seguintes e nos anos mais tarde por sucessivos experimentos em bovinos sendo alimentados com grandes quantidades da planta por períodos prolongados. Uma doença semelhante foi observada durante o outono de 1917-1920 em bovinos no estado de Nova Iorque, mas somente mais tarde foi confirmado que a causa era a ingestão de samambaia. Desde então a doença tem sido descrita em vários países.

Os sinais clínicos associados com a forma aguda da intoxicação por samambaia em bovinos incluem febre alta (até 42,5°C), hemorragias acentuadas em vários tecidos e órgãos, neutropenia e trombocitopenia. Febre alta aparece como o primeiro sinal clínico da doença. Alguns autores acreditam que a intensidade da febre que ocorre nessa doença, não acontece em nenhuma outra doença de bovino. A febre é seguida por hemorragias ao redor da cavidade nasal e depressão. Nos estágios avançados da doença a febre pode baixar.

Intoxicação aguda por samambaia em bovinos tem sido subdividida por alguns autores em dois tipos: 1) entérica, que é a mais comum e caracterizada principalmente por depressão, anorexia, febre alta, pulso fraco, coágulos sanguíneos nas fezes que também têm odor pútrido, membranas mucosas pálidas e hemorragias através das membranas mucosas do nariz, olhos, vagina e ânus; e 2) laríngea, na qual os sinais clínicos incluem febre alta, respiração difícil e ruidosa e edema da laringe. Na nossa experiência, entretanto, esses sinais são incomumente observados e ambos os tipos estão sobrepostos em um mesmo animal, como no bovino aqui descrito. Hemorragias nos locais de punção venosa, de picadas de insetos e no leite são comumente observadas.

Na nossa região, a intoxicação aguda geralmente ocorre nos meses de primavera e verão, em campos de morros onde o clima contribui para o crescimento da planta. A morbidade é ao redor de 12,5%-21,5% e taxas de letalidade são altas. A morte ocorre em dois ou três dias depois do primeiro sinal clínico. No entanto, casos hiperagudos (entre 4-10 horas), e casos de recuperação têm sido também reportados.

A primeira lesão na intoxicação aguda por samambaia em bovinos é uma acentuada supressão (aplasia) da medula óssea (como observado no bovino aqui descrito), resultando em trombocitopenia e neutropenia. Nenhuma mudança foi observada nos eritrócitos e qualquer deficiência na contagem destas células se deve mais às hemorragias do

que à supressão da medula, visto que a meia-vida dos eritrócitos no bovino é considerada maior (157-162 dias) do que as das plaquetas (5-10 dias) e do que dos neutrófilos (12 horas).

Geralmente a morte ocorre pela grande perda de sangue, relacionada com a trombocitopenia. Isso pode ser observado quando o número de plaquetas está menos que $10.000/\text{mm}^3$ no sangue. Nestes casos ocorre hemorragia fatal nas cavidades corporais. No caso aqui descrito, a contagem de plaquetas estava em $3.000/\text{mm}^3$ um dia antes da morte. Bacteremia também é relatada pela quase completa ausência de neutrófilos no sangue periférico. Se depois do início da bacteremia o bovino sobrevive por vários dias, infartos podem ocorrer no fígado, pulmão, rins e baço. A morte ocorre por causa de hemorragia interna ou septicemia.

Os principais achados de necropsia são hemorragias de tamanhos variados e em órgãos diversos. Petéquias e equimoses ocorrem no tecido subcutâneo. Sufusões são observadas nas serosas de vários órgãos da cavidade abdominal e torácica. Há edema e hemorragia dos linfonodos. Coágulos sanguíneos podem ser encontrados na cavidade abdominal. Ulcerações nas mucosas e coágulos no lúmen dos pré-estômagos, abomaso, intestino delgado e intestino grosso são observados. Áreas pálidas de necrose são vistas no fígado, coração, rins e baço. Essas áreas geralmente se referem aos infartos, que, provavelmente, são causadas por toxinas bacterianas e não por isquemia. O edema da faringe e laringe é grave.

As hemorragias observadas macroscopicamente também são confirmadas histologicamente. Adicionalmente, focos de necrose de coagulação associados a agregados bacterianos podem ser encontrados do fígado, coração, rins e baço. O mais notável dos achados histológicos é a aplasia da medula óssea.

O ptaquilosídeo é a toxina do *Pteridium aquilinum* responsável pela supressão medular na doença aguda. Esta toxina tem propriedades cumulativas e decorrido o tempo do início da ingestão da planta e os desenvolvimento dos sinais clínicos dependem apenas da quantidade de planta ingerida. Geralmente a ingestão diária chega ao redor de 10g/kg de peso vivo durante 2-11 semanas.

Na lista de diagnósticos diferenciais para intoxicação aguda por samambaia em bovinos deve-se incluir anaplasmosse, pneumonia por *Mannheimia* (diferencial para a forma laríngea), septicemia por pasteurellose, leptospirose, intoxicação por trevo-amarelo e hemoglobinúria bacilar. Uma doença similar causada por aplasia da medula óssea é descrita

em bovinos na Austrália e é causada pela ingestão de outra planta tóxica, (*Cheilanthes sieberi*).

Referências consultadas:

- ANONYMOUS, Fern Poisoning. **Journal of Comparative Pathology Therapy** 7:165-167,1984
- BOSSHART, J.K. & HAGAN, W.A., A fatal unidentified disease of cattle in New York State. **Cornell Veterinary**, 10:102-13,1920
- CLARK, I.A. & DIMMOCK, C.K., The toxicity of *Cheilanthes sieberi* to cattle and sheep. **Australian Veterinary Journal**, 47:149-152, 1971
- EVANS, W.C. et al. Studies on bracken poisoning. Part III. Field outbreaks of bovine bracken poisoning. **British Veterinary Journal**, 110:426-442, 1954
- HAGAN, W.A. & ZEISSIG, A., Experimental bracken poisoning of cattle. **Cornell Veterinary**, 17:194-208, 1927
- HIRONO, I., Reproduction of acute bracken poisoning in a calf with ptaquiloside, a bracken constituent. **Veterinary Record**, 115:375-378, 1984
- MAXIE, M.G. & YOUSSEF, S., Nervous system. In: **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**, ed. Maxie MG, 5th ed., vol 1, pp. 354-357. Saunders Elsevier, Philadelphia, PA, 2007
- MAXIE, M.G. & NEWMAN, S.J., Urinary system: In: **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**, ed. Maxie MG, 5th ed., vol 2, pp. 518-520. Saunders Elsevier, Philadelphia, PA, 2007
- NAFTALIN, J.M. & CUSHNIE, G.H., Pathology of bracken fern poisoning in cattle. **Journal of Comparative Pathology Therapy**, 64:54-74, 1954
- OSEBOLD, J.W., An approach to the pathogenesis of fern poisoning in the bovine species. **Journal of American Veterinary Medical Association**, 121:440-441, 1951
- RISSI, D.R. et al., Intoxicação por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 27:261-268, 2007.
- SIPPEL, W.L., Bracken fern poisoning. **Journal of American Veterinary Medical Association**, 121:9-13, 1952
- SOUTO, M.A.M. et al., Neoplasias do trato alimentar superior de bovinos associadas ao consumo espontâneo de samambaia (*Pteridium aquilinum*) **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 26:112-122, 2006.
- SOUTO, M.A.M. et al., Neoplasmas da bexiga associados à hematuria enzoótica bovina. **Ciência Rural** 36:1647-1650, 2006.
- STORRAR, D.M., Diseases of vegetable poisoning in cattle. **Journal of Comparative Pathology Therapy**, 6:276-279, 1893
- TOKARNIA, C.H. et al., Ocorrência da intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) em bovinos no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2:329-336, 1967
- TUSTIN, R.C., Bracken fern poisoning in cattle in Natal Midlands. **Journal of South African Veterinary Medical Association**, 39:91-999, 1968

VALLI V.E.O., Hematopoietic system: *In: Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*, ed. Maxie MG, 5th ed., vol 3, pp. 216-221. Saunders Elsevier, Philadelphia, PA, 2007

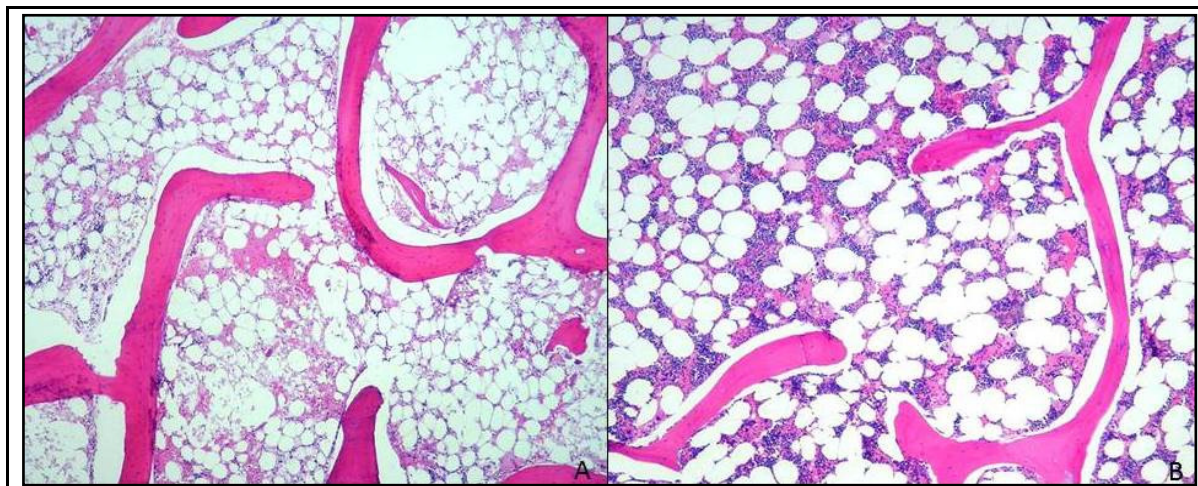


Figura 1 – Medula óssea, bovino. Pode-se observar a acentuada escassez de células nucleadas (A) quando comparada a medula do bovino controle (B). (HE, 10x)

Intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em um bovino

Juliana S. Brum, Tessie B. Martins, Ricardo B. Lucena, Paula Roberta Giaretta, Bianca Tessele, Claudio S. L. Barros

Universidade Federal de Santa Maria, Laboratório de Patologia Veterinária, Avenida Roraima, 1000, prédio 97B, Campus Universitário, Bairro Camobi, Santa Maria, RS, CEP 97105-900, telefone:

(55)3220-8168, e-mail: julianasbrum@yahoo.com.br

Identificação do animal: bovina (*Bos taurus*), macho castrado, mestiço, 2 anos

Histórico: este bovino pertencia a um rebanho de 12 animais com cerca de dois anos de idade que foram colocados em uma pastagem altamente infestada com samambaia (*Pteridium aquilinum*). Cinco bovinos (incluindo o aqui descrito) morreram depois de apresentar sinais clínicos que incluíam febre, hemorragias através das narinas, petéquias nas mucosas e hematúria. Os bovinos foram colocados no campo infestado com samambaia na metade do mês de outubro (primavera) e as mortes ocorreram no final de dezembro e início de janeiro (verão). Quando examinado pela primeira vez, o bovino aqui descrito estava deprimido e tinha o pelo arrepiado. Observaram-se algumas petéquias na mucosa ocular e a urina estava levemente vermelha. As fezes eram amolecidas e tinham pequenos coágulos sanguíneos. A temperatura retal era de 40,2°C. Nos dias seguintes a temperatura aumentou para 42,2°C e os sinais clínicos agravaram-se; havia significativa hematúria, hemorragia nasal, depressão e as fezes estavam amolecidas, negras, com coágulos de sangue e odor pútrido. Este bovino morreu em seis dias do início dos sinais clínicos (os outros animais afetados morreram em até 25 dias). Nas fases terminais da doença, a temperatura retal diminuiu para 39°C.

Exames complementares: marcada trombocitopenia e neutropenia foram observadas. Na Tabela 1 podem-se observar os resultados hematológicos obtidos um dia antes da morte desse bovino.

Tabela 1 – Hemograma

Parâmetro	Unidade	Resultado	Valores de referência
Eritrócitos	(x10 ⁶ /mm ³)	5,1	(5-10)
Hemoglobina	(g/dl)	7,9	(8-15)
Hematócrito	(%)	23	(24-46)
VCM	(fl)	45,1	(40-60)
CHCM	(%)	34,3	(30-36)
Leucócitos totais	(/mm ³)	5.100	(4.000-12.000)
Neutrófilos	(%)	0	(15-45)
	(/mm ³)	0	(600-4.000)
Linfócitos	(%)	100	(45-75)
	(/mm ³)	5.100	(2.500-7.500)
Monócitos	(%)	0	(2-7)
	(/mm ³)	0	(25-840)
Eosinófilos	(%)	0	(0-20)
	(/mm ³)	0	(0-2.400)
Basófilos	(%)	0	(0-2)
	(/mm ³)	0	(0-200)
Plaquetas	(x10 ³ /mm ³)	3	(100-800)

Descrição macroscópica: grandes áreas de hemorragia foram observadas no tecido subcutâneo da região torácica e abdominal, principalmente nas regiões de atrito. Várias áreas de hemorragia com aproximadamente 0,5 cm de diâmetro eram observadas na superfície subepicárdica e focos hemorrágicos foram observados em ambos os ventrículos. As superfícies natural e de corte dos linfonodos estavam hemorrágicas. Havia hemorragia capsular no baço. Petéquias, equimoses e hematomas foram observados no omento, mesentério e na serosa dos intestinos e estômagos. Na mucosa do abomaso havia múltiplas pequenas úlceras e no lúmen, próximo ao piloro, havia um coágulo cilíndrico com 17 x 4 cm. Havia úlceras recobertas com sangue na mucosa intestinal, principalmente ao redor das placas de Peyer. Parte do sangue estava misturada com o conteúdo do intestino grosso e um coágulo cilíndrico com 15 x 3 cm foi observado no lúmen do ceco. A mucosa dos ureteres estava

acentuadamente edematosa e hemorrágica. Na bexiga havia aproximadamente 200 ml de urina com sangue; a mucosa desse órgão também estava edematosa e hemorrágica. Havia coágulos nas cavidades articulares dos membros pélvicos.

Descrição histopatológica: em seções da medula óssea do esterno observou-se marcada aplasia, caracterizada pela acentuada escassez ou ausência de células nucleadas. Os sinusoides estavam distendidos devido à falta de pressão exercida normalmente pelas células hematopoéticas (Figura 1A). Esta alteração fica mais fácil de ser observada quando comparada a uma medula óssea normal de um bovino de mesma idade (Figura 1B). Todas as hemorragias observadas macroscopicamente foram confirmadas histologicamente (não submetidas).

Diagnóstico morfológico: medula óssea (esterno), aplasia acentuada, bovino, macho castrado, mestiço, 2 anos.

Diagnóstico etiológico: mielopatia tóxica

Comentários: samambaia (*Pteridium aquilinum*) é a segunda mais importante planta que causa intoxicação em bovinos no sul do Brasil, sendo responsável por 12% de todas as mortes em bovinos nessa região. A ingestão da samambaia resulta em três formas clínicas bem descritas no bovino.

Duas destas formas são crônicas e caracterizadas pelo desenvolvimento de neoplasmas: carcinoma de células escamosas do trato digestivo superior (base da língua, esôfago e entrada do rúmen); e vários tipos de neoplasmas na bexiga. Essa última condição é associada com hemorragia da bexiga e universalmente conhecida como hematúria enzoótica. A cocarcinogênese da samambaia com o papilomavírus-4 (BPV-4) e BPV-2 é implicado, respectivamente, na patogênese do carcinoma de células escamosas no trato digestivo superior e da bexiga.

A terceira condição causada pela ingestão da planta é caracterizada por aplasia da medula óssea e tendências hemorrágicas. Descreve-se aqui um caso dessa condição, que é geralmente referida como a forma aguda da intoxicação por samambaia. É uma doença de bovinos, mas também tem sido ocasionalmente descrita em ovelhas.

Intoxicação aguda por samambaia foi originalmente descrita na Inglaterra no final do século 19 como uma doença aguda caracterizada por febre alta, hemorragias e altas taxas de letalidade. Durante este tempo a etiologia era somente suspeitada, mas foi confirmada nos anos seguintes e nos anos mais tarde por sucessivos experimentos em bovinos sendo alimentados com grandes quantidades da planta por períodos prolongados. Uma doença semelhante foi observada durante o outono de 1917-1920 em bovinos no estado de Nova Iorque, mas somente mais tarde foi confirmado que a causa era a ingestão de samambaia. Desde então a doença tem sido descrita em vários países.

Os sinais clínicos associados com a forma aguda da intoxicação por samambaia em bovinos incluem febre alta (até 42,5°C), hemorragias acentuadas em vários tecidos e órgãos, neutropenia e trombocitopenia. Febre alta aparece como o primeiro sinal clínico da doença. Alguns autores acreditam que a intensidade da febre que ocorre nessa doença, não acontece em nenhuma outra doença de bovino. A febre é seguida por hemorragias ao redor da cavidade nasal e depressão. Nos estágios avançados da doença a febre pode baixar.

Intoxicação aguda por samambaia em bovinos tem sido subdividida por alguns autores em dois tipos: 1) entérica, que é a mais comum e caracterizada principalmente por depressão, anorexia, febre alta, pulso fraco, coágulos sanguíneos nas fezes que também têm odor pútrido, membranas mucosas pálidas e hemorragias através das membranas mucosas do nariz, olhos, vagina e ânus; e 2) laríngea, na qual os sinais clínicos incluem febre alta, respiração difícil e ruidosa e edema da laringe. Na nossa experiência, entretanto, esses sinais são incomumente observados e ambos os tipos estão sobrepostos em um mesmo animal, como no bovino aqui descrito. Hemorragias nos locais de punção venosa, de picadas de insetos e no leite são comumente observadas.

Na nossa região, a intoxicação aguda geralmente ocorre nos meses de primavera e verão, em campos de morros onde o clima contribui para o crescimento da planta. A morbidade é ao redor de 12,5%-21,5% e taxas de letalidade são altas. A morte ocorre em dois ou três dias depois do primeiro sinal clínico. No entanto, casos hiperagudos (entre 4-10 horas), e casos de recuperação têm sido também reportados.

A primeira lesão na intoxicação aguda por samambaia em bovinos é uma acentuada supressão (aplasia) da medula óssea (como observado no bovino aqui descrito), resultando em trombocitopenia e neutropenia. Nenhuma mudança foi observada nos eritrócitos e qualquer deficiência na contagem destas células se deve mais às hemorragias do

que à supressão da medula, visto que a meia-vida dos eritrócitos no bovino é considerada maior (157-162 dias) do que as das plaquetas (5-10 dias) e do que dos neutrófilos (12 horas).

Geralmente a morte ocorre pela grande perda de sangue, relacionada com a trombocitopenia. Isso pode ser observado quando o número de plaquetas está menos que $10.000/\text{mm}^3$ no sangue. Nestes casos ocorre hemorragia fatal nas cavidades corporais. No caso aqui descrito, a contagem de plaquetas estava em $3.000/\text{mm}^3$ um dia antes da morte. Bacteremia também é relatada pela quase completa ausência de neutrófilos no sangue periférico. Se depois do início da bacteremia o bovino sobrevive por vários dias, infartos podem ocorrer no fígado, pulmão, rins e baço. A morte ocorre por causa de hemorragia interna ou septicemia.

Os principais achados de necropsia são hemorragias de tamanhos variados e em órgãos diversos. Petéquias e equimoses ocorrem no tecido subcutâneo. Sufusões são observadas nas serosas de vários órgãos da cavidade abdominal e torácica. Há edema e hemorragia dos linfonodos. Coágulos sanguíneos podem ser encontrados na cavidade abdominal. Ulcerações nas mucosas e coágulos no lúmen dos pré-estômagos, abomaso, intestino delgado e intestino grosso são observados. Áreas pálidas de necrose são vistas no fígado, coração, rins e baço. Essas áreas geralmente se referem aos infartos, que, provavelmente, são causadas por toxinas bacterianas e não por isquemia. O edema da faringe e laringe é grave.

As hemorragias observadas macroscopicamente também são confirmadas histologicamente. Adicionalmente, focos de necrose de coagulação associados a agregados bacterianos podem ser encontrados do fígado, coração, rins e baço. O mais notável dos achados histológicos é a aplasia da medula óssea.

O ptaquilosídeo é a toxina do *Pteridium aquilinum* responsável pela supressão medular na doença aguda. Esta toxina tem propriedades cumulativas e decorrido o tempo do início da ingestão da planta e os desenvolvimento dos sinais clínicos dependem apenas da quantidade de planta ingerida. Geralmente a ingestão diária chega ao redor de 10g/kg de peso vivo durante 2-11 semanas.

Na lista de diagnósticos diferenciais para intoxicação aguda por samambaia em bovinos deve-se incluir anaplasmosse, pneumonia por *Mannheimia* (diferencial para a forma laríngea), septicemia por pasteurellose, leptospirose, intoxicação por trevo-amarelo e hemoglobinúria bacilar. Uma doença similar causada por aplasia da medula óssea é descrita

em bovinos na Austrália e é causada pela ingestão de outra planta tóxica, (*Cheilanthes sieberi*).

Referências consultadas:

- ANONYMOUS, Fern Poisoning. **Journal of Comparative Pathology Therapy** 7:165-167,1984
- BOSSHART, J.K. & HAGAN, W.A., A fatal unidentified disease of cattle in New York State. **Cornell Veterinary**, 10:102-13,1920
- CLARK, I.A. & DIMMOCK, C.K., The toxicity of *Cheilanthes sieberi* to cattle and sheep. **Australian Veterinary Journal**, 47:149-152, 1971
- EVANS, W.C. et al. Studies on bracken poisoning. Part III. Field outbreaks of bovine bracken poisoning. **British Veterinary Journal**, 110:426-442, 1954
- HAGAN, W.A. & ZEISSIG, A., Experimental bracken poisoning of cattle. **Cornell Veterinary**, 17:194-208, 1927
- HIRONO, I., Reproduction of acute bracken poisoning in a calf with ptaquiloside, a bracken constituent. **Veterinary Record**, 115:375-378, 1984
- MAXIE, M.G. & YOUSSEF, S., Nervous system. In: **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**, ed. Maxie MG, 5th ed., vol 1, pp. 354-357. Saunders Elsevier, Philadelphia, PA, 2007
- MAXIE, M.G. & NEWMAN, S.J., Urinary system: In: **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**, ed. Maxie MG, 5th ed., vol 2, pp. 518-520. Saunders Elsevier, Philadelphia, PA, 2007
- NAFTALIN, J.M. & CUSHNIE, G.H., Pathology of bracken fern poisoning in cattle. **Journal of Comparative Pathology Therapy**, 64:54-74, 1954
- OSEBOLD, J.W., An approach to the pathogenesis of fern poisoning in the bovine species. **Journal of American Veterinary Medical Association**, 121:440-441, 1951
- RISSI, D.R. et al., Intoxicação por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 27:261-268, 2007.
- SIPPEL, W.L., Bracken fern poisoning. **Journal of American Veterinary Medical Association**, 121:9-13, 1952
- SOUTO, M.A.M. et al., Neoplasias do trato alimentar superior de bovinos associadas ao consumo espontâneo de samambaia (*Pteridium aquilinum*) **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 26:112-122, 2006.
- SOUTO, M.A.M. et al., Neoplasmas da bexiga associados à hematuria enzoótica bovina. **Ciência Rural** 36:1647-1650, 2006.
- STORRAR, D.M., Diseases of vegetable poisoning in cattle. **Journal of Comparative Pathology Therapy**, 6:276-279, 1893
- TOKARNIA, C.H. et al., Ocorrência da intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) em bovinos no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2:329-336, 1967
- TUSTIN, R.C., Bracken fern poisoning in cattle in Natal Midlands. **Journal of South African Veterinary Medical Association**, 39:91-999, 1968

VALLI V.E.O., Hematopoietic system: *In: Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*, ed. Maxie MG, 5th ed., vol 3, pp. 216-221. Saunders Elsevier, Philadelphia, PA, 2007

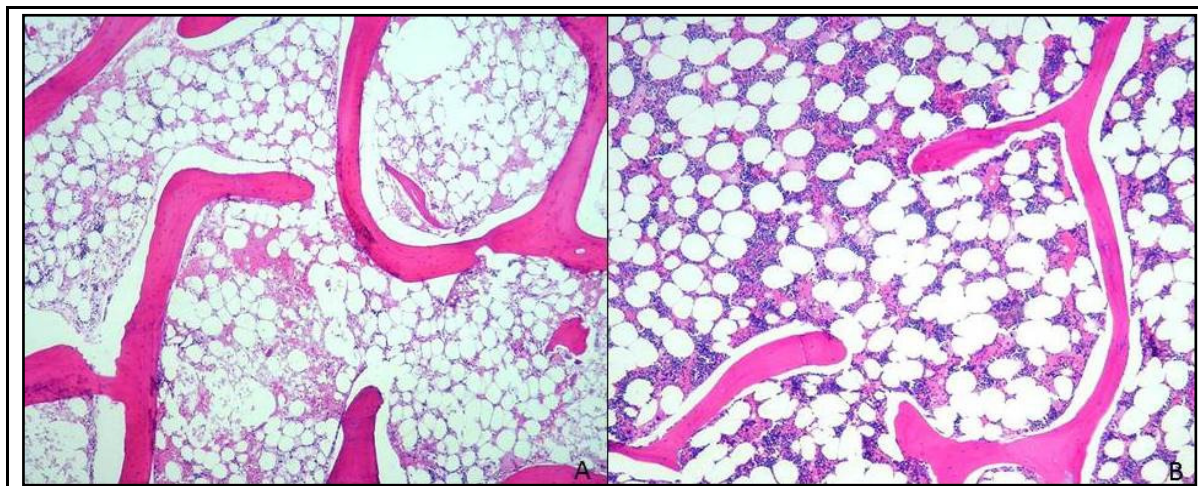


Figura 1 – Medula óssea, bovino. Pode-se observar a acentuada escassez de células nucleadas (A) quando comparada a medula do bovino controle (B). (HE, 10x)

Pododermatite Plasmocitária Felina

Leonardo Gruchouskei¹, Rodrigo T. S. Santana², Fernando F. Giraldes³, Raimundo A. Tostes⁴, Aline M. Viott⁴

Universidade Federal do Paraná, Campus Palotina. Rua Pioneiro, 2153 - Jardim Dallas - Palotina – PR CEP: 85.950-000. (44) 3211-8520, (44) 3211-8522. viott@ufpr.br.

Identificação do Animal: Felino, SRD, fêmea, 3 anos.

Histórico: Felino com histórico de úlcera no coxim plantar direito há seis meses, um mês antes de ser encaminhado ao veterinário começou a claudicar o membro afetado. Na anamnese observou-se uma úlcera no membro posterior direito medindo aproximadamente 1,5 cm de diâmetro. Havia hiperestesia a manipulação do membro afetado. Após diagnóstico histopatológico, o veterinário iniciou o tratamento com acetato de prednisona (4,4 mg/Kg, VO, SID por 15 dias) não obtendo melhora no quadro clínico. Optou-se então pelo tratamento cirúrgico através de crioterapia utilizando-se nitrogênio. Até o presente momento, um ano após o tratamento, o animal não apresentou recidiva do caso.

Descrição macroscópica: Úlcera no membro posterior direito medindo aproximadamente 1,5 cm de diâmetro.

Descrição microscópica: Pele, coxim plantar. Microscopicamente, observou-se que a epiderme apresentava ulceração focalmente extensa severa (Figura A) com intensa exsudação neutrofílica e formação de crosta. Em alguns focos da área ulcerada havia segmentos da epiderme com severa espongiose (Figura 1A). Se estendendo da derme superficial até a hipoderme observava-se um acentuado infiltrado inflamatório composto principalmente por plasmócitos, alguns binucleados, e neutrófilos entremeados a raros macrófagos e linfócitos (Figura 1B). O padrão inflamatório era predominantemente perivascular com freqüentes células de Mott e alguns corpúsculos de Russel (Figura 2A e 2B). A proliferação de tecido conjuntivo fibroso era moderada se acentuando nos segmentos mais profundos do corte. Os vasos sanguíneos estavam

acentuadamente dilatados e hiperêmicos. Não foram observados ácaros, fungos, células neoplásicas ou presença de corpo estranho nos fragmentos analisados.

Diagnóstico morfológico: Pele (coxim plantar), pododermatite plasmocitária, crônica ativa, difusa acentuada com ulceração focalmente extensa, felino (*Felis catus*), S.R.D., fêmea, 3 anos.

Diagnóstico etiológico: Pododermatite autoimune

Comentários: A pododermatite plasmocitária felina é uma doença rara, que afeta os coxins e não possui predisposição de raça, sexo e idade. A patogenia não é determinada, devido há hipergamaglobulinemia, envolvimento de linfócitos, depósito de imunocomplexos e responder a terapia de glicocorticóides acreditasse que tenha origem imunomediada, porém é essa teoria é questionável devido a lesão ser localizada e responder bem ao tratamento cirúrgico, o que corrobora a hipótese de que existam mais fatores envolvidos. Reporta-se que o quadro costuma recidivar em regiões de clima quente o que suporta a hipótese de uma origem alérgica. O papel de infecção retroviral é controverso. Enquanto a maioria dos relatos indica que os gatos afetados são negativos para o vírus da leucemia felina (FeLV) e da imunodeficiência felina (FIV), outros estudos reportam uma incidência de positividade ao FIV de 50%. A doença é caracterizada clinicamente pelo amolecimento, edemaciação e dor nos coxins plantares e palmares, mas pode ser observada também ulceração, hemorragia, claudicação, desconforto e dor. O edema nos coxins afetados se manifesta de maneira uniforme o que não altera sua simetria. Embora múltiplos coxins possam ser acometidos, a doença pode se manifestar de forma solitária. Alguns autores relatam a presença de placas vegetativas no palato duro e mole e/ou edema na região dorsal do nariz. Pode ocorrer o desenvolvimento de amiloidose renal e hepática. O diagnóstico é baseado no histórico, exame clínico e citológico, sendo somente confirmado através do exame histopatológico.

O diagnóstico diferencial deve incluir granulomas de origem bacteriana ou fúngica e o granuloma eosinofílico felino, quando apenas um coxim é afetado devem ser descartadas as neoplasias e granulomas causados por corpo estranho. O granuloma eosinofílico é uma das enfermidades pertencentes ao complexo granuloma eosinofílico

felino (CGEF). As lesões são únicas ou agrupadas e podem se apresentar como nódulos ou placas ulceradas que se desenvolvem em qualquer lugar do corpo incluindo os coxins. Os achados histológicos caracterizam-se por dermatite granulomatosa nodular a difusa, foliculite e furunculose eosinofílica e em alguns casos os eosinófilos e células gigantes histiocíticas multinucleadas podem estar presentes.

Referências consultadas:

BETTENAY, Y, S. V.; LAPPIN, M. R.; MUELLER, R. S. an immunohistochemical and polymerase chain reaction evaluation of feline plasmacytic pododermatitis. **Veterinary pathology**. n. 44, p. 80-83, 2007.

DECLERCQ, J.; BOSSCHERE, H. Nasal swelling due to plasma cell infiltrate in a cat without plasma cell pododermatitis. **Veterinary dermatology**. n. 21, p. 412-414, 2010.

DIAS, G. S.; CONCEIÇÃO, L. G. Complexo granuloma eosinofílico felino. **Clínica veterinária**. São Paulo, n. 73 p. 26-34, 2008.

DROLET, R.; BERNARD, J. Plasma cell pododermatitis in a cat. **Canadian veterinary journal**. n. 25. p. 448-449, 1984.

GROSS, T. L.; IHRKE, P. J.; WALDER, E. J.; AFOLTER, V. K. **Doenças de pele do cão e do gato**. 2.ed. São Paulo: Roca, p. 351-353, 2009.

LOSS, F. R.; COLOMÉ, L. M.; OLIVEIRA, R. P.; MELATTI, L.; BORTOLINI, C. E.; AGUIAR, E. S. V.; BARCELLOS, H. H. A.; MARTINS, T. B.; LUZ, C. F. Pododermatite plasmocitária felina: relato de caso. **Medvep – Revista científica de medicina veterinária – pequenos animais e animais de estimação**. n. 25, p. 217-220, 2010.

MACHADO, L. H. A.; ANTUNES, M. I. P. P.; TORRES NETO, R.; BOTTEIN, K.; FABRIS, V. E.; VAILATI, M. C. F.; LOURENÇO, M. L. G. Pododermatite plasmocitária felina: relato de caso. **Clínica veterinária**. São Paulo, n. 82 p. 78-82, 2009.

McGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Bases da patologia em veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 1236, 2009.

NUTTALL, T.; HARVEY, R. G.; McKEEVER, P. J. **Skin diseases of the dog and cat**. 2.ed. London: Manson publishing, p. 119, 2009.

PEREIRA, P. D.; FAUSTINO A. M. R. Feline plasma cell pododermatitis: a study of 8 cases. **Veterinary dermatology**. n. 14, p. 333-337, 2003.

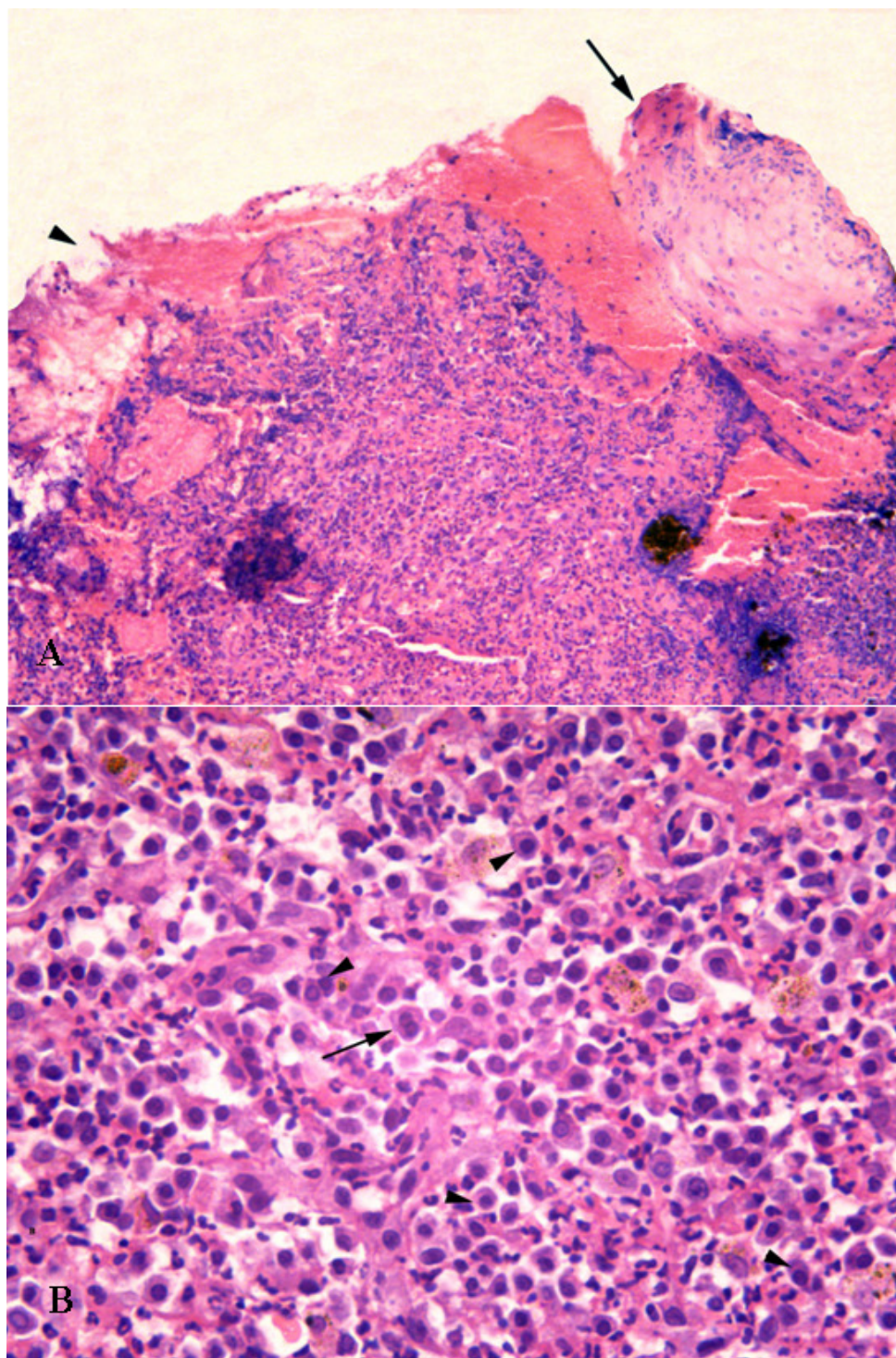


Figura 1. A) Coxim plantar de um felino com pododermatite plasmocitária. Há intensa ulceração da epiderme com exposição da derme, exsudação neutrofílica e formação de crostas (cabeça da seta). Adjacente ao foco observa-se degeneração balonosa difusa severa da epiderme remanescente (seta), H&E, 4X. B) Coxim plantar de um felino com pododermatite plasmocitária. Observa-se um intenso infiltrado inflamatório composto predominantemente por plasmócitos (cabeças de seta) e neutrófilos. Alguns plasmócitos são binucleados (seta), H&E, 20X.

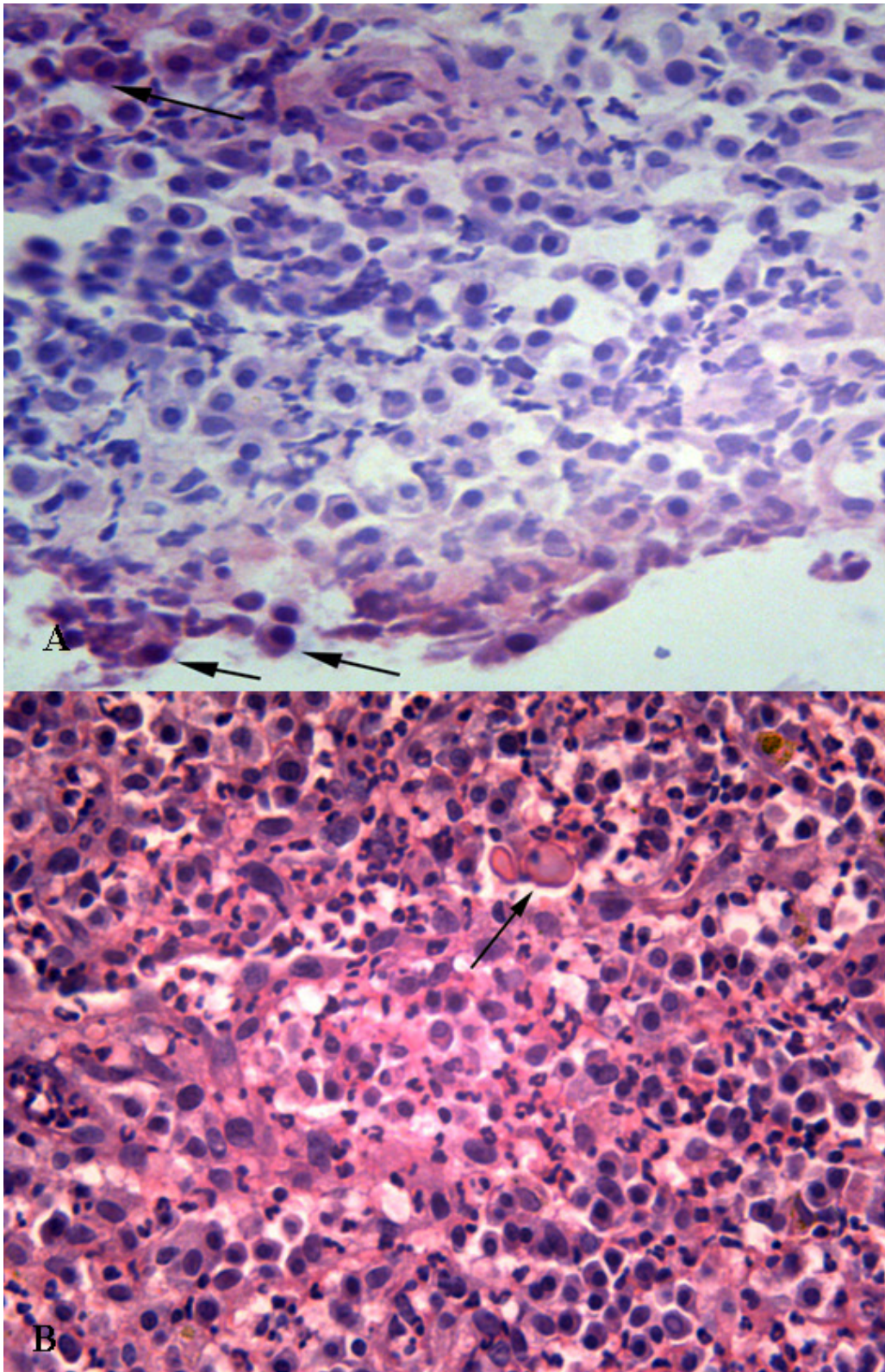


Figura 2. A) Coxim plantar de um felino com pododermatite plasmocitária. Entre o infiltrado inflamatório observam-se células de Mott (setas), H&E, 40X. B. Coxim plantar de um felino com pododermatite plasmocitária. Plasmócitos contendo corpúsculos de Russel foram observados no tecido (seta), H&E, 20X.

Osteopetrose em um cão

Leonardo Gruchouskei, Eduardo C. M. Neto, Mônica K. Oyafuso, Fernando F. Giraldes, Raimundo A. Tostes, Aline M. Viott

Universidade Federal do Paraná, Campus Palotina. Rua Pioneiro, 2153 - Jardim Dallas - Palotina – PR. CEP: 85.950-000. (44) 3211-8520, (44) 3211-8522. viott@ufpr.br.

Identificação do Animal: Canina, SRD, fêmea, aproximadamente 9 meses de idade.

Histórico: O animal foi resgatado das ruas, e desde então passou a morar em casa sem outros contactantes. Alimentava-se de ração comercial, recebeu vacinas e vermífugos conforme orientação médico veterinária. Passou por uma consulta médica para avaliação do seu estado geral. Uma semana após retornou com a queixa de prurido no ouvido. Foi realizado citologia do mesmo, sendo positivo para cocos e malassezia. Na cultura e antibiograma foi isolado, *Staphylococcus intermedius*, sensível a cefalexina, gentamicina, neomicina, sulfa e trimetropim, enrofloxacina, ciprofloxacina e resistente a polimixina. Foi prescrito Otogem plus® 4 gotas, a cada 8 horas, durante 10 dias. Após dez dias o animal começou a apresentar prurido intenso generalizado e alopecia, escoriações, liquenificação, hiperpigmentação e seborréia, em região ventral do pescoço e inguinal. Foi então prescrito xampu com ácido láctico 2%, uréia 3% e glicerina 2%. Não apresentou melhora significativa com o tratamento. Após três meses, o animal retornou para outra consulta, porém com queixa de diminuição de apetite e apatia há aproximadamente 10 dias. Já havia sido medicada por outro veterinário que, com suspeita de pneumonia, prescreveu amoxicilina por 14 dias. O animal apresentou discreta melhora apenas no início do tratamento. Até então, não havia outros sinais. No exame físico foi constatado temperatura de 40,3°C, frequência cardíaca de 156bpm, frequência respiratória de 72mrpm, desidratação leve, mucosas pálidas, alopecia e lignificação das regiões periocular, cervical ventral, inguinal e auricular. Ainda apresentava pústulas e secreção enegrecida no pavilhão auricular.

Foi solicitado hemograma, o qual revelou uma anemia do tipo normocítica normocrônica. Após a contagem de reticulócitos, verificou-se que se tratava de uma anemia aregenerativa (reticulócitos 0,45%). A análise morfológica constatou a presença

de policromasia e corpúsculo de Howell-Jolly. Além disso, o exame indicou trombocitopenia e leucopenia. Frente a suspeita de erliquiose, o tratamento prescrito foi doxiciclina 5mg/kg a cada 12 horas durante 21 dias, além de 2 aplicações de dipropionato de imidocarb (2mg/kg) com intervalo de 14 dias. Após quatorze dias de tratamento foi realizado novos exames de acompanhamento, que indicaram diminuição de eritrócitos e leucócitos.

Frente à pancitopenia progressiva, o tratamento foi suspenso e novos exames laboratoriais foram solicitados: PCR para erliquiose, sorologia para leishmaniose (1/40) e pesquisa de antígeno para cinomose. Todos os resultados foram negativos. Vários hemogramas seriados foram realizados, e um mielograma que constatou hipocelularidade relativa por provável aplasia/hipoplasia medular (não foi possível avaliar a relação granulocítica/eritrocítica). A biópsia por aspiração de medula óssea, foi feita com dificuldade, devido a resistência óssea aumentada, Nesta ocasião, o animal já apresentava outros sinais clínicos: paresia e flacidez da língua. Foi iniciado tratamento com sulfametazol associado à trimetoprim (30 mg/kg) a cada 24 horas e prednisona (1 mg/kg) também a cada 24 horas. Infelizmente, o quadro clínico do animal continuou decaindo nos dias consecutivos com piora progressiva da paresia, flacidez da língua acentuada, perda da sensibilidade nasal, assimetria pupilar, perda do reflexo fotomotor, trismo e secreção ocular purulenta. Como última tentativa, foi realizado uma aplicação de dexametasona (0,1mg/kg/IV), mas infelizmente o animal não apresentou qualquer melhora e morreu.

Descrição macroscópica: A necropsia o animal estava magro com as mucosas conjuntivais e orais intensamente pálidas. A pele da face medial das coxas e da região inguinal apresentava lignificação e hiperpigmentação intensa. Em ambos os ouvidos observou-se moderada exsudação enegrecida (otite). Havia esplenomegalia leve. Os rins estavam difusamente pálidos e ao corte o rim direito apresentava um cisto de 0,5 cm de diâmetro na região cortical. Observava-se edema pulmonar acentuado com presença de espuma e exsudato marrom em toda a extensão da traquéia. Os pulmões estavam hipocrepitantes. Essa hipocrepitação era acentuada nos lobos cranioventrais e mediais. Havia áreas de hepatização vermelha em aproximadamente 40% do pulmão. No córtex parietal direito observou-se uma área focal de malácia com 1,5 cm de diâmetro. Havia achatamento das circunvoluções cerebrais no hemisfério afetado.

A avaliação macroscópica dos ossos não evidenciou alterações de forma e tamanho. Na abertura dos ossos longos (fêmur, úmero e costelas) percebia-se retenção das trabéculas ósseas primárias que se estendiam da metáfise até a diáfise dos ossos, obliterando o espaço medular. A cortical era espessa e o espaço medular estava acentuadamente reduzido, dando ao osso um aspecto sólido e inteiriço. A medula óssea vermelha estava disposta somente no centro da diáfise ocupando o espaço medular restante.

Descrição microscópica: Ossos (fêmur, úmero, costelas, mandíbula): histologicamente a forma das epífises placas de crescimento, metáfises e diáfises estavam normais. Observava-se grande quantidade de tecido condro-ossificado nas diáfises e metáfises dos ossos longos consistindo de matriz cartilaginosa envolta por espessas camadas de tecido ósseo (Figura 1A e 1B). As trabéculas ósseas da epífise e da metáfise eram espessas, confluentes e algumas vezes concentricamente arranjadas. Estes obliteravam toda a extensão da medular do osso. Os osteoclastos estavam presentes, mas pareciam inativos. As lacunas de Howship eram raras. Havia inúmeras linhas de cimentação nas trabéculas formadas (Figura 2A) resultando em aspecto de mosaico típico. Em meio a essas espessas trabéculas ósseas notavam-se áreas com ausência de osteócitos e em alguns casos essas áreas eram acompanhadas de intensa osteonecrose (Figura 2B). Observavam-se áreas multifocais moderadas a acentuadas de fibrose e necrose da medula óssea (Figura 3A e 3B).

Diagnóstico morfológico: Osso (úmero, fêmur, costela, mandíbula), osteopetrose difusa severa com osteonecrose multifocal moderada, canino, S.R.D., fêmea, 9 meses de idade.

Diagnóstico etiológico: Osteopatia congênita.

Exames complementares: Hemogramas sucessivos demonstraram pancitopenia progressiva caracterizada por anemia normocítica normocrômica arregenerativa, trombocitopenia e leucopenia grave

HERITROGRAMA	18/10/2010	27/10/2010	09/11/2010	20/11/2010
Hemácias	3.560 milhões	2.630 milhões	2,800 milhões	2,970 milhões
Hemoglobina	8,1 g%	6,6 g%	7,1 g%	6,9 g%
Hematócrito	24%	19%	20%	20%
VCM	67,415	72,243	71,428	67,34
CHCM	33,750	34,736	35,500	34,5
Plaquetas	81.000	63.000	81.000	81.000
Reticulócitos	0,64%	—	—	0,45%
LEUCOGRAMA				
Leucócitos	5700	3900	1942	2.500
Metamielócito	0	0	0	0
Bastonetes	0	0	0	50
Segmentados	4.731	2.574	1.223	1.150
Eosinófilos	0	0	19	50
Basófilos	0	0	0	0
Linfócitos	912	1.092	621	1.100
Monócitos	57	234	77	150

Comentários: A osteopetrose é uma doença óssea metabólica hereditária caracterizada pelo aumento generalizado da densidade óssea devido a um incremento na aposição óssea ou decréscimo na absorção. Embora a patogênese permaneça obscura a função anormal dos osteoclastos é o principal fator desencadeante da lesão na maioria das espécies. A osteopetrose já foi relatada em camundongos, ratos, aves, ovinos, bovinos, peixe-boi, gato, pacas e em veado da cauda branca. Em cães a osteopetrose já foi relatada em uma ninhada de três filhotes de Daschshund. Os ossos afetados possuíam tamanhos e formato normal, mas a fragilidade óssea estava aumentadas sendo, as fraturas, a principal queixa clínica. Casos isolados já foram relatados em Pastor Australiano e Pequênês com 12 e 30 meses respectivamente.

Ao que parece nos animais a maioria dos casos de osteopetrose é herdada como um caráter autossômico recessivo. Devido à complexidade da função e diferenciação dos osteoclastos, existem muitos pontos onde a absorção óssea pode ser interrompida, o que explica a variabilidade clínica e morfológica dos casos de osteopetrose. Em algumas formas da doença os osteoclastos estão presentes em abundância, mas, são incapazes de fazer a reabsorção óssea enquanto em outros, os osteoclastos estão ausentes ou marcadamente reduzidos em número.

Esta doença está presente ao nascimento e é caracterizada por retardo do crescimento, desnutrição progressiva, anemia e caquexia. Os ossos acometidos são densos e não tem cavidade medular, pois a esponjosa primária se estende das metáfises até o centro das diáfises, dando um aspecto marmorizado ao osso. Devido a isso, a osteopetrose, também é conhecida como “a doença do osso de mármore”.

Como a osteopetrose interfere na reabsorção óssea, o compartimento medular é invadido por tecido ósseo, comprometendo a homeostasia das células sanguíneas, levando a grave anemia mielotísica. O termo mieloptise designa um estado de conformação medular em que algum ou todos os compartimentos produtores de células sanguíneas sofrem “invasão” de seus espaços virtuais. Dentre as anormalidades metabólicas capazes de causar mieloptise, merecem destaque a osteopetrose e as doenças do armazenamento lipídico (doença de Gaucher e doença de Neimann Pick). Quadros de anemia mielotísica em decorrência da osteopetrose são citados no homem, coelhos e em cães.

O diagnóstico da osteopetrose é realizado pela histologia, mas achados radiológicos característicos associados a uma punção aspirativa da medula óssea fracassada, em virtude da ossificação acentuada do canal medular, são fortes indícios da doença. Radiograficamente, as cavidades medulares são densas, sem uma diferenciação clara entre o córtex e medular. No exame radiográfico dos cães afetados relata-se aumento acentuado da opacidade dos ossos longos com hipertrofia da cortical óssea.

Lesões semelhantes à osteopetrose, com esclerose metafisária, podem ocorrer em associação com a infecção vírus da cinomose canina em filhotes e na intoxicação por chumbo. Nos quadros de intoxicação por chumbo observa-se persistência da cartilagem trabecular mineralizada na metáfise devido ao comprometimento dos osteoclastos. Muitos osteoclastos estão presentes, mas encontram-se separados da superfície do osso trabecular. Em alguns casos corpúsculos de inclusão intranucleares eosinofílicos, álcool ácido resistentes, são observados nos osteócitos. O vírus da cinomose induz esclerose metafiseal, pois induz a morte dos osteoclastos medulares. Em gatos, a osteopetrose tem sido associada à intoxicação por vitamina D e a infecção pelo vírus da leucemia felina. A osteopetrose também ocorre em animais tratados com altas doses de corticosteróides (5mg/100kg PV) por um período superior a três meses.

Referências consultadas:

BALEMANS, W.; VANWESENBEECK, L.; VANHUL, W. A clinical and molecular overview of the human osteopetroses. **Calcified Tissue International**, v.77, p. 263-274, 2005.

COUTINHO, P. S.; OCARINO, N. M.; FERREIRA, M. B.; RESENDE, R.; SILVA, V. L.; GUEDES, R. M. C. *Serakides* R Familiar osteopetrosis in *Agouti paca*: report of

nine cases. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia**, Belo Horizonte, v.60, n.6, p.1454-1460, 2008.

FIGHERA, R. A. **Anemia em medicina veterinária**. Santa Maria: o autor, p.155 -157, 2001.

FUJITA M, TAKAISHI Y, NAGAE H, WATANABE N, HASEGAWA D, TANIGUCHI A, ORIMA H. Osteopetrosis-like disease in a cat with respiratory distress. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 69, n. 6, p. 687-690, 2007.

GLADE, M.J.; KROOK, L. Glucocorticoid-induced inhibition of osteolysis and the development of osteopetrosis, osteonecrosis and osteoporosis. **The Cornell Veterinarian**, v. 72, p.76-91, 1982.

LEES, G. E.; SAUTTER, J. H. Anemia and osteopetrosis in a dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 175, n. 8, p. 820-824, 1979.

PEARCE L. Hereditary osteopetrosis of the rabbit. **The journal of experimental medicine**, Rockefeller, v. 88, p. 597- 620, 1948.

RISER, W. H.; FANKHAUSER, R. Osteopetrosis in the dog: A report of three cases. **Veterinary Radiology**, v.11, n.1, p. 29-34, 1970.

SMITS, B.; BUBENIK, G. A. Congenital Osteopetrosis in White-tailed Deer (*Odocoileus virginianus*), **Journal of Wildlife Diseases**. v. 26, n. 4, p. 567-571, 1990.

THOMPSON, K. Diseases of bones and joints. In: MAXIE, M. G. **Pathology of Domestic Animals**. 5.ed. Edinburgh: Saunders, v. 1, p. 38-40. 2007.

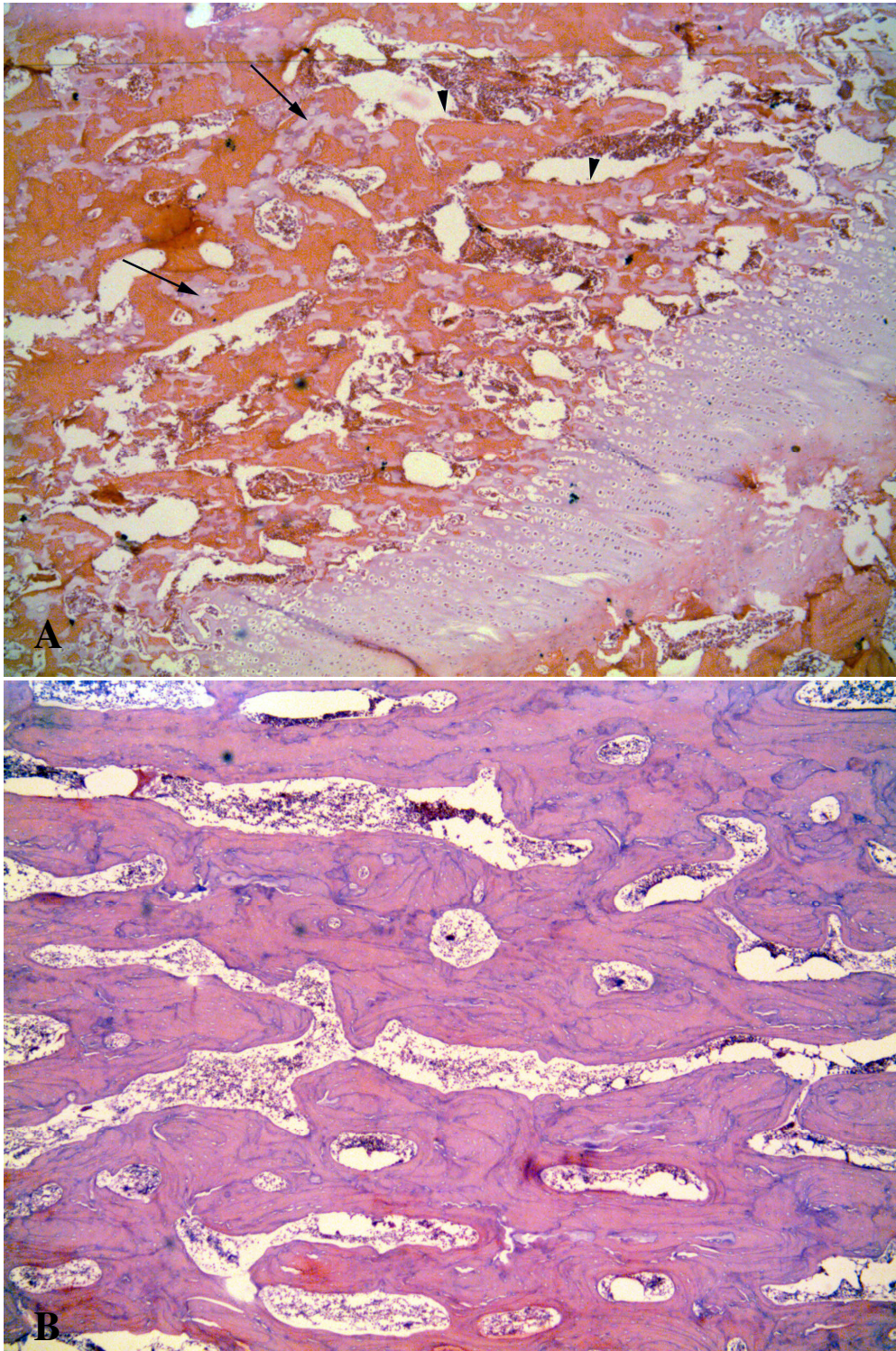


Figura 1) Fêmur de um canino com osteopetrose. A) Observa-se a morfologia normal da cartilagem da placa de crescimento. Notar a ausência de remodelação óssea. Grande número de trabéculas ósseas ocupando a área da metafise. Em todas as trabéculas formadas é possível notar a presença de coração condróide (setas) envoltos por espessa camada de tecido ossificado (cabeças de seta), H&E, 4X. B) Na diáfise femoral observa-se a obliteração do canal medular pelas trabéculas ósseas, H&E, 4X.

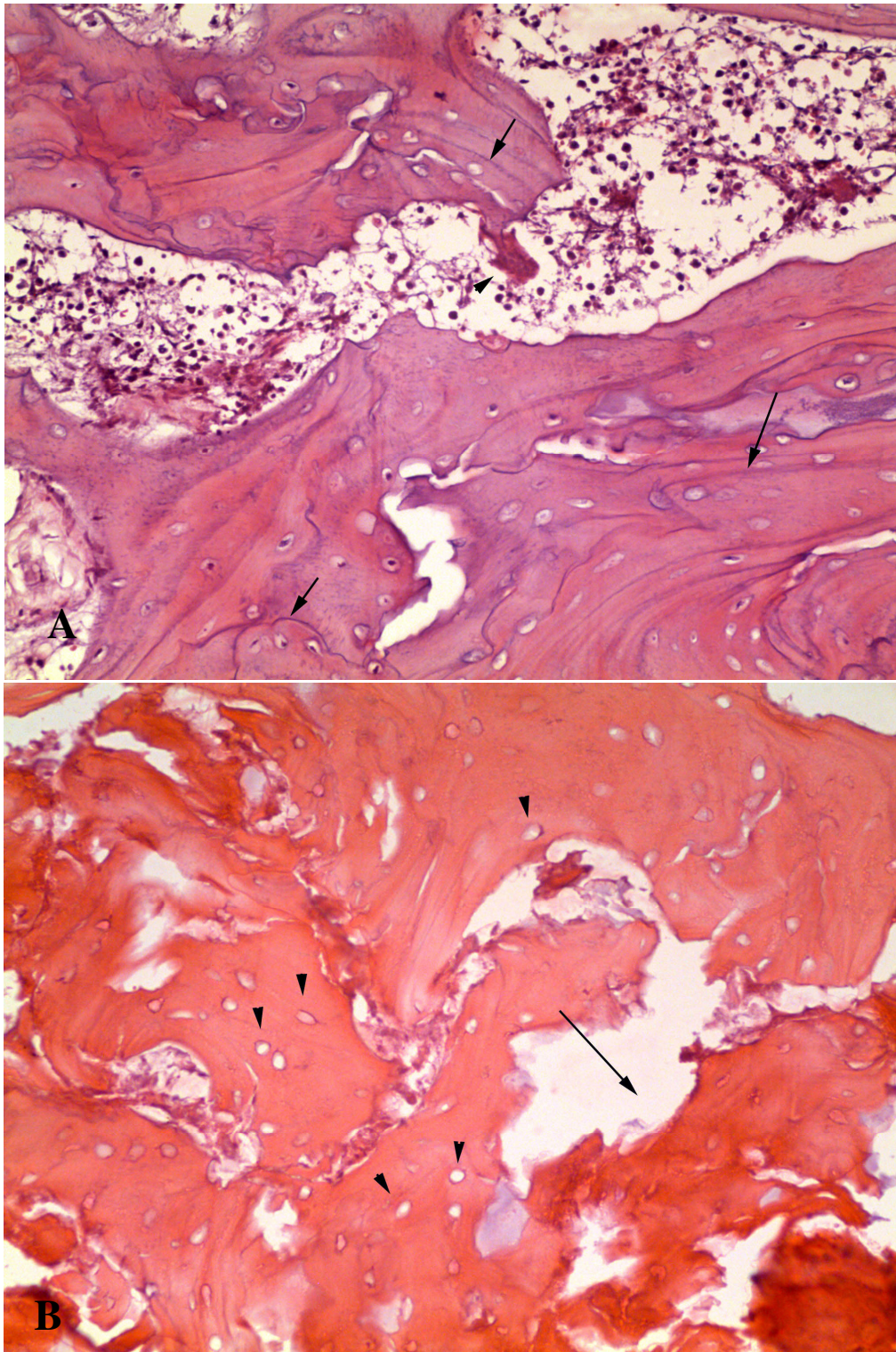


Figura 2) Úmero de um canino com osteopetrose. A) Na diáfise observam-se as trabéculas ósseas com grande quantidade de linhas de cimentação (setas) resultando em aspecto de mosaico típico. Notar osteoclasto afuncional (cabeça de seta), H&E, 20X. B) Metáfise umeral. Ausência de osteócitos no tecido ósseo, grande observa-se um grande número de lacunas vazias (cabeças de seta). Em um segmento da imagem percebe-se osteonecrose caracterizada pelo aumento da eosinofilia e fragmentação tecidual (seta), H&E, 20X.

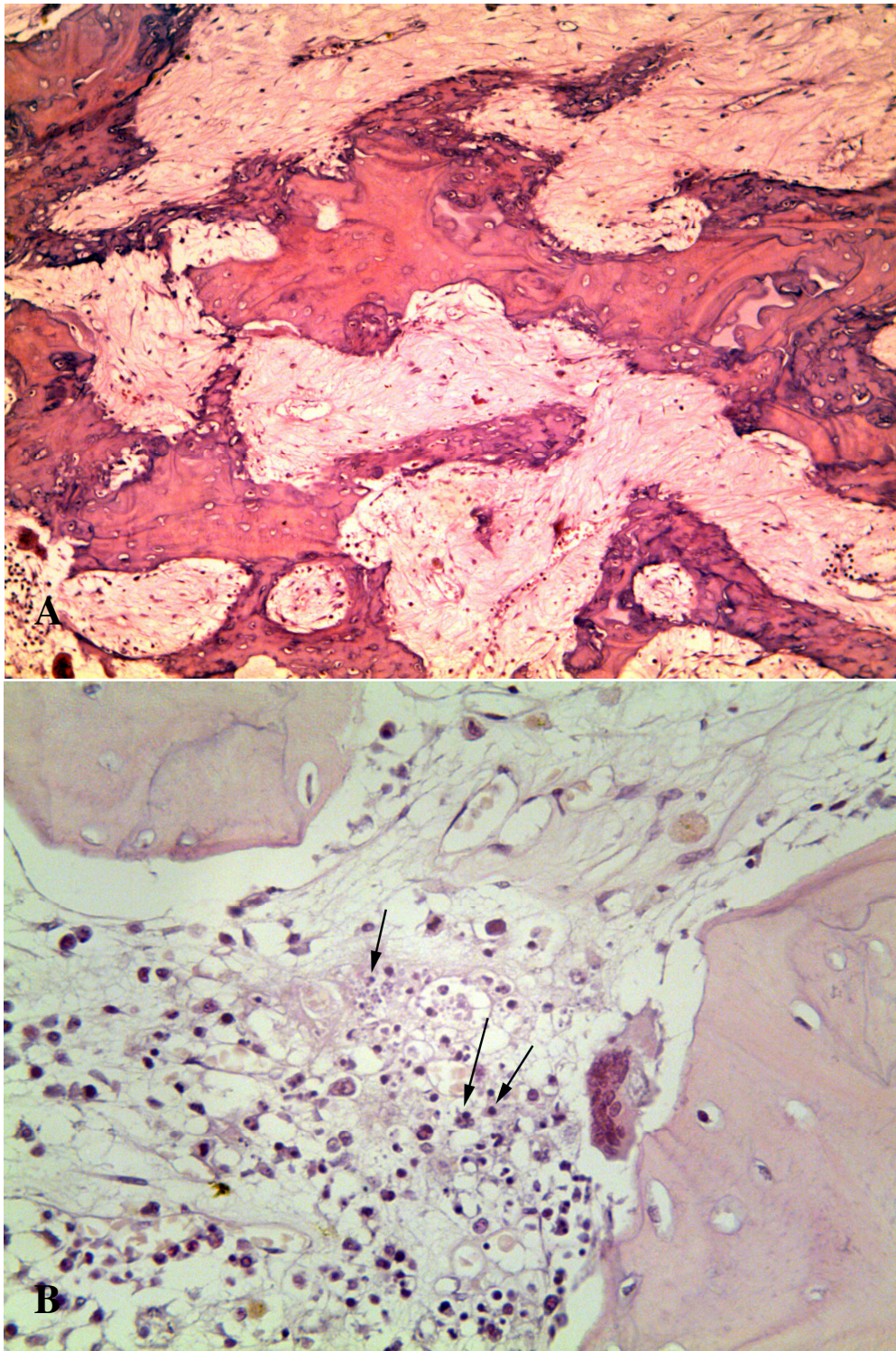


Figura 3) Fêmur de um canino com osteopetrose. A) Há intensa fibrose da medula óssea com depleção celular severa, H&E, 20X. B) Há necrose das células da medula óssea restante (setas), H&E, 40X.

Encefalite Protozoal em cão com Cinomose

Taismara S. Oliveira^{1,2}, Safira R. D. Lima¹, Ronaldo Furtini¹, Renato L. Santos²

¹Laboratório de Saúde Animal do Instituto Mineiro de Agropecuária, Minas Gerais, Brasil.

²Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil. Telefone:55-31-3409-2239. Fax: 55-31-3409-2230.E-mail: rsantos@vet.ufmg.br

- **Identificação do Animal:** Cão, SRD, M, 11 meses.
- **Histórico:** Animal proveniente de Manhumirim, Minas Gerais. Apresentou depressão, ataxia, paralisia (mas alerta), cegueira, incoordenação, convulsão, tremores, espasmos musculares e alteração comportamental. Foi encaminhado à clínica veterinária local para atendimento, porém o quadro progrediu de forma desfavorável, progredindo para óbito. Amostras de sistema nervoso central (SNC) foram coletadas pelo clínico, conservadas sob refrigeração (cérebro, hipocampo e bulbo) e em formol a 10% (cerebelo), e encaminhadas para análise ao Laboratório de Saúde Animal / IMA.
- **Descrição macroscópica:** não foram visualizadas alterações macroscópicas nos fragmentos de SNC avaliados.
- **Descrição histopatológica:** Fragmentos de cerebelo apresentando infiltrado inflamatório histiocitário, multifocal, moderado nas meninges e espaços perivasculares da camada molecular, associado a áreas multifocais de malácia cortical, contendo inúmeras células Gitter (polioencefalomalácia). Estruturas císticas circulares, medindo 20 a 40 µm de diâmetro, contendo zoitos de 2 a 4 µm de diâmetro (bradizoítos) intralesionais. A substância branca cerebelar apresentava áreas multifocais de intensa vacuolização (desmielinização) associada à malácia com células Gitter (leucoencefalomalácia), inúmeros gemistócitos, e corpúsculos de inclusão eosinofílicos, intranucleares em neurônios e astrócitos (compatíveis com corpúsculos de Lentz). Epitélio endimário apresentando inúmeras células gigantes multinucleadas (sincícios) contendo alguns corpúsculos de inclusão eosinofílicos intracitoplasmáticos (corpúsculos de Lentz).
- **Diagnóstico morfológico:** Meningoencefalite histiocitária e necrotizante, aguda, multifocal, moderada associada a estruturas compatíveis com cistos de protozoários intralesionais / Leucoencefalomalácia e desmielinização agudas, multifocais, intensas com corpúsculos de inclusão intranucleares e intracitoplasmáticos em neurônios, astrócitos e células sinciciais.

- **Diagnóstico etiológico:** Meningoencefalite protozoal (provável infecção por *Toxoplasma gondii* e/ou *Neospora caninum*) / Leucoencefalomalácia e desmielinização virais (compatíveis com infecção pelo vírus da Cinomose).
- **Exames complementares:** Raiva negativo (imunofluorescência direta e inoculação em camundongo) / *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* negativos (imuno-histoquímica).
- **Comentários:** A cinomose é uma doença viral altamente contagiosa causada por um Morbillivirus, da família *Paramyxoviridae*. O cão representa o principal reservatório para o vírus e serve como fonte de infecção para carnívoros selvagens. Os cães infectados pelo vírus da cinomose desenvolvem imunossupressão e lesões respiratórias, gastrintestinais, dermatológicas, oftalmológicas e/ou neurológicas. Os sinais neurológicos mais comumente observados em cães com cinomose são: cegueira, convulsões, ataxia cerebelar, vestibular ou sensorial e mioclonias. Estas mioclonias são constatadas mais comumente nos músculos faciais, mastigatórios e apendiculares, e são consideradas como patognomônicas da cinomose. A lesão no SNC se manifesta como três síndromes clínicas conhecidas como encefalomielite dos cães jovens, encefalomielite multifocal dos cães adultos e encefalite dos cães idosos. No SNC, o vírus causa lesões principalmente no cerebelo e nas colunas brancas da medula espinhal, caracterizadas por áreas de necrose bem delimitadas, desmielinização e inclusões intranucleares, principalmente em astrócitos. As inclusões intracitoplasmáticas são mais comumente visualizadas no pulmão, intra-sinciciais. Porém quando há a formação de células sinciciais no SNC, as mesmas também podem ser encontradas. A observação dessas lesões confirma o diagnóstico da infecção. Além disso, a observação de outros órgãos pode revelar pneumonia intersticial, hiperqueratose ortoqueratótica e/ou paraqueratótica nos coxins digitais e depleção linfóide. Considerando as alterações microscópicas decorrentes da infecção pelo vírus da Cinomose, deve-se avaliar entre os diagnósticos diferenciais, a possibilidade de infecção pelo vírus da raiva e herpesvírus suíno tipo-1 (pseudorraiva ou doença de Aujeszky). Outros vírus causadores de encefalite em cães também podem ser considerados, como herpesvírus canino tipo-1, vírus da Febre do Oeste do Nilo (*West Nile vírus*), Borna virus, vírus *Louping ill* e vírus Nipah, porém este último com menor probabilidade.

Os protozoários visualizados nos cortes histológicos apresentaram características compatíveis com *T. gondii* ou *N. caninum*. A toxoplasmose é uma enfermidade causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, um coccídio com distribuição mundial. Felinos

domésticos e selvagens são os hospedeiros definitivos e a infecção do hospedeiro intermediário se dá através da ingestão de oocistos esporulados ou via transplacentária. Os taquizoítos e bradizoítos são os dois estágios teciduais do *T. gondii* encontrados nos tecidos hospedeiros infectados. A infecção do SNC ocorre quando a barreira hematoencefálica é rompida, por organismos livres ou localizados intracelularmente em leucócitos, infectando as células endoteliais. Cães com toxoplasmose generalizada comumente apresentam infecção respiratória, gastrintestinal ou neuromuscular, resultando em febre, vômito, diarreia, dispnéia e icterícia. Pode ocorrer miosite, que se manifesta através de fraqueza, marcha rígida ou emaciação muscular. Ataxia, convulsões, tremores, déficits dos nervos cranianos, paresia e paralisia são as manifestações mais comuns da toxoplasmose no SNC. As lesões microscópicas iniciais incluem infecção e proliferação dentro das células endoteliais pelos taquizoítos de *T. gondii*, resultando em uma tumefação celular com posterior degeneração, hemorragia, oclusão capilar, necrose isquêmica e edema do tecido subjacente. Subsequentemente, os taquizoítos invadem o SNC, induzindo uma intensa resposta inflamatória, levando à necrose, hemorragia e formação de manguitos perivascularares. Com a cronicidade e com o aumento da resposta inflamatória e imunológica pelo hospedeiro, há formação dos cistos teciduais, contendo bradizoítos. O diagnóstico *in vivo* pode ser obtido se o microorganismo for demonstrado; contudo, isso é raro, particularmente se a doença for crônica. Os microorganismos nas lesões podem ser identificados em cortes histológicos corados por H&E, mas a imunohistoquímica facilita sua detecção e identificação. A neosporose é uma enfermidade provocada pelo *Neospora caninum*, parasita intracelular obrigatório, que tem sido descrita em várias espécies de animais, sendo o cão seu hospedeiro definitivo. Embora relatada em diversos países, a prevalência da doença é indeterminada. Apesar de ser antigenicamente distinto do *T. gondii*, o *N. caninum* apresenta aspecto morfológico similar ao primeiro. Ambos apresentam divisão dos taquizoítos por endodiogenia e as fases proliferativas (taquizoítos) e de cisto tecidual (bradizoítos). Entretanto, o *N. caninum* não se desenvolve dentro do vacúolo parasitóforo da célula hospedeira como faz o *T. gondii*, que só é detectada através de microscopia eletrônica de transmissão. A única via de transmissão comprovada em cães é a transplacentária, que pode ocorrer continuamente durante as gestações subsequentes. A doença neurológica pode ser dividida em duas categorias; uma que ocorre durante a vida pós-gestacional e a outra que provoca abortos no meio e fim da

gestação. Em cães jovens observa-se polirradiculoneurite ascendente e poliomiosite. Animais adultos apresentam sinais mais relacionados com as lesões no SNC agravadas por poliomiocite, miocardite e dermatite. Microscopicamente, as lesões são similares àquelas descritas para o *T. gondii*. O padrão morfológico e o caráter das lesões encontradas no SNC são mais consistentes, com tropismo endotelial, tumefação e lesão vascular, isquemia tecidual e infarto multifocal. Apesar de existirem algumas diferenças morfológicas entre os agentes, a diferenciação por microscopia de luz é precária e o exame por microscopia eletrônica ou imuno-histoquímica se faz necessária. A identificação dos cistos de *N. caninum* é observada no sistema nervoso central e periférico, enquanto os taquizoítos são encontrados em uma variedade de outros tecidos.

Apesar da técnica de imuno-histoquímica ter apresentado resultado negativo para ambos protozoários, a possibilidade de infecção pelos mesmos não pode ser descartada. Além disso, considerando que a sensibilidade dessa técnica varia segundo o tempo de fixação em reagentes, como o formol, estado de conservação / autólise dos tecidos e abundância dos antígenos nos fragmentos avaliados, a possibilidade de um resultado falso-negativo deve ser aventada. As características morfológicas apresentadas pelos agentes visualizados na microscopia são muito sugestivos de infecção pelos referidos protozoários supracitados. Porém, dentre os diagnósticos diferenciais, podemos considerar a possibilidade de infecção por *Encephalitozoon cuniculi*, *Sarcocystis canis*, *Besnoitia* sp e *Theileria* sp.

Casos de cães apresentando infecção concomitante pelo vírus da cinomose e por protozoários, com ênfase a *T. gondii* e *N. caninum*, são incomuns. Provavelmente, o animal já apresentava os cistos dos protozoários no encéfalo, e quando infectado pelo vírus da cinomose, apresentou quadro de imunossupressão, havendo re-agudização da infecção protozoal.

- **Referências consultadas:**

BAGLEY, R.S; WHEELER, S.J. Doenças do Sistema Nervoso. In: DUNN, J.K. Tratado de Medicina de Pequenos Animais. São Paulo: Ed. Roca. p. 921-922, 2001.

FENNER, W.R. Doenças do Cérebro. In: ETTINGER S.J.; FELDMAN E.C. Tratado de Medicina Interna Veterinária. Ed. 5ª. Ed. Guanabara Koogan. p. 632-632, 2004.

JUBB K.V.F. & HUXTABLE C.R. The nervous system. In: Jubb KVF., Kennedy PC. & Palmer N. (Eds). Pathology of Domestic Animals, vol.1. 4th ed. Academic Press, San Diego, p.267-437, 1993.

MORETTI, LA. et al . Toxoplasma gondii genotyping in a dog co-infected with distemper virus and ehrlichiosis rickettsia. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v.48, n.6, 2006 .

SILVA, MC. et al. Neuropatologia da cinomose canina: 70 casos (2005-2008). *Pesq. Vet. Bras.*, v.29, n.8, p.643-652, 2009.

SUMMERS B.A., CUMMINGS J.F. & DE LAHUNTA A. 1995. *Veterinary Neuropathology*. Mosby, St Louis. 527p.

•

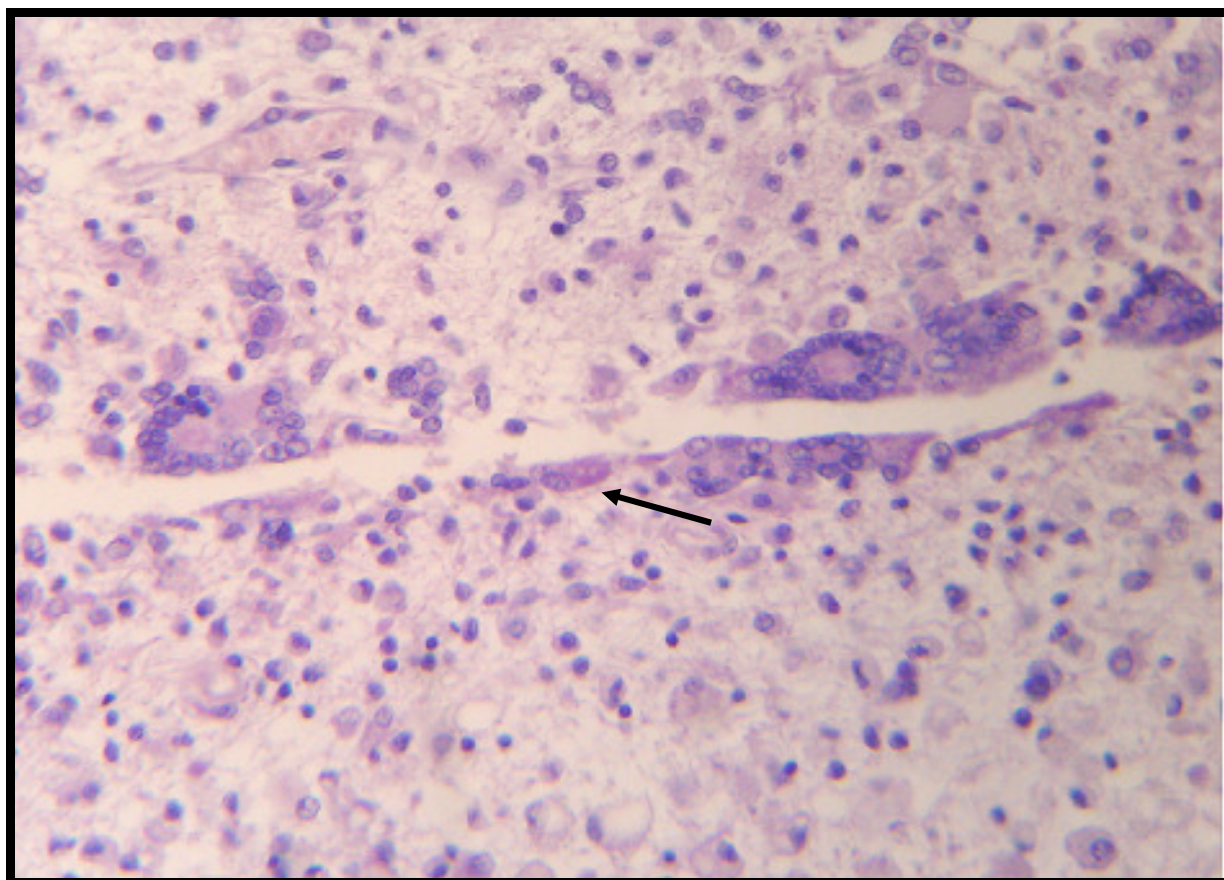


Fig. 01 – Cão, Cerebelo: epitélio ependimário apresentando inúmeras células gigantes multinucleadas (células sinciciais) com corpúsculos de inclusão eosinofílicos, intracitoplasmáticos (seta). (H&E, 40x)

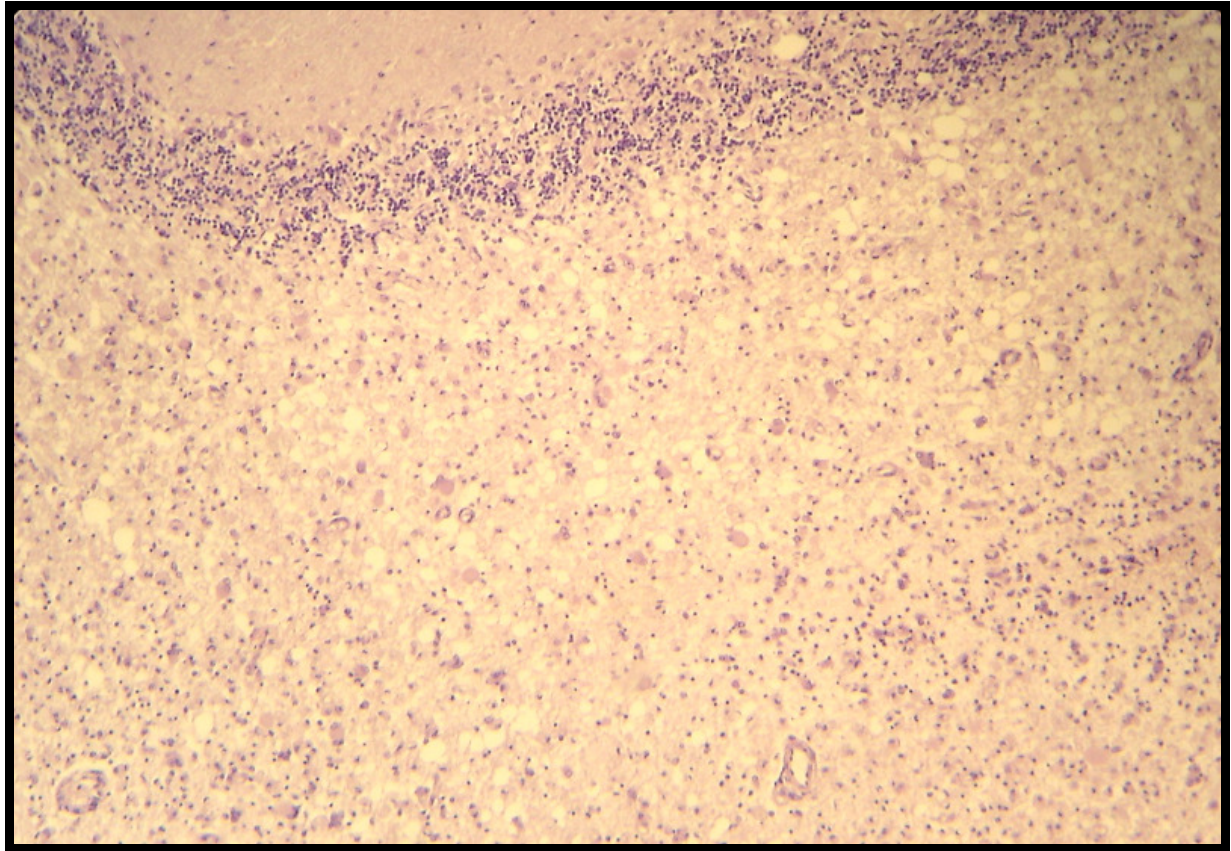


Fig. 02 – Cão, Cerebelo: Substância branca cerebelar apresentando intensa vacuolização (desmielinização) associada à malácia com células Gitter (leucoencefalomalácia) e incontáveis gemistócitos. (H&E, 10x)

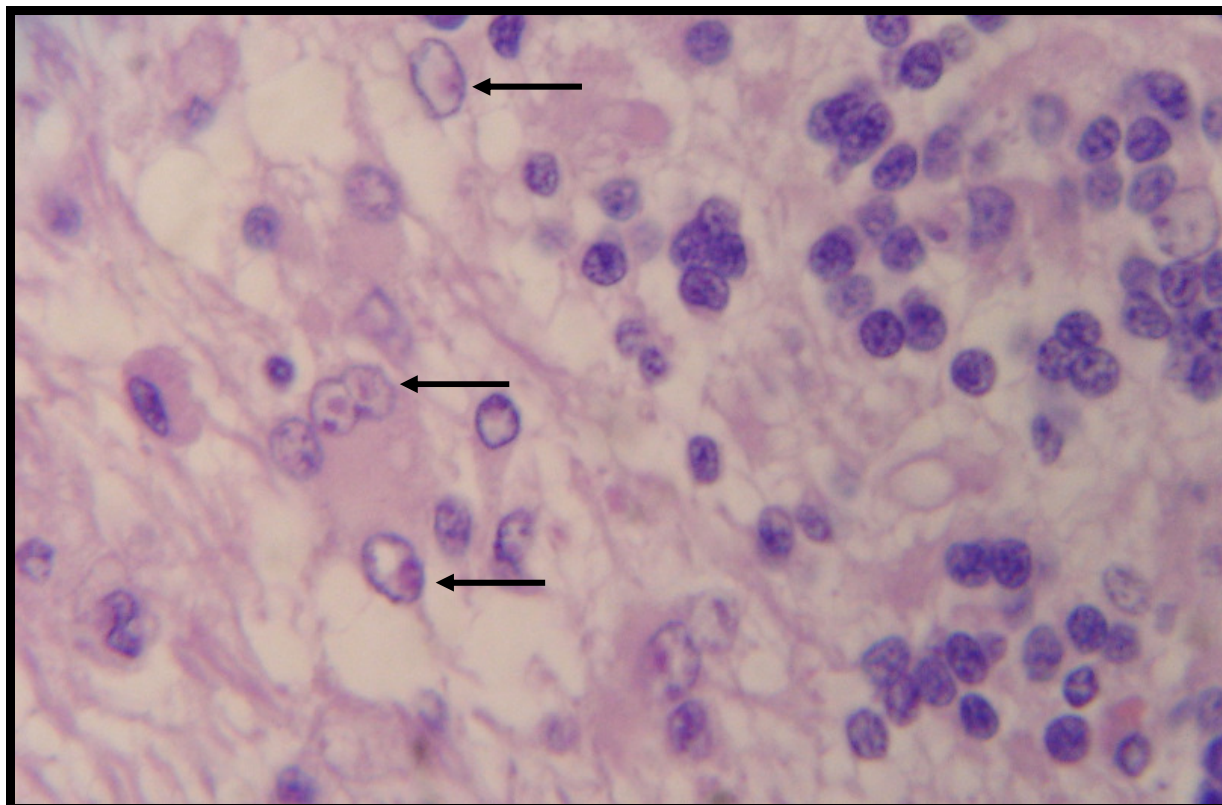


Fig. 03 – Cão, Cerebelo: Substância branca cerebelar apresentando intensa vacuolização (desmielinização) e corpúsculos de inclusão, eosinofílicos, intranucleares em astrócitos (setas). (H&E, 10x)

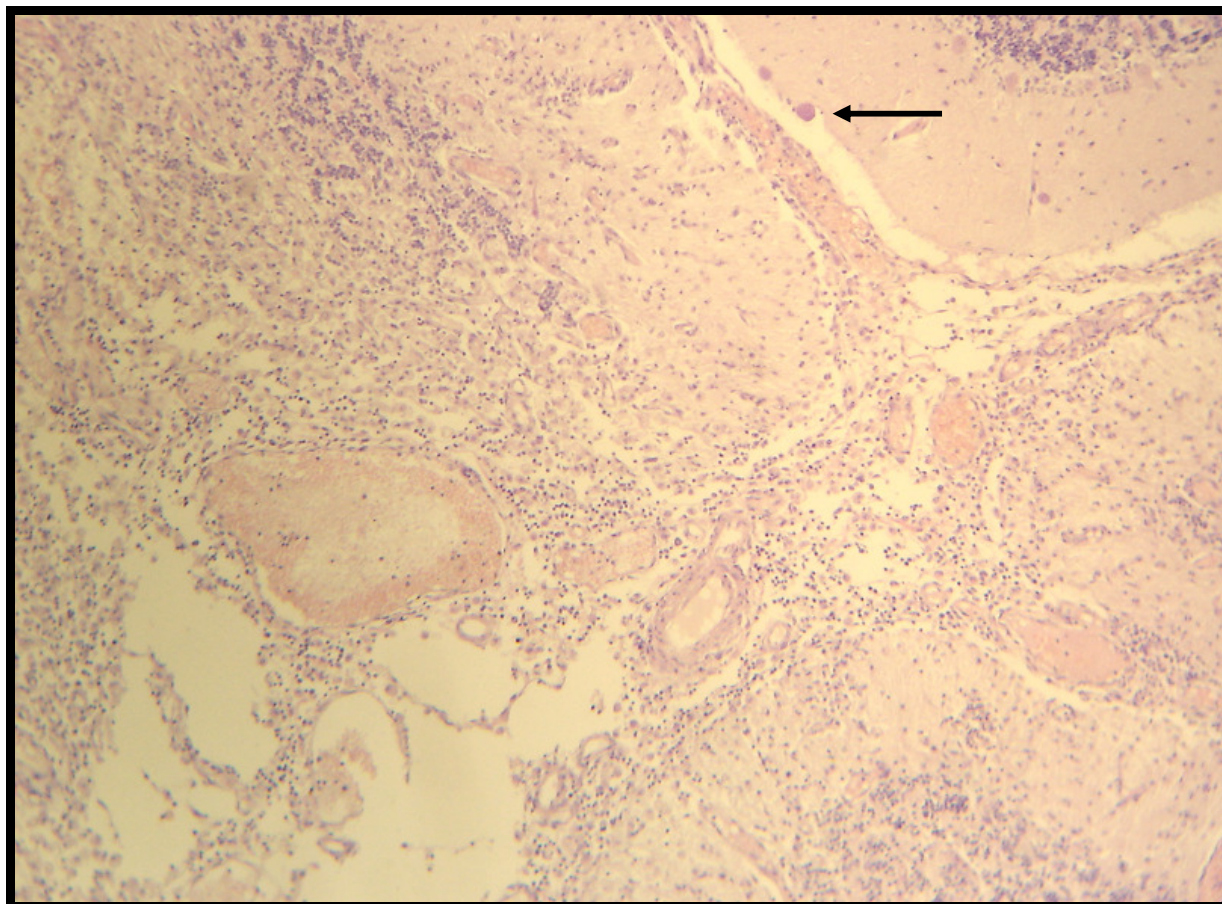


Fig. 04 – Cão, Cerebelo: infiltrado inflamatório histiocitário, multifocal, moderado nas meninges e espaços perivascularares da camada molecular, associado à áreas multifocais de malácia cortical, contendo incontáveis células Gitter (polioencefalomalácia). Há algumas estruturas circulares medindo 20 a 40 μ m de diâmetro (cistos) intralaminares (seta). (H&E, 10x)

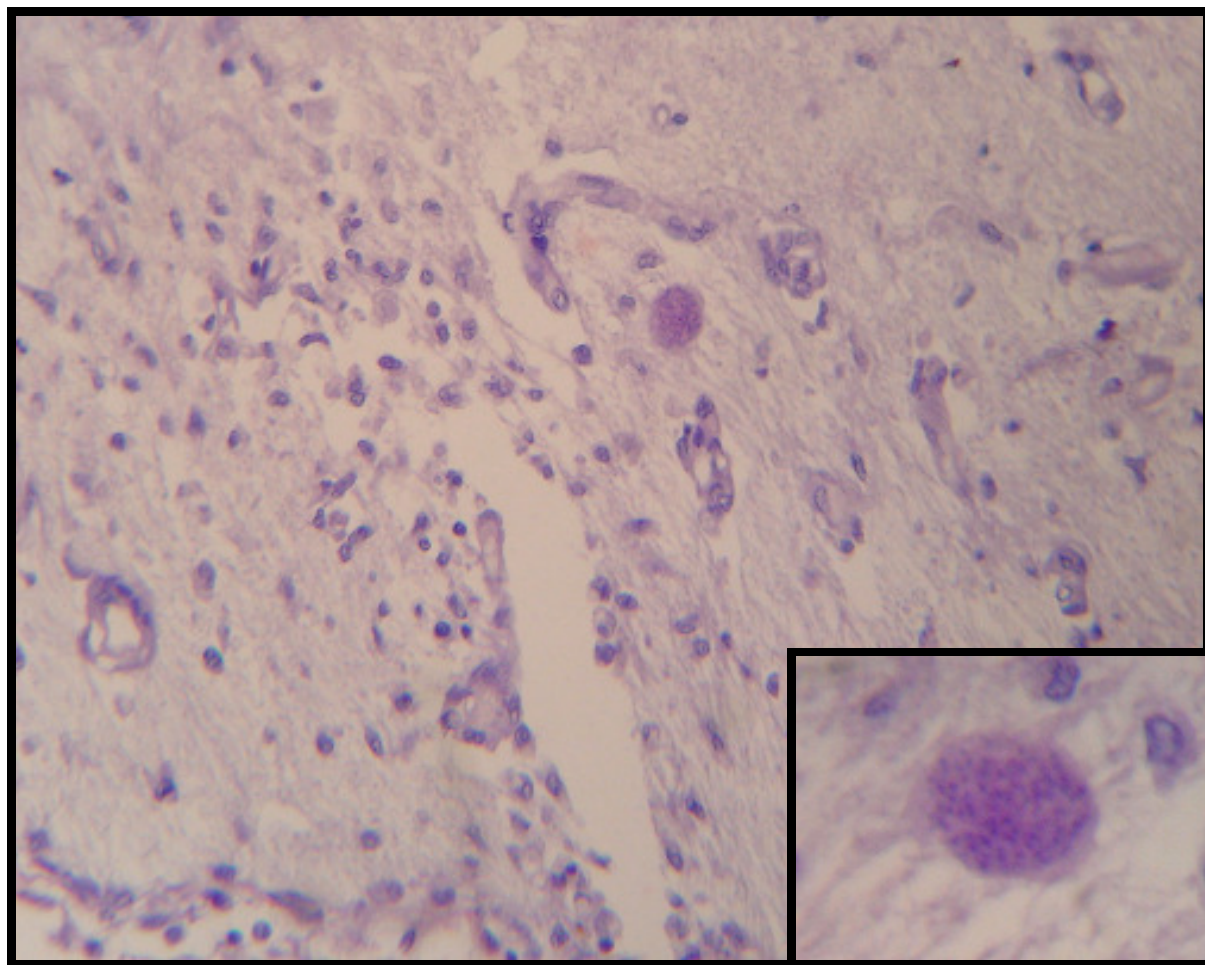


Fig. 05 – Cão, Cerebelo: área focal de malácia da camada molecular, com células Gitter e mangitos perivascularres histiocitários associados. Há algumas estruturas circulares medindo 20 a 40 μm de diâmetro (cistos) intralaminares, contendo microorganismos de 2-4 μm de diâmetro, compatíveis com bradizoítos (em destaque – 100x). (H&E, 40x)

Encefalite Protozoal em cão com Cinomose

Taismara S. Oliveira^{1,2}, Safira R. D. Lima¹, Ronaldo Furtini¹, Renato L. Santos²

¹Laboratório de Saúde Animal do Instituto Mineiro de Agropecuária, Minas Gerais, Brasil.

²Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil. Telefone:55-31-3409-2239. Fax: 55-31-3409-2230.E-mail: rsantos@vet.ufmg.br

- **Identificação do Animal:** Cão, SRD, M, 11 meses.
- **Histórico:** Animal proveniente de Manhumirim, Minas Gerais. Apresentou depressão, ataxia, paralisia (mas alerta), cegueira, incoordenação, convulsão, tremores, espasmos musculares e alteração comportamental. Foi encaminhado à clínica veterinária local para atendimento, porém o quadro progrediu de forma desfavorável, progredindo para óbito. Amostras de sistema nervoso central (SNC) foram coletadas pelo clínico, conservadas sob refrigeração (cérebro, hipocampo e bulbo) e em formol a 10% (cerebelo), e encaminhadas para análise ao Laboratório de Saúde Animal / IMA.
- **Descrição macroscópica:** não foram visualizadas alterações macroscópicas nos fragmentos de SNC avaliados.
- **Descrição histopatológica:** Fragmentos de cerebelo apresentando infiltrado inflamatório histiocitário, multifocal, moderado nas meninges e espaços perivasculares da camada molecular, associado a áreas multifocais de malácia cortical, contendo inúmeras células Gitter (polioencefalomalácia). Estruturas císticas circulares, medindo 20 a 40 μ m de diâmetro, contendo zoitos de 2 a 4 μ m de diâmetro (bradizoítos) intralesionais. A substância branca cerebelar apresentava áreas multifocais de intensa vacuolização (desmielinização) associada à malácia com células Gitter (leucoencefalomalácia), inúmeros gemistócitos, e corpúsculos de inclusão eosinofílicos, intranucleares em neurônios e astrócitos (compatíveis com corpúsculos de Lentz). Epitélio endimário apresentando inúmeras células gigantes multinucleadas (sincícios) contendo alguns corpúsculos de inclusão eosinofílicos intracitoplasmáticos (corpúsculos de Lentz).
- **Diagnóstico morfológico:** Meningoencefalite histiocitária e necrotizante, aguda, multifocal, moderada associada a estruturas compatíveis com cistos de protozoários intralesionais / Leucoencefalomalácia e desmielinização agudas, multifocais, intensas com corpúsculos de inclusão intranucleares e intracitoplasmáticos em neurônios, astrócitos e células sinciciais.

- **Diagnóstico etiológico:** Meningoencefalite protozoal (provável infecção por *Toxoplasma gondii* e/ou *Neospora caninum*) / Leucoencefalomalácia e desmielinização virais (compatíveis com infecção pelo vírus da Cinomose).
- **Exames complementares:** Raiva negativo (imunofluorescência direta e inoculação em camundongo) / *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* negativos (imuno-histoquímica).
- **Comentários:** A cinomose é uma doença viral altamente contagiosa causada por um Morbillivirus, da família *Paramyxoviridae*. O cão representa o principal reservatório para o vírus e serve como fonte de infecção para carnívoros selvagens. Os cães infectados pelo vírus da cinomose desenvolvem imunossupressão e lesões respiratórias, gastrintestinais, dermatológicas, oftalmológicas e/ou neurológicas. Os sinais neurológicos mais comumente observados em cães com cinomose são: cegueira, convulsões, ataxia cerebelar, vestibular ou sensorial e mioclonias. Estas mioclonias são constatadas mais comumente nos músculos faciais, mastigatórios e apendiculares, e são consideradas como patognomônicas da cinomose. A lesão no SNC se manifesta como três síndromes clínicas conhecidas como encefalomielite dos cães jovens, encefalomielite multifocal dos cães adultos e encefalite dos cães idosos. No SNC, o vírus causa lesões principalmente no cerebelo e nas colunas brancas da medula espinhal, caracterizadas por áreas de necrose bem delimitadas, desmielinização e inclusões intranucleares, principalmente em astrócitos. As inclusões intracitoplasmáticas são mais comumente visualizadas no pulmão, intra-sinciciais. Porém quando há a formação de células sinciciais no SNC, as mesmas também podem ser encontradas. A observação dessas lesões confirma o diagnóstico da infecção. Além disso, a observação de outros órgãos pode revelar pneumonia intersticial, hiperqueratose ortoqueratótica e/ou paraqueratótica nos coxins digitais e depleção linfóide. Considerando as alterações microscópicas decorrentes da infecção pelo vírus da Cinomose, deve-se avaliar entre os diagnósticos diferenciais, a possibilidade de infecção pelo vírus da raiva e herpesvírus suíno tipo-1 (pseudorraiva ou doença de Aujeszky). Outros vírus causadores de encefalite em cães também podem ser considerados, como herpesvírus canino tipo-1, vírus da Febre do Oeste do Nilo (*West Nile vírus*), Borna virus, vírus *Louping ill* e vírus Nipah, porém este último com menor probabilidade.

Os protozoários visualizados nos cortes histológicos apresentaram características compatíveis com *T. gondii* ou *N. caninum*. A toxoplasmose é uma enfermidade causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, um coccídio com distribuição mundial. Felinos

domésticos e selvagens são os hospedeiros definitivos e a infecção do hospedeiro intermediário se dá através da ingestão de oocistos esporulados ou via transplacentária. Os taquizoítos e bradizoítos são os dois estágios teciduais do *T. gondii* encontrados nos tecidos hospedeiros infectados. A infecção do SNC ocorre quando a barreira hematoencefálica é rompida, por organismos livres ou localizados intracelularmente em leucócitos, infectando as células endoteliais. Cães com toxoplasmose generalizada comumente apresentam infecção respiratória, gastrintestinal ou neuromuscular, resultando em febre, vômito, diarreia, dispnéia e icterícia. Pode ocorrer miosite, que se manifesta através de fraqueza, marcha rígida ou emaciação muscular. Ataxia, convulsões, tremores, déficits dos nervos cranianos, paresia e paralisia são as manifestações mais comuns da toxoplasmose no SNC. As lesões microscópicas iniciais incluem infecção e proliferação dentro das células endoteliais pelos taquizoítos de *T. gondii*, resultando em uma tumefação celular com posterior degeneração, hemorragia, oclusão capilar, necrose isquêmica e edema do tecido subjacente. Subsequentemente, os taquizoítos invadem o SNC, induzindo uma intensa resposta inflamatória, levando à necrose, hemorragia e formação de manguitos perivascularares. Com a cronicidade e com o aumento da resposta inflamatória e imunológica pelo hospedeiro, há formação dos cistos teciduais, contendo bradizoítos. O diagnóstico *in vivo* pode ser obtido se o microorganismo for demonstrado; contudo, isso é raro, particularmente se a doença for crônica. Os microorganismos nas lesões podem ser identificados em cortes histológicos corados por H&E, mas a imunohistoquímica facilita sua detecção e identificação. A neosporose é uma enfermidade provocada pelo *Neospora caninum*, parasita intracelular obrigatório, que tem sido descrita em várias espécies de animais, sendo o cão seu hospedeiro definitivo. Embora relatada em diversos países, a prevalência da doença é indeterminada. Apesar de ser antigenicamente distinto do *T. gondii*, o *N. caninum* apresenta aspecto morfológico similar ao primeiro. Ambos apresentam divisão dos taquizoítos por endodiogenia e as fases proliferativas (taquizoítos) e de cisto tecidual (bradizoítos). Entretanto, o *N. caninum* não se desenvolve dentro do vacúolo parasitóforo da célula hospedeira como faz o *T. gondii*, que só é detectada através de microscopia eletrônica de transmissão. A única via de transmissão comprovada em cães é a transplacentária, que pode ocorrer continuamente durante as gestações subsequentes. A doença neurológica pode ser dividida em duas categorias; uma que ocorre durante a vida pós-gestacional e a outra que provoca abortos no meio e fim da

gestação. Em cães jovens observa-se polirradiculoneurite ascendente e poliomiosite. Animais adultos apresentam sinais mais relacionados com as lesões no SNC agravadas por poliomiomiosite, miocardite e dermatite. Microscopicamente, as lesões são similares às aquelas descritas para o *T. gondii*. O padrão morfológico e o caráter das lesões encontradas no SNC são mais consistentes, com tropismo endotelial, tumefação e lesão vascular, isquemia tecidual e infarto multifocal. Apesar de existirem algumas diferenças morfológicas entre os agentes, a diferenciação por microscopia de luz é precária e o exame por microscopia eletrônica ou imuno-histoquímica se faz necessária. A identificação dos cistos de *N. caninum* é observada no sistema nervoso central e periférico, enquanto os taquizoítos são encontrados em uma variedade de outros tecidos.

Apesar da técnica de imuno-histoquímica ter apresentado resultado negativo para ambos protozoários, a possibilidade de infecção pelos mesmos não pode ser descartada. Além disso, considerando que a sensibilidade dessa técnica varia segundo o tempo de fixação em reagentes, como o formol, estado de conservação / autólise dos tecidos e abundância dos antígenos nos fragmentos avaliados, a possibilidade de um resultado falso-negativo deve ser aventada. As características morfológicas apresentadas pelos agentes visualizados na microscopia são muito sugestivos de infecção pelos referidos protozoários supracitados. Porém, dentre os diagnósticos diferenciais, podemos considerar a possibilidade de infecção por *Encephalitozoon cuniculi*, *Sarcocystis canis*, *Besnoitia* sp e *Theileria* sp.

Casos de cães apresentando infecção concomitante pelo vírus da cinomose e por protozoários, com ênfase a *T. gondii* e *N. caninum*, são incomuns. Provavelmente, o animal já apresentava os cistos dos protozoários no encéfalo, e quando infectado pelo vírus da cinomose, apresentou quadro de imunossupressão, havendo re-agudização da infecção protozoal.

- **Referências consultadas:**

BAGLEY, R.S; WHEELER, S.J. Doenças do Sistema Nervoso. In: DUNN, J.K. Tratado de Medicina de Pequenos Animais. São Paulo: Ed. Roca. p. 921-922, 2001.

FENNER, W.R. Doenças do Cérebro. In: ETTINGER S.J.; FELDMAN E.C. Tratado de Medicina Interna Veterinária. Ed. 5ª. Ed. Guanabara Koogan. p. 632-632, 2004.

JUBB K.V.F. & HUXTABLE C.R. The nervous system. In: Jubb KVF., Kennedy PC. & Palmer N. (Eds). Pathology of Domestic Animals, vol.1. 4th ed. Academic Press, San Diego, p.267-437, 1993.

MORETTI, LA. et al . Toxoplasma gondii genotyping in a dog co-infected with distemper virus and ehrlichiosis rickettsia. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v.48, n.6, 2006 .

SILVA, MC. et al. Neuropatologia da cinomose canina: 70 casos (2005-2008). *Pesq. Vet. Bras.*, v.29, n.8, p.643-652, 2009.

SUMMERS B.A., CUMMINGS J.F. & DE LAHUNTA A. 1995. *Veterinary Neuropathology*. Mosby, St Louis. 527p.

•

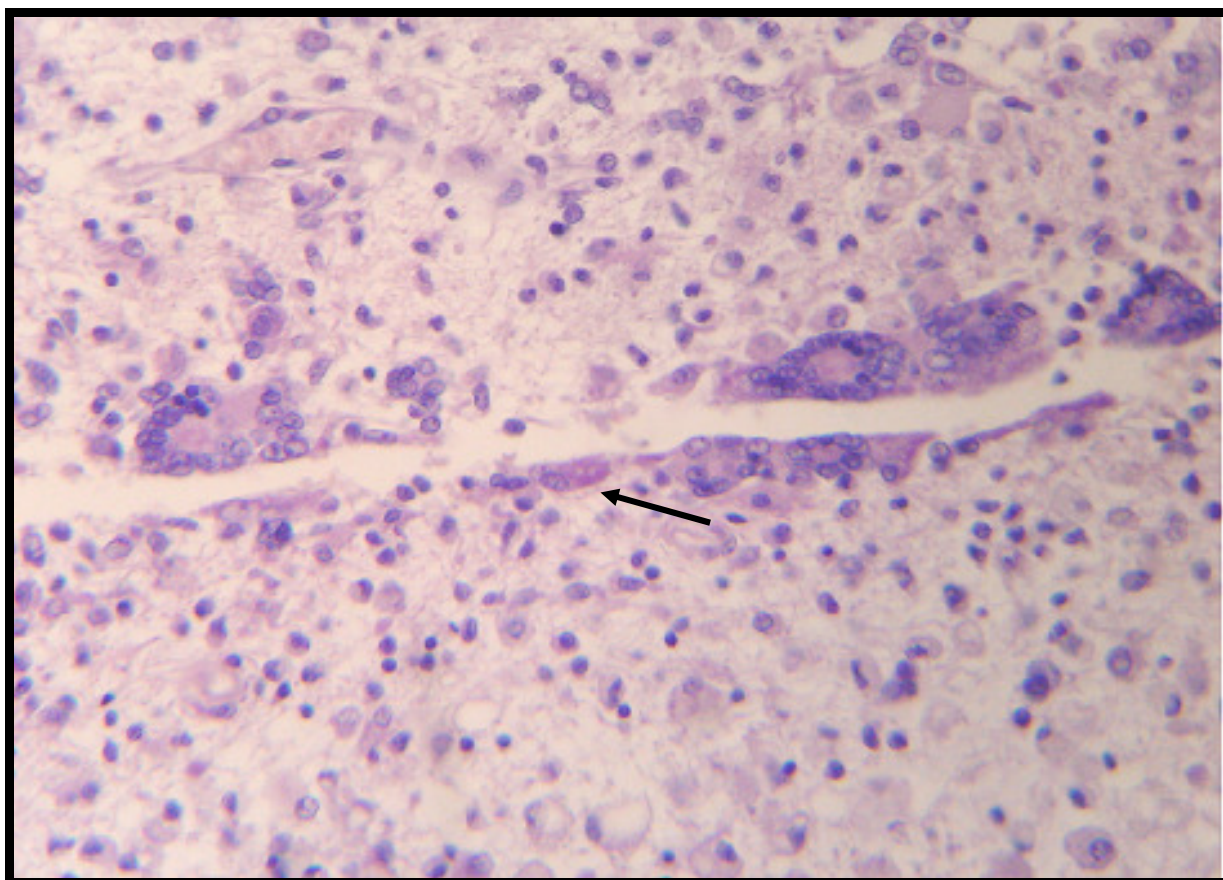


Fig. 01 – Cão, Cerebelo: epitélio endimário apresentando inúmeras células gigantes multinucleadas (células sinciciais) com corpúsculos de inclusão eosinofílicos, intracitoplasmáticos (seta). (H&E, 40x)

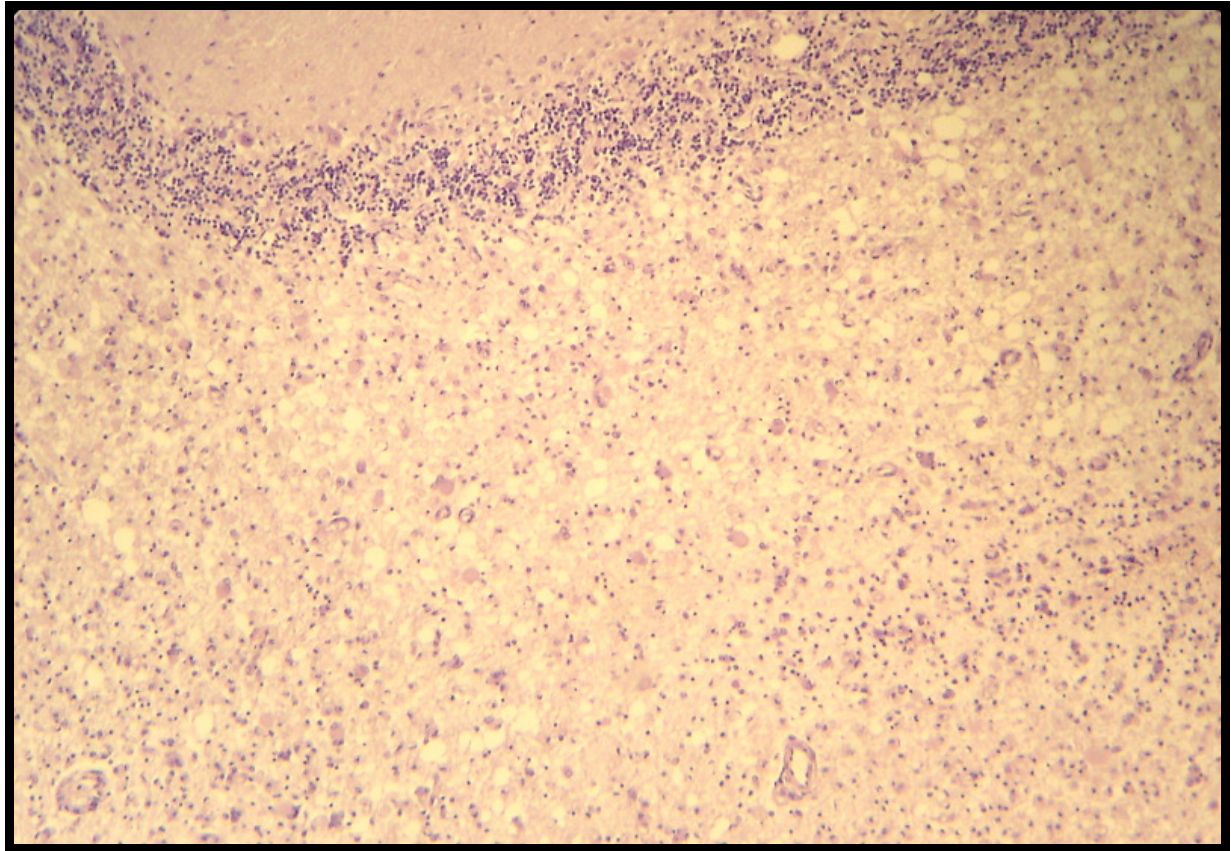


Fig. 02 – Cão, Cerebelo: Substância branca cerebelar apresentando intensa vacuolização (desmielinização) associada à malácia com células Gitter (leucoencefalomalácia) e incontáveis gemistócitos. (H&E, 10x)

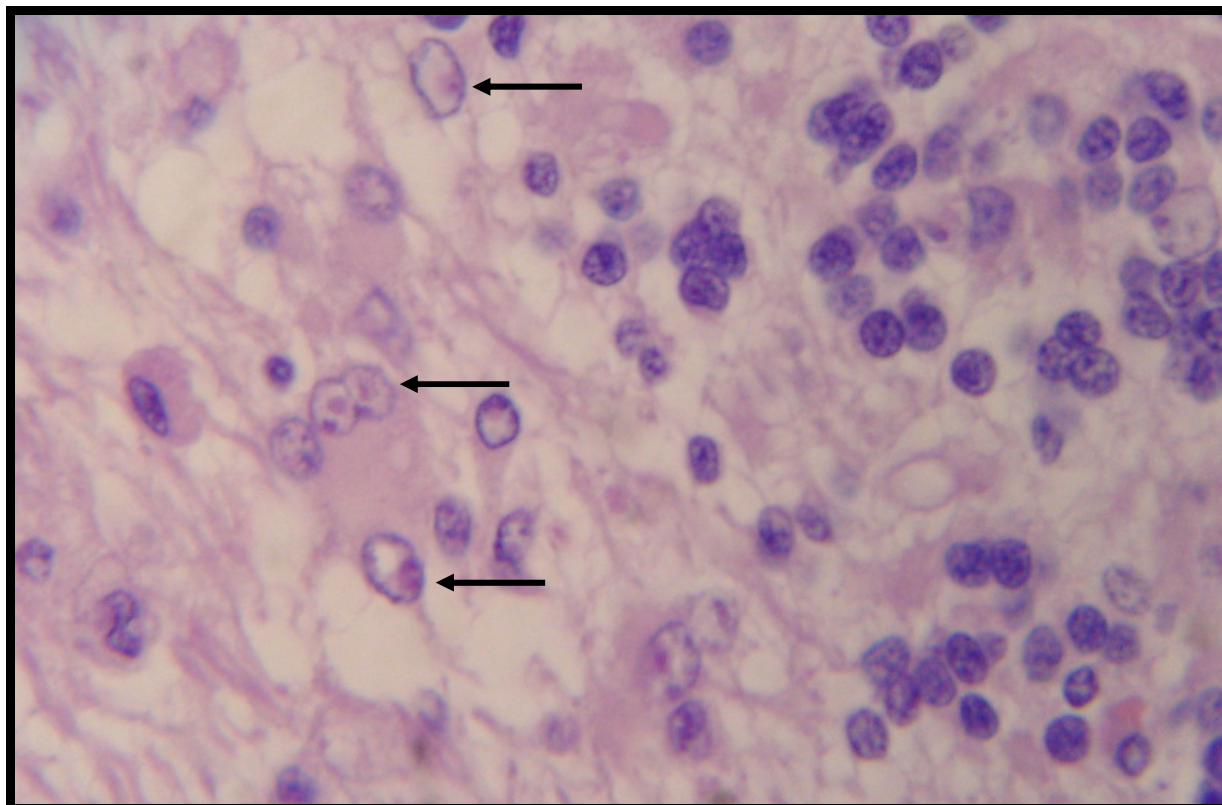


Fig. 03 – Cão, Cerebelo: Substância branca cerebelar apresentando intensa vacuolização (desmielinização) e corpúsculos de inclusão, eosinofílicos, intranucleares em astrócitos (setas). (H&E, 10x)

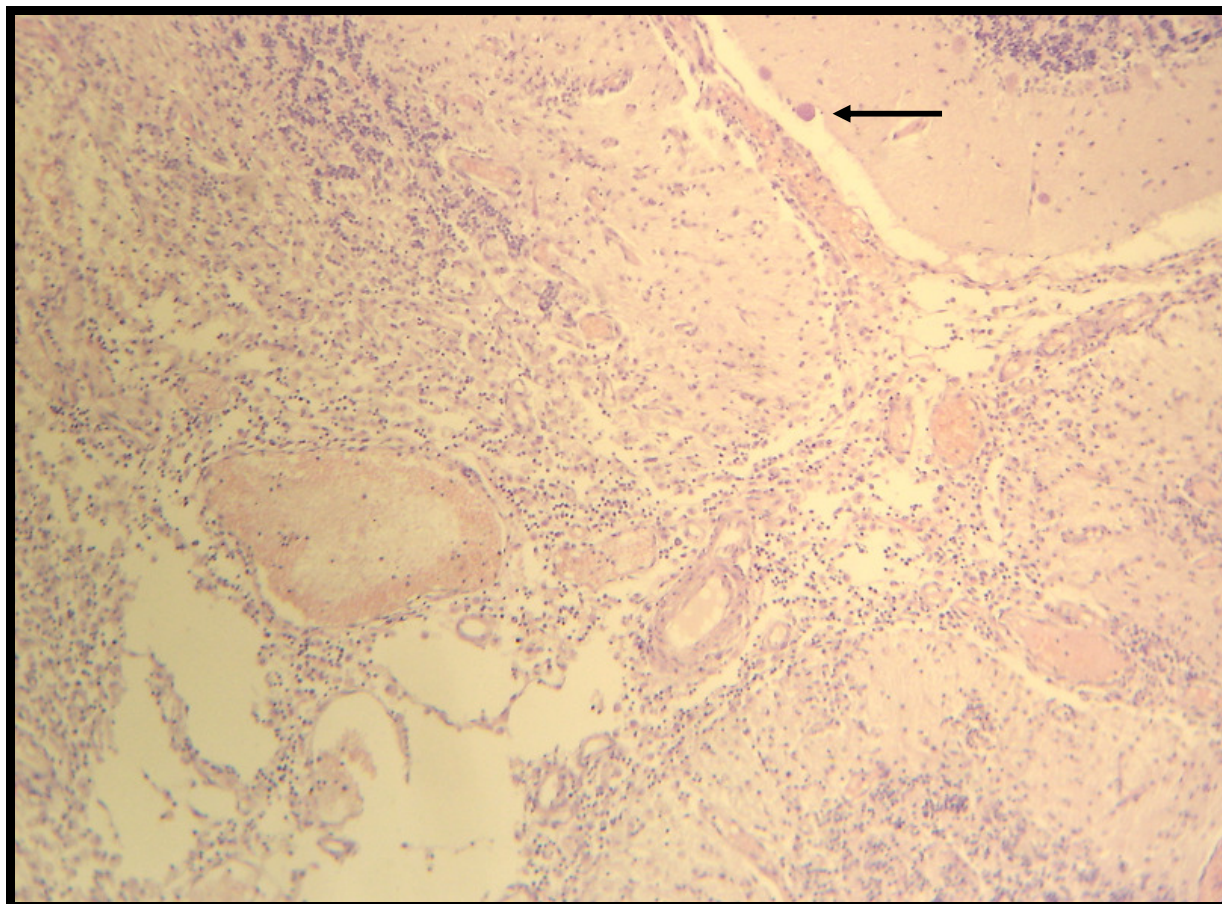


Fig. 04 – Cão, Cerebelo: infiltrado inflamatório histiocitário, multifocal, moderado nas meninges e espaços perivascularares da camada molecular, associado à áreas multifocais de malácia cortical, contendo incontáveis células Gitter (polioencefalomalácia). Há algumas estruturas circulares medindo 20 a 40 μ m de diâmetro (cistos) intralaminares (seta). (H&E, 10x)

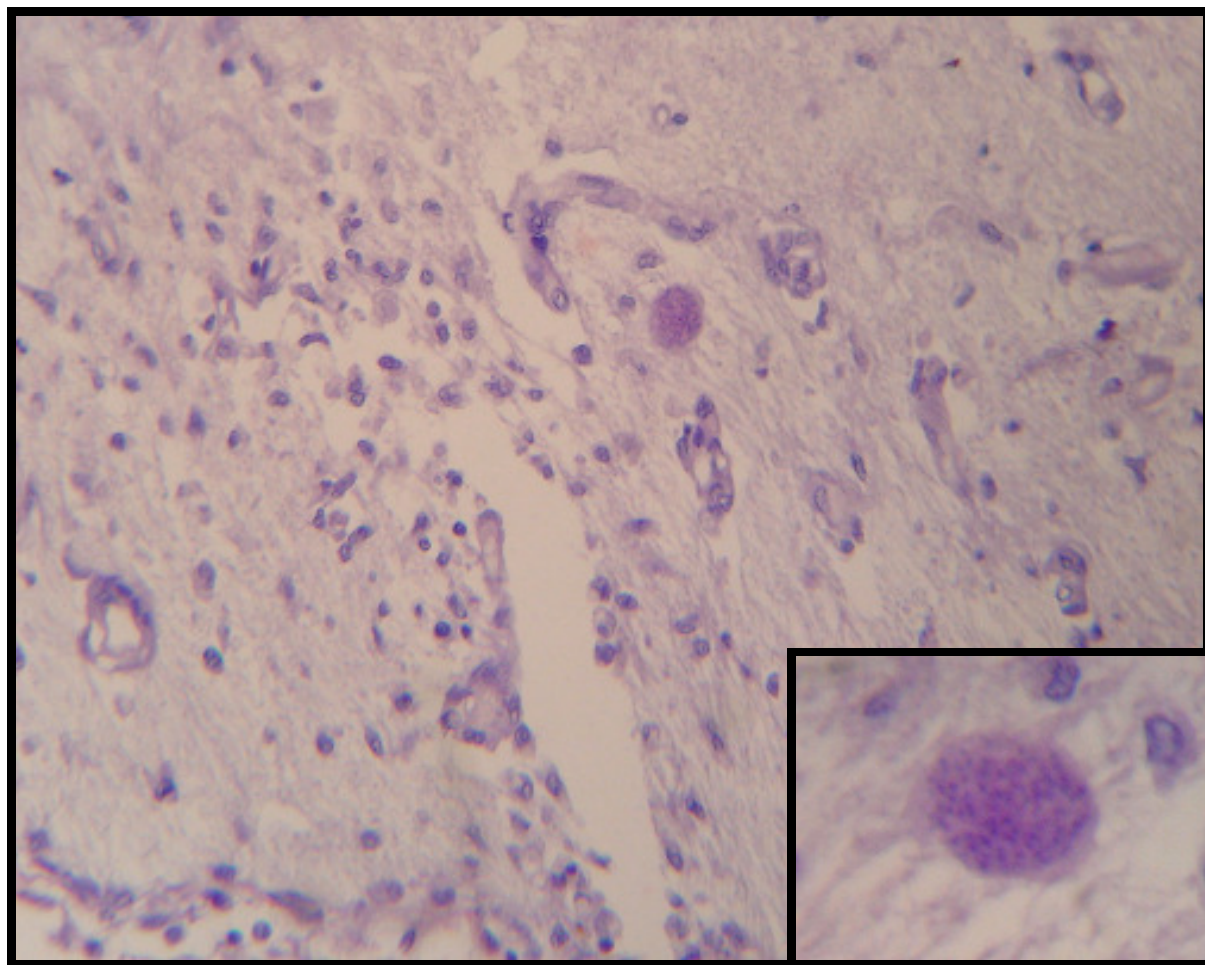


Fig. 05 – Cão, Cerebelo: área focal de malácia da camada molecular, com células Gitter e mangitos perivascularres histiocitários associados. Há algumas estruturas circulares medindo 20 a 40 μm de diâmetro (cistos) intralaminares, contendo microorganismos de 2-4 μm de diâmetro, compatíveis com bradizoítos (em destaque – 100x). (H&E, 40x)

Mielolipoma esplênico em um cão

Thaís R. Fernandes, Raquel B. Ferioli, Fabrizio Grandi, Renée L. Amorim

Serviço de Patologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia– Universidade Estadual Paulista– UNESP. Botucatu, São Paulo, Brasil. Distrito de Rubião Junior, s/n. Rubião.

Botucatu-SP CEP: 18618-970 Telefone: (14) 3811-6293 E-mail: renee@fmvz.unesp.br

Identificação do Animal: Canino, Poodle, Macho, 12 anos.

Histórico: Animal encaminhado por colega, com histórico de neoplasia esplênica. Foi realizada esplenectomia para o diagnóstico da neoplasia.

Descrição macroscópica: Enviado o baço, medindo 6,0 x 4,0 x 1,0 cm de coloração normal com presença de massa medindo 4,0 x 3,0 x 1,0 cm, circunscrita, superfície regular, consistência macia e coloração enegrecida. Ao corte, mantinha as mesmas características com áreas acastanhadas.

Descrição histopatológica: A massa esplênica era composta por numerosas células mononucleares entremeados a grande quantidade de adipócitos bem diferenciados, moderada quantidade de hemossiderófagos e presença de grande quantidade de células mielóides, precursoras das linhagens granulocítica, eritrocítica e megacariocítica, em diferentes graus de maturação.

Diagnóstico morfológico: Mielolipoma.

Comentários: O mielolipoma é um tumor benigno, raro, composto por adipócitos maduros associados a elementos hematopoiéticos que se assemelham a medula óssea. Este tumor é raro em animais domésticos, mas comum na glândula adrenal de humanos.

Nos gatos, o mielolipoma ocorre normalmente no fígado e baço. Nos cães, a maioria dos mielolipomas ocorre no baço. Contudo, há relatos de mielolipomas em cães na glândula adrenal na medula espinhal, além do omento maior.

Esta neoplasia apresenta tipicamente poucos milímetros a alguns centímetros; é encapsulada e um único nódulo. Em todos os casos relatados os pacientes apresentaram idade maior do que

dez anos, inclusive o do presente relato. Como nos humanos, os mielolipomas são geralmente diagnosticados acidentalmente na necropsia, sem sinais clínicos prévios de doença associada ao tumor, exceto em alguns casos em que o mielolipoma provocou paraplegia aguda e alterações de enzimas hepáticas.

A etiologia dos mielolipomas é controversa. Contudo, a etiologia mais aceita é de que os mielolipomas são decorrentes de metaplasia das células retículo endoteliais dos capilares sanguíneos em resposta a inúmeros estímulos, incluindo necrose, infecção ou estresse.

Os diagnósticos diferenciais incluem metaplasia óssea, osteoma, hemangiolioma e o mais importante é a hematopoiese extra-medular.

Referências consultadas:

Al-Rukibat, R.K. & Bani Ismail, Z.A. Unusual presentation of splenic myelolipoma in a dog. *Can. Vet. J.* 47:1112-1114.

Bovo, G., Picozzi, S.C., Viganò, P., Giuberti, A., Casu, M., Manganini, V., Mazza, L., Strada, G. R. Giant adrenal myelolipoma: report of a case and review of the literature. *Minerva Urol. Nefrol.* 59:455-458, 2007.

Kamiie, J., Fueki, K., Amagai, H., Ichikawa, Y., Shirota, K. Multicentric myelolipoma in a dog. *J. Vet. Med. Sci.* 71 (3): 371-373, 2009.

McCaw, D.L., da Silva Curiel, J.M., Shaw, D.P. Hepatic myelolipomas in a cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 197:243-244, 1990.

Morandi, F., Mays, J.L., Newman, S.J., Adams, W.H. Imaging diagnosis-bilateral adrenal adenomas and myelolipomas in a dog. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 48:246-249, 2007.

Newman, S. J., Inzana, K., Chickening, W. Extradural myelolipoma in a dog. *J. Vet. Diagn. Invest.* 12:71-74, 2000.

Sander, C.H. & Langham, R.F. Myelolipoma of the spleen in a cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 160:1101-1103.

Ueno, H., Miyake, T., Kobayashi, Y., Yamada, K., Uzuka, Y. Epidural spinal myelolipoma in a dog. *J. AM. Anim Hosp. Assoc.* 43:132-135, 2007.

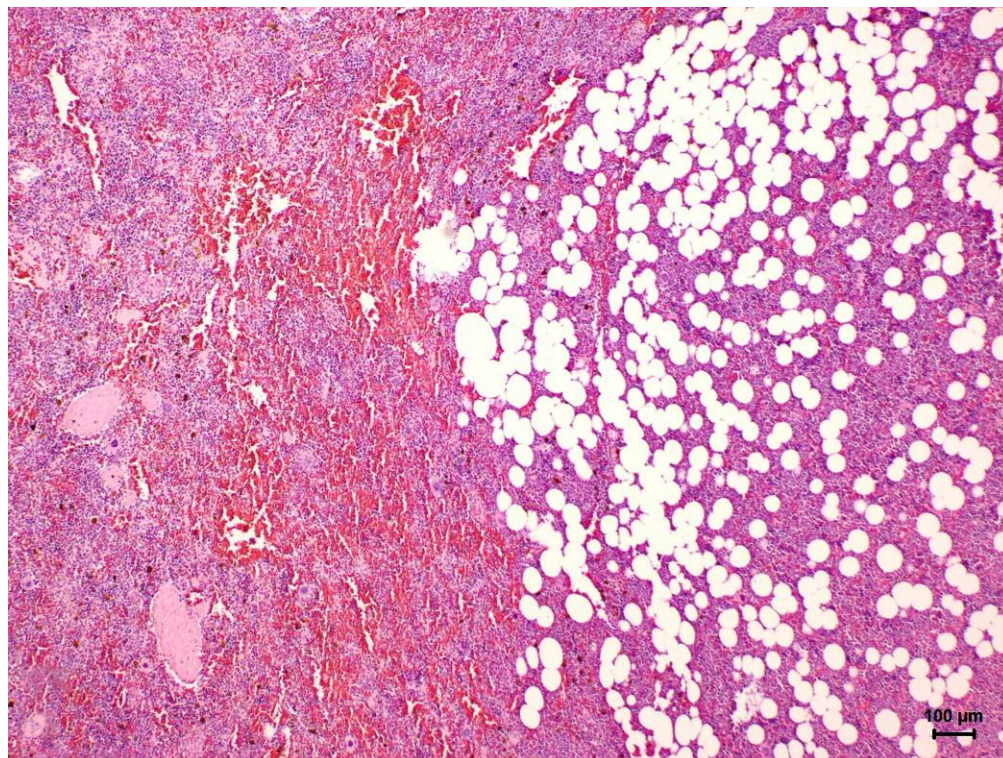


Figura 1: Nódulo esplênico. Do lado esquerdo da foto tecido esplênico normal. Do lado direito, massa infiltrativa contendo adipócitos maduros e tecido mielóide. (H&E 50X).

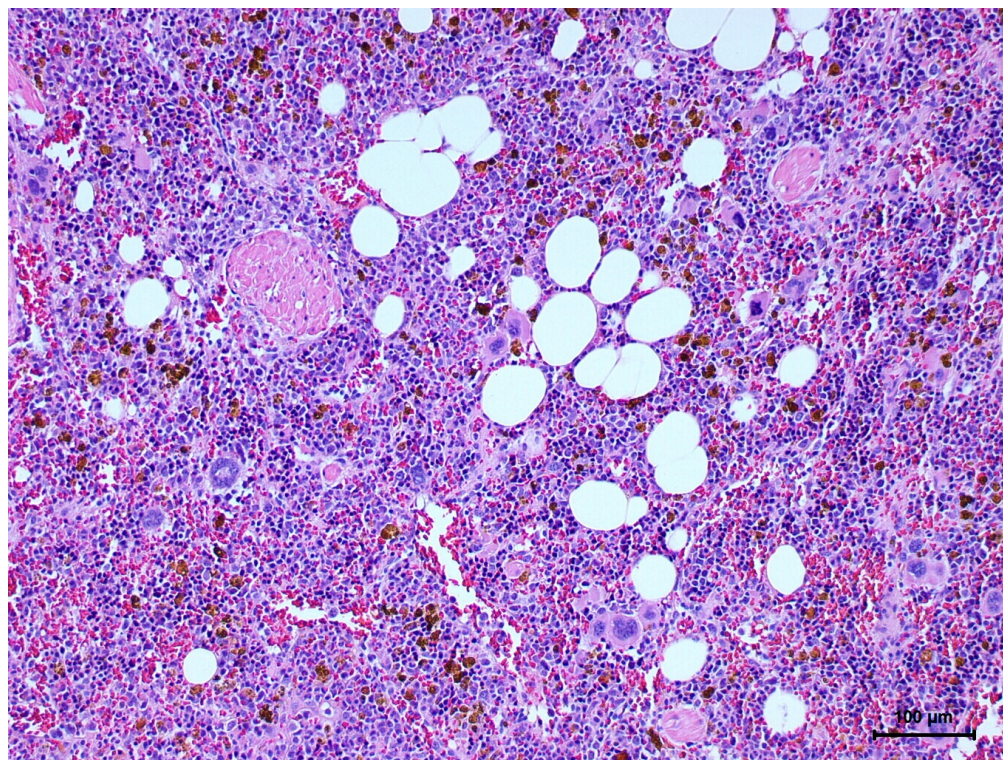


Figura 2: Visão aproximada do nódulo esplênico. Observam-se trabéculas de tecido muscular liso e proliferação dos elementos celulares que compõem a medula óssea normal. Presença de hemossiderófagos (H&E 125x).

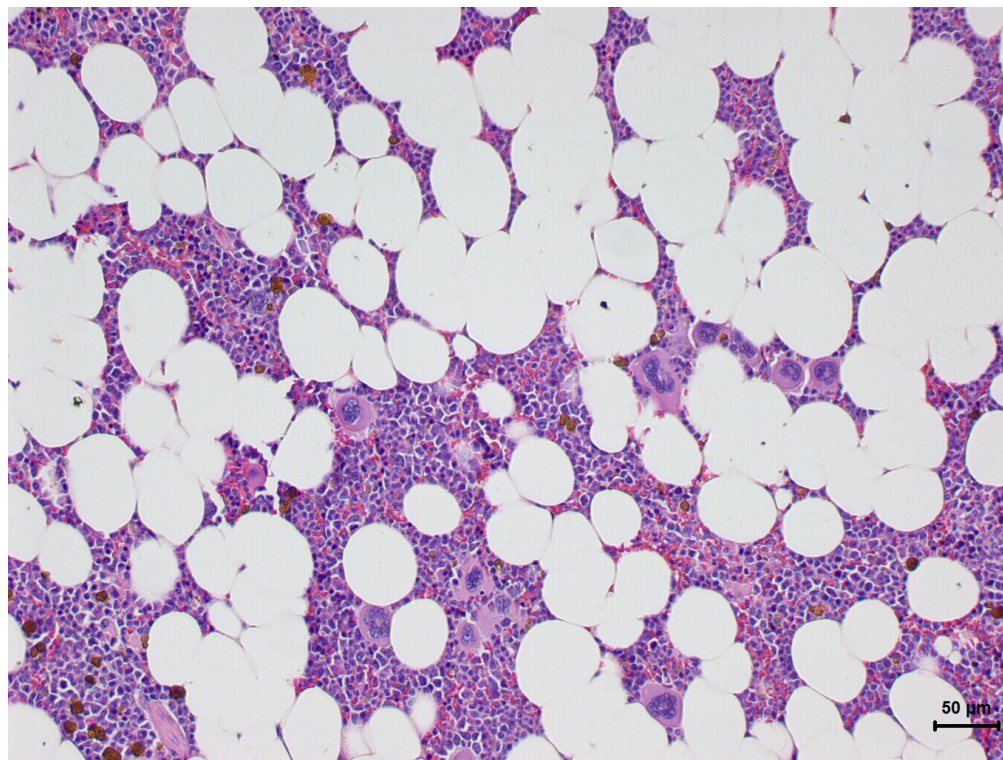


Figura 3: Mielolipoma. Quantidade acentuada de adipócitos maduros e células precursoras mielóides das linhagens eritrocítica, granulocítica e megacariocítica. (H&E 320x).

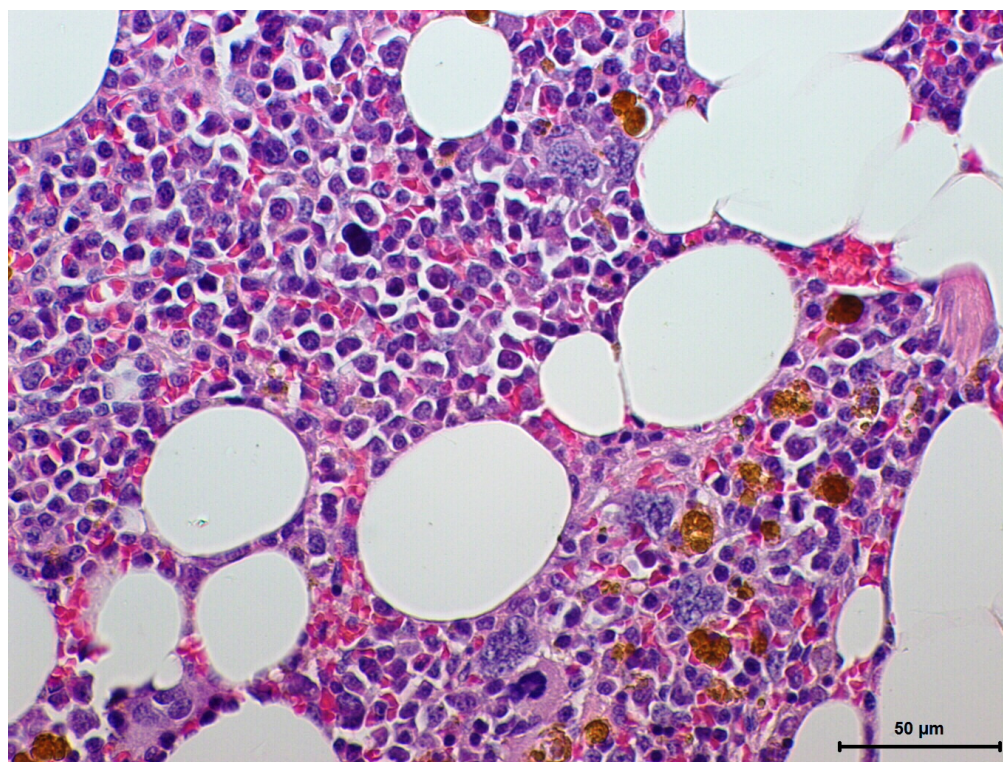


Figura 4: Detalhe do nódulo. Diferentes estágios de maturação das células mielóides, adipócitos maduros e alguns hemossiderófagos. (H&E 400x).

Osteopatia hipertrófica secundária à doença granulomatosa sistêmica em um equino

Ricardo B. Lucena, Maria Elisa Trost, Tessie B. Martins, Juliana S. Brum, Paula Roberta Giaretta, Bianca Tessele, Claudio S. L. Barros

Laboratório de Patologia Veterinária (LPV), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Rio Grande do Sul (RS), Brasil. E-mail: lucena.rb@gmail.com

Identificação do animal: equino, macho, Crioulo, com 350 kg, quatro anos de idade.

Histórico: o equino desenvolveu quadro de emagrecimento progressivo e aumento de volume da face e membros, dificuldade respiratória, resistência à locomoção e quadros de picos febris de até 40,1°C. As áreas aumentadas de volume eram firmes e com sensibilidade dolorosa ao toque. No exame radiográfico do metacarpo constatou-se neoformação óssea periosteal. Exames bioquímicos revelaram hipoproteïnemia decorrente de hipoalbuminemia. O equino não respondeu ao tratamento com antibióticos e anti-inflamatórios. Devido ao prognóstico desfavorável, o equino foi submetido à eutanásia.

Descrição macroscópica: o equino estava caquético e havia numerosas pequenas crostas na pele dos membros, escroto e abdômen ventral. Na cavidade torácica observaram-se dois litros de líquido amarelado. Múltiplos nódulos firmes, brancos, com 0,5 a 1 cm de diâmetro, coalescentes estavam distribuídos na pleura e parênquima pulmonar, predominantemente nas porções crânio-ventrais, comprimindo o parênquima pulmonar subjacente. Nódulos semelhantes foram sob o epicárdio, no miocárdio e no parênquima de todos os lobos do fígado. Os linfonodos mesentéricos, hiliares e traqueobronquiais estavam aumentados de volume, irregulares e infiltrados por numerosos nódulos coalescentes. Múltiplos nódulos firmes, brancos, com 0,5 a 1 cm de diâmetro foram observados também no mesentério, serosa do estômago e intestinos, diafragma, cápsula do baço, parede da bexiga, e infiltrando as túnicas testiculares.

Os membros pélvicos e torácicos estavam marcadamente aumentados de volume. Tíbia, metatarso, rádio e metacarpo estavam acentuadamente afetados. Nessas áreas, o tecido subcutâneo estava fibrosado e edematoso. Os ossos do plano nasal, maxilar e mandíbula também estavam aumentados de volume e com superfície irregular. Após a maceração observou-se neoformação óssea nos ossos do tarso, metatarso, tíbia, carpo, metacarpo, rádio e

ulna, falanges do membro pélvico e torácico, osso maxilar, mandíbula e osso nasal. Não foram observadas alterações articulares.

Descrição histopatológica: avaliações de seções coradas por hematoxilina e eosina foram realizadas em secções do pulmão, coração, fígado, baço, linfonodos mesentéricos, trato gastrointestinal, medula óssea, testículos, bexiga, pele do prepúcio, abdômen e membros, e fragmentos ósseos descalcificados. Na pleura pulmonar e parênquima subjacente, foram observados numerosos focos coalescentes não encapsulados de inflamação granulomatosa nodular não-caseosa (Figura 4). Os focos geralmente tinham um centro necrótico circundado por macrófagos epitelioides e células gigantes multinucleadas, na maioria do tipo Langhans. Adicionalmente, foram observados pequenos focos de linfócitos e plasmócitos circundando a zona de macrófagos epitelioides (Figura 5). Nas áreas adjacentes à inflamação granulomatosa havia marcada proliferação de tecido conjuntivo fibroso que tornava a pleura marcadamente espessa. Os alvéolos distantes dos granulomas estavam aparentemente normais e os brônquios e bronquíolos não foram afetados. No epicárdio (secção não remetida), observaram-se granulomas semelhantes aos descritos no pulmão. O mesentério continha múltiplos focos de inflamação granulomatosa, geralmente maiores que os observados nas secções dos pulmões, constituídos por uma área de necrose central circundada por macrófagos, macrófagos epitelioides, linfócitos, plasmócitos, células gigantes e ocasionais neutrófilos (secção não remetida). Os linfonodos mesentéricos continham lesões granulomatosas semelhantes às descritas acima (secção não remetida). No fígado, além de inflamação granulomatosa aleatória, observa-se número aumentado de linfócitos e plasmócitos nas tríades portais (secção não remetida). As serosas do estômago, intestino delgado e cólon menor estavam marcadamente infiltradas por múltiplos focos de inflamação granulomatosa. Não foi observada evidência de envolvimento da mucosa nas secções avaliadas (secção não remetida). Na medula óssea havia discretos agregados de macrófagos epitelioides e ocasionais células gigantes (secção não remetida). Nas secções de pele foram observados focos variavelmente circunscritos de nódulos granulomatosos, localizados predominantemente na derme superficial, constituídos por linfócitos, plasmócitos, macrófagos epitelioides e ocasionais células gigantes (Figura 6). Estas áreas eram circundadas por moderada fibrose. Na serosa e muscular da bexiga foram observados múltiplos granulomas coalescentes semelhantes aos observados nos outros órgãos (secção não remetida).

As secções histológicas dos ossos afetados revelaram proliferação óssea perpendicular ao perióstio (Figuras 1 e 2). O novo tecido ósseo estava delineado a partir da borda periférica do córtex normal por uma linha basofílica contínua (linha de cementação de repouso) (Figura 2). O tecido ósseo neoformado tinha aproximadamente 4 mm de espessura, enquanto o osso normal tinha 6 mm de espessura. A proliferação óssea consistia de osso trançado e osso lamelar com múltiplos ósteons. O conjunto de osso trançado em meio ao osso lamelar caracteriza um tecido ósseo do tipo plexiforme (osso plexiforme). Múltiplas lacunas continham osteócitos. Pela coloração do tricrômico de Masson foi possível evidenciar a marcada diferença entre o osso cortical e o osso neoformado, evidenciada pela cor azulada do osso trançado no jovem tecido ósseo proliferado.

Pela avaliação histoquímica dos tecidos afetados, utilizando as técnicas de Ziehl-Neelsen, Grocott, Giemsa e pela reação com ácido periódico de Schiff (PAS) não foram detectados presença agentes infecciosos. No exame sob a luz polarizada, nenhum corpo estranho foi identificado dentro dos granulomas.

Diagnóstico morfológico: 1) osso longo, rádio: hiperostose, periosteal, difusa, acentuada, equino, macho, Crioulo, quatro anos.

2) Pulmão: pneumonia granulomatosa, multifocal e coalescente, moderada, associada a pleurite granulomatosa fibrosante, multifocal e coalescente, acentuada, equino, macho, Crioulo, quatro anos.

3) Pele: dermatite granulomatosa multifocal moderada, equino, macho, Crioulo, quatro anos.

Nome da condição: osteopatia hipertrófica secundária à doença granulomatosa sistêmica.

Comentários: Osteopatia hipertrófica (OH), também conhecida como osteoartropatia pulmonar hipertrófica (OAPH), doença de Marie ou síndrome de Pierre Marie-Bamberger é uma síndrome caracterizada por proliferação simétrica do tecido conjuntivo subperiosteal, principalmente das diáfises dos ossos longos dos membros. Em equinos há também descrição de envolvimento da mandíbula, maxilar e/ou osso nasal. A doença é descrita principalmente em associação a lesões primárias ou secundárias que ocupam espaço na cavidade torácica. Em medicina veterinária OH é descrita principalmente em cães e a maioria dos casos está relacionada com doença torácica. Em outras espécies animais casos de OH são raros. Foram descritos casos associados à doença intratorácica em equídeos, gatos, bovino, e em algumas

espécies de animais silvestres. A ocorrência de OH na ausência de doença torácica é ainda mais incomum. Foi descrita em cães acometidos por rabdomiossarcoma da bexiga e carcinoma de células de transição da pelve renal; em equinos com tumores de ovário e adenoma de pituitária; em gatos há associação de OH com adenoma renal e carcinoma adrenocortical. Há ainda um relato de osteopatia hipertrófica idiopática em um gato.

Em relação às teorias da patogênese da OH, a mais aceita para explicar os casos de OH relacionados a lesões intratorácicas é a que envolve mecanismos neurogênicos. Segundo essa hipótese, impulsos originados das lesões torácicas viajam, via nervo vago até o tronco encefálico e iniciam um reflexo de vasodilatação nos membros, tanto por meios humorais quanto neurogênicos. A validade desta teoria reside no fato de que, as lesões regridem em alguns animais submetidos à vagotomia. Outra hipótese também aceita é a que envolve a produção de substâncias similares a hormônios ou toxinas por alguns tumores que seriam capazes de estimular o neocrescimento periosteal. Grandes megacariócitos são normalmente encontrados no leito vascular pulmonar, mas doenças pulmonares que resultam em desvio microvascular pode permitir que grandes megacariócitos alcancem a circulação sistêmica. Estes podem causar agregação plaquetária nos capilares do periósteo. As plaquetas liberam substâncias vasoativas em resposta à hipóxia local a partir de capilares bloqueados e o VEGF e PDGF local induzem a proliferação vascular, periosteite, e edema característicos da OH. A patogênese da OH associada a lesões granulomatosas não está definida.

Inflamação granulomatosa intratorácica foi a principal lesão diagnosticada em um estudo retrospectivo de 24 equídeos com OH. Em um equino deste estudo, foi aventada a associação entre doença granulomatosa sistêmica (DGS) com manifestação de OH. Porém, o equino se recuperou depois de prolongado tratamento com corticoides, e não há maiores informações quanto à distribuição das lesões granulomatosas.

A doença granulomatosa sistêmica é uma rara condição que acomete equinos, também descrita em pôneis, caracterizada por inflamação granulomatosa não-caseosa na pele e em múltiplos órgãos. Não há predileção por raça, sexo ou idade. Além da pele, as lesões granulomatosas são descritas predominantemente nos pulmões, pleuras, linfonodos, mesentério e trato gastrointestinal. Outros sítios menos comuns de ocorrência dos granulomas incluem o fígado, o baço, os rins, os músculos esqueléticos, o coração, as glândulas adrenal e tireóide, o pâncreas e o sistema nervoso. As lesões na pele podem variar desde áreas de alopecia ou discretas crostas multifocais até grandes nódulos ou massas cutâneas. Outros sinais clínicos variam de acordo com o sistema orgânico envolvido, porém a perda de peso

progressiva, inapetência e picos febris são achados clínicos frequentemente observados nos cavalos acometidos pela DGS.

A DGS é também denominada sarcoidose equina, devido à semelhança com a doença sistêmica granulomatosa não-caseosa, sacoidose, que acomete os humanos. No entanto, é preferível não utilizar este termo para evitar confusão pelos clínicos com o sarcoide equino, um dos tumores mais frequentes da pele dos equinos. Outros sinônimos incluem “doença granulomatosa generalizada”, “doença granulomatosa sistêmica idiopática equina”, e “doença histiocítica equina”. Assim como a sarcoidose dos humanos, a DGS não possui etiologia definida. Nos humanos é sugerido que a doença resulta de uma resposta imunológica exagerada, frente a agentes infecciosos ou alérgenos que induzem estímulo antigênico. Nos equinos, nenhum agente tem sido diretamente associado à DGS. Todas as pesquisas através de técnicas histoquímicas, imuno-histoquímicas, cultivo microbiológico e testes moleculares resultam em negatividade para agentes etiológicos. A ingestão de ervilhaca (*Vicia villosa*) foi inicialmente incriminada como causa de doença granulomatosa com envolvimento sistêmico em dois equinos; porém casos posteriores foram descritos em equinos que pastavam em áreas não cultivadas com a planta.

O diagnóstico definitivo da DGS é feito por exclusão de outros agentes e requer avaliação histopatológica e histoquímica. Os principais diagnósticos diferenciais incluem infecções bacterianas e fúngicas da pele, intoxicações, além de neoplasmas. Uma lista dos principais diagnósticos diferenciais encontra-se na tabela 1. Nos casos em que a doença granulomatosa parece estar limitada à pele o prognóstico é bom, pois os equinos respondem ao tratamento com corticóides. Porém, nos casos de envolvimento sistêmico o prognóstico é desfavorável. Cavalos com DGS são submetidos à eutanásia algumas semanas ou meses após o início dos sinais clínicos.

Tabela 1. Principais diagnósticos diferenciais de Doença granulomatosa sistêmica (DGS) em equídeos.

Causa	Doença resultante	Critério utilizado para diferenciar da DGS*
Agentes infecciosos		
Mycobacteria	Tuberculose	Coloração para bacilos álcool-ácido resistentes; cultura; PCR
Bactérias	Botriomicose por <i>Staphylococcus</i> spp.)	Lesão piogranulomatosa da pele, nodular e geralmente localizada.
	Abscessos e linfangite ulcerativa	Lesão abscedativa e exsudativa da pele; coloração (Giemsa, Gram); cultura
	Micetoma (<i>Actinobacillus</i> spp., <i>Nocardia</i> spp., <i>Actinomyces</i> spp.)	Lesões nodulares ulceradas localizadas ou múltiplas; inflamação piogranulomatosa ou granulomatosa do tipo caseosa,
Fungos e oomicetos	Dermatofilose (<i>Dermatophilus congolensis</i>)	Observação do agente em esfregaços e avaliações de biópsia; não há envolvimento sistêmico; cultura
	Histoplasmose	
	Micetoma fúngico	Lesões nodulares ulceradas localizadas ou múltiplas; na histologia há inflamação piogranulomatosa ou granulomatosa do tipo caseosa, visualização de hifas fúngicas
	Esporotricose (<i>Sporothrix schenckii</i>)	Pápulas e nódulos cutâneos ao longe dos linfáticos; nódulos ulcerados que drenam exsudato espesso marrom a avermelhado; demonstração do agente
	Dermatofitose (<i>Microsporum</i> ou <i>Trichophyton</i> spp.)	Observação do agente em esfregaços e avaliações de biópsia; não há envolvimento sistêmico; cultura
	Pitiose (<i>Pythium insidiosum</i>)	Epidemiologia; lesões localmente extensas, ulcerativas, com tecido de granulação; demonstração do agente
Outras condições		
Exposição ambiental	Silicose	Envolvimento dos pulmões e linfonodos; observação de cristais sob luz polarizada
Intoxicação	Intoxicação por <i>Vicia villosa</i>	Epidemiologia; condição extremamente rara
Neoplasias	Linfoma	Avaliação histológica de espécimes de biópsia ou necropsia
	Melanoma	
	Mesotelioma	Envolvimento de cavidades; avaliação histológica de espécimes de biópsia ou necropsia

* REED, S. M.; BAYLY, W. M. SELLON, D. C. **Equine Internal Medicine**. 2. ed. St. Louis: Saunders Elsevier. 2004.

Referências consultadas:

- ALI, M.; TETELMAN, M. R.; FORDHAM, E. W.; TURNER, D. A.; CHILES, J. T.; PATEL, S. L.; SCHMIDT, K. D. Distribution of hypertrophic pulmonary osteoarthropathy. **American Journal of Roentgenology**, Lessburg, v. 134, p. 771-780, 1980.
- ANDERSON, C. A.; DIVERS, T. J.. Systemic granulomatous inflammation in a horse grazing hairy vetch. **Journal of the American Veterinary Medicine Association**, Washington, v. 183, p. 569-570, 1980.
- BECKER, T.J.; PERRY, R. L.; WATSON, G.L. Regression of hypertrophic osteopathy in a cat after surgical excision of an adrenocortical carcinoma. **Journal of the American Animal Hospital Association**, Lakewood, v. 35, p. 499-505, 1999.
- BRODEY, R. S. Hypertrophic osteoarthropathy in the dog: a clinicopathologic survey of 60 cases. **Journal of the American Veterinary Medicine Association**, Washington, v. 159, p. 1242-1256, 1971.
- BRODEY, R. S.; RISER, W. H.; ALLEN, H. Hypertrophic pulmonary osteoarthropathy in a dog with carcinoma of the urinary bladder. **Journal of the American Veterinary Medicine Association**, Washington, v. 162, p. 474-478, 1973.
- DICKINSON, C. J. The etiology of clubbing and hypertrophic osteoarthropathy. **European Journal of Clinical Investigation**, Utrecht, v. 23, p. 330-8, 1993.
- DICKINSON, C. J.; MARTIN, J. F. Megakaryocytes and platelet clumps as the cause of finger clubbing. **The Lancet**, London, v. 2, p. 1434-1435, 1987
- ENRIGHT, K.; TOBIN E.; KATZ, L. M. A review of 14 cases of hypertrophic osteopathy (Marie's disease) in horses in the Republic of Ireland. **Equine Veterinary Education**, Oxford, v. 23, p. 224-230, 2011.
- FOSTER, S. F. Idiopathic hypertrophic osteopathy in a cat. **Journal Feline Medicine and Surgery**, Wiltshire, v. 9, p. 172-173, 2007.
- GRIERSON, J.M.; BURTON, C.A.; BREARLEY, M. J. Hypertrophic osteopathy secondary to pulmonary sarcoma in a cat. **Veterinary and Comparative Oncology**, Columbia, v. 1, p. 227-231, 2003.
- GRILLO, T. P.; BRANDAO, C. V.; MAMPRIM, M. J.; JESUS, C. M. N.; SANTOS, T. C.; MINTO, B. W. Hypertrophic osteopathy associated with renal pelvis transitional cell carcinoma in a dog. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 48, p. 745-747, 2007.
- GOLDSTRAW, P.; WALBAUM, P. R. Hypertrophic pulmonary osteoarthropathy and its occurrence with pulmonary metastases from renal carcinoma. **Thorax**, London, v. 31, p. 205-211, 1976.
- HEINOLA, T.; HEIKKILA, M.; RUOHONIEMI, M.; SUKURA, A. Hypertrophic pulmonary osteopathy associated with granular cell tumour in a mare. **The Veterinary Record**, London, 149:307-308, 2001.
- IZUMI, M.; TAKAYAMA, K.; YABUUCHI, H.; ABE, K.; NAKANISHI, Y. Incidence of hypertrophic pulmonary osteoarthropathy associated with primary lung cancer. **Respirology**, Tokyo, v. 15, p. 809-812, 2010.
- JOHNSON, R. L.; LENZ, S. D. Hypertrophic osteopathy associated with a renal adenoma in a cat. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, California, v. 23, p. 171-175, 2011.
- MADEWELL, B.; NYLAND, T.; WEIGEL, J. Regression of hypertrophic osteoarthropathy following pneumonectomy in a dog. **Journal of the American Veterinary Medicine Association**, Washington, v. 172, p. 818, 1978.

- MAIR, T.S.; DYSON, S.J.; FRASER, J.A.; EDWARDS, G.B.; HILLYER, M.H.; LOVE, S. Hypertrophic osteopathy (Marie's disease) in Equidae: a review of twenty-four cases. **Equine Veterinary Journal**. London, v. 28, p. 256-262.
- MCLENNAN, M.W.; KELLY, W. R. Hypertrophic osteopathy and dysgerminoma in a mare. **Australian Veterinary Journal**, St Leonards, v. 53, p.144-146, 1977.
- NEWMAN, L. S.; ROSE, C. S.; MAIER, L. A. Sarcoidosis. **New England journal of Medicine**, London, v. 336, p. 1224-1234, 1997.
- REES, C. A. Disorders of the skin. In: REED, S. M .; BAYLY, W. M. SELTON, D. C. **Equine Internal Medicine**. 2. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, p. 667-768. 2004.
- REIJERKERK, E. P. R.; E. J. B.; KROEZE, V.; VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN, M. M. S. Equine sarcoidosis. **Sarcoidosis Vasculitis And Diffuse Lung Diseases**, Fidenza, v. 26, p. 20-23, 2009.
- MARTIN, S. W.; PENNOCK, P. W.; PASS, D. Hypertrophic Pulmonary Osteoarthropathy In A Cow. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 12, p. 129-131, 1971.
- SARGISON, N. D.; SCOTT, P. R.; PENNY, C. D.; PIRIE, R. S. Polioencephalomalacia associated with chronic copper poisoning in a Suffolk ram lamb. **The Veterinary Record**, London, v. 135, p. 556-557, 1994.
- SPIEGEL, I. B.; WHITE, S. D.; FOLEY, J. E.; DRAZENOVICH, N. L.; IHRKE, P. J.; AFFOLTER, V. K. A retrospective study of cutaneous equine sarcoidosis and its potential infectious aetiological agents. **Veterinary Dermatology**, Malden, v. 17, p. 51-62, 2006.
- SWEENEY, C. R.; STEBBINS, K. E.; SCHELLING, C. G.; Beech, J.; Schilling, D. A. Hypertrophic osteopathy in a pony with a pituitary adenoma. **Journal of the American Veterinary Medicine Association**, Washington, v. 195, p. 103-105, 1989.
- Woods, L. W.; Johnson, B.; Hietala, S. K.; Galey, F. D.; Gillen, D. Systemic granulomatous disease in a horse grazing pasture containing vetch (*Vicia sp.*). **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, California, v. 4, p. 356-60, 1992
- YAO, Q.; ALTMAN, R. D.; BRAHN, E. Periostitis and hypertrophic pulmonary osteoarthropathy: Report of 2 cases and review of the literature. **Bone**, Chicago, v. 38, p.458-466, 2009.

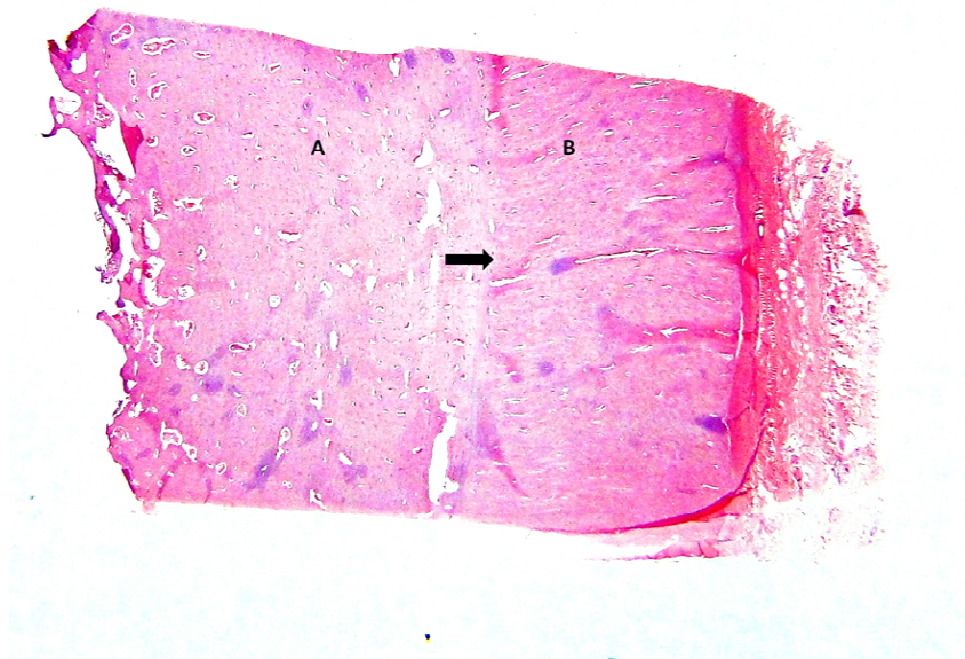


Figura 1. Osso longo, equino. Imagem submacroscópica de um corte transversal do rádio. Observe que há um limite contínuo (seta) entre o osso cortical (A) e o osso neoformado (B). (Hematoxilina e eosina)

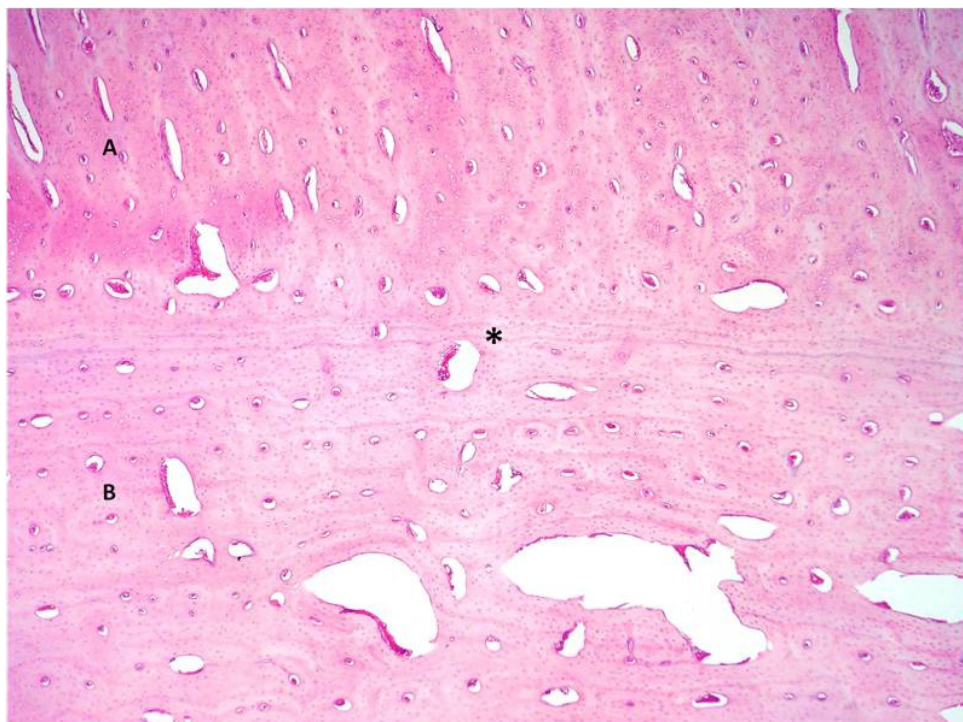


Figura 2. Osso longo (cortical), equino. O tecido ósseo neoformado (A) se estende perpendicularmente a partir do osso cortical (B). Há um limite contínuo entre os dois ossos (asterisco). Observe que as lamelas ósseas do osso neoformado ainda não estão totalmente maduras; os ósteons estão no sentido vertical e estão desorganizados, diferente do osso cortical que apresenta ósteons enfileirados dispostos no sentido horizontal. (Hematoxilina e eosina 100x)

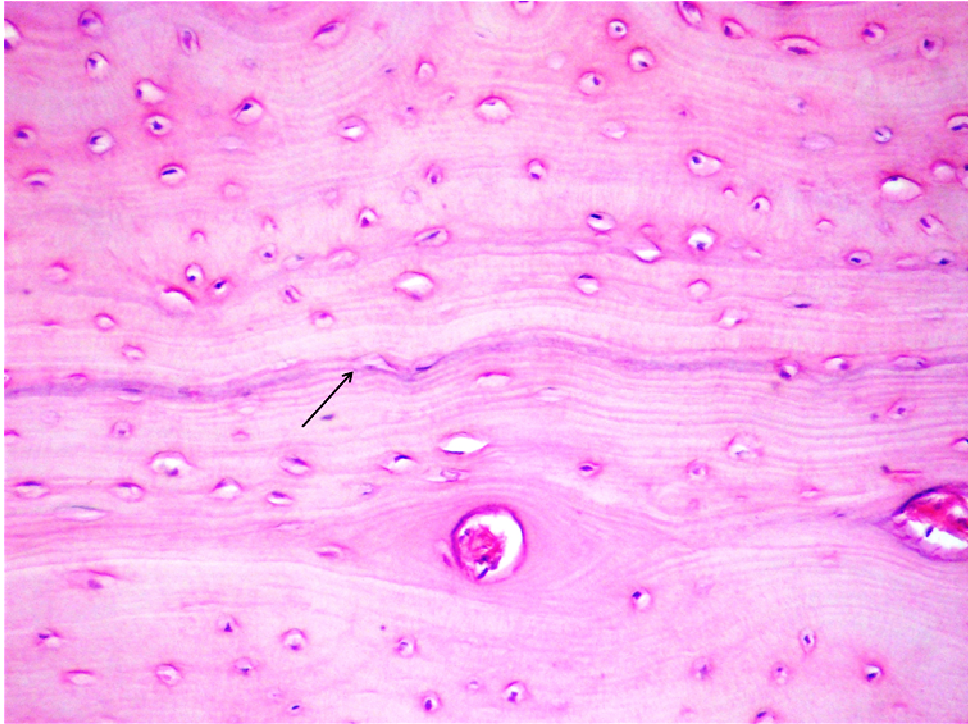


Figura 3. Osso longo (cortical), equino. O novo osso é delineado a partir da borda periférica do osso cortical normal por uma linha basofílica contínua (linha de cementação de repouso) (seta). (Hematoxilina e eosina 400x)

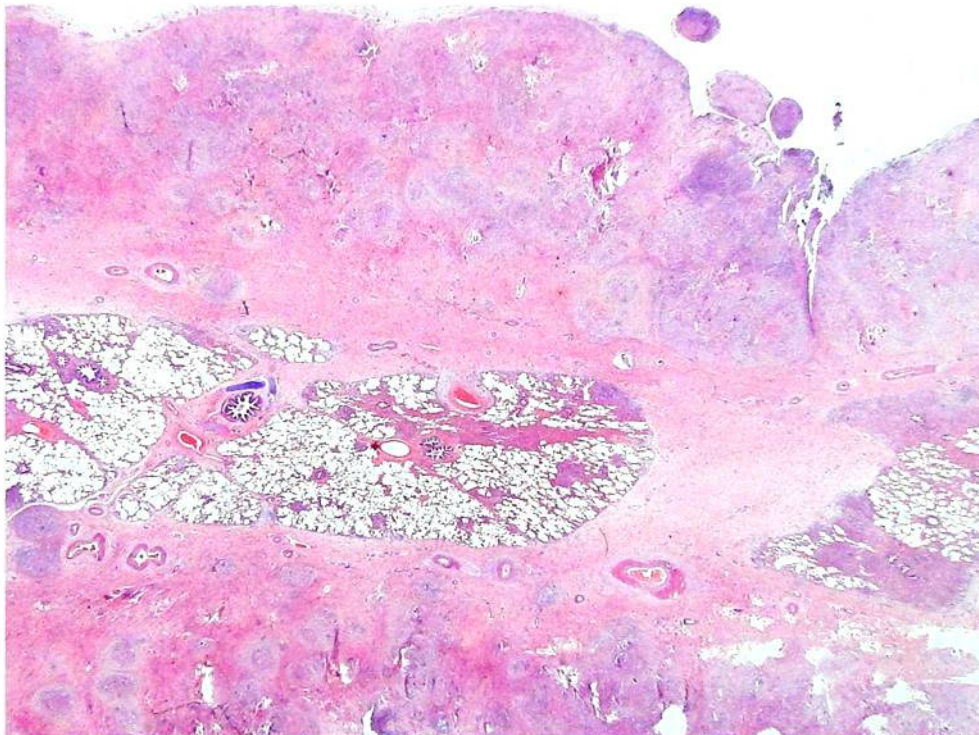


Figura 4. Pulmão, equino. Imagem submacroscópica do pulmão. Observe que na pleura há múltiplos granulomas coalescentes circundados por abundante tecido fibroso. No parênquima pulmonar há múltiplos focos de inflamação granulomatosa intersticial. (Hematoxilina e eosina)

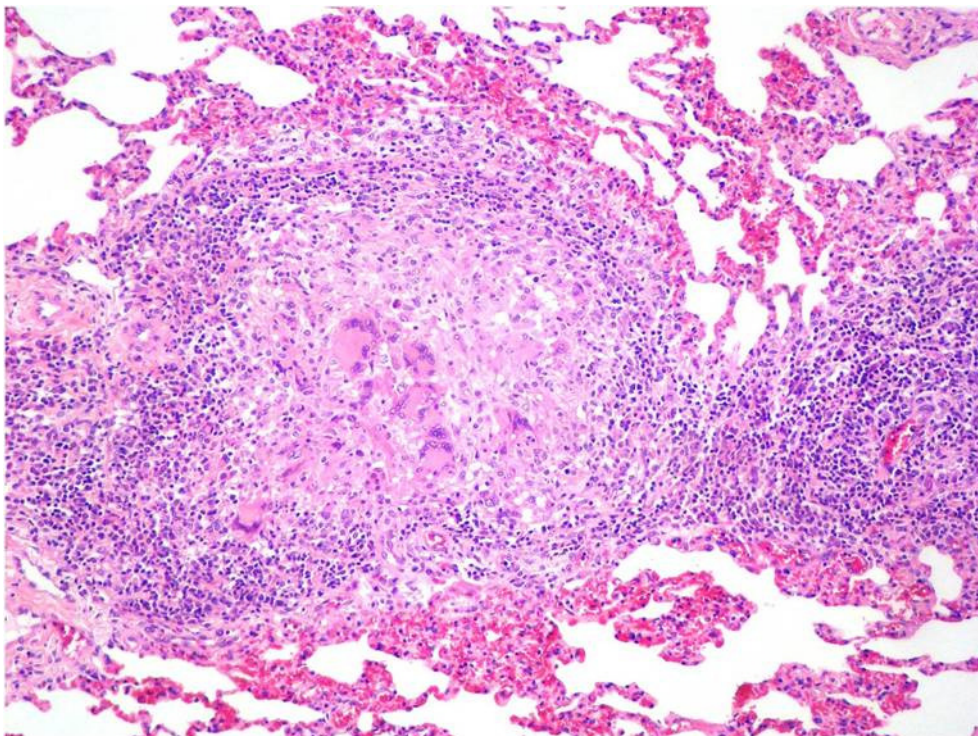


Figura 5. Pulmão, equino. Granuloma focalmente extenso não-caseoso no interstício pulmonar. No centro há células gigantes multinucleadas principalmente do tipo Langhans e números macrófagos epitelioides, circundados por plasmócitos e linfócitos. (Hematoxilina e eosina, 100x)

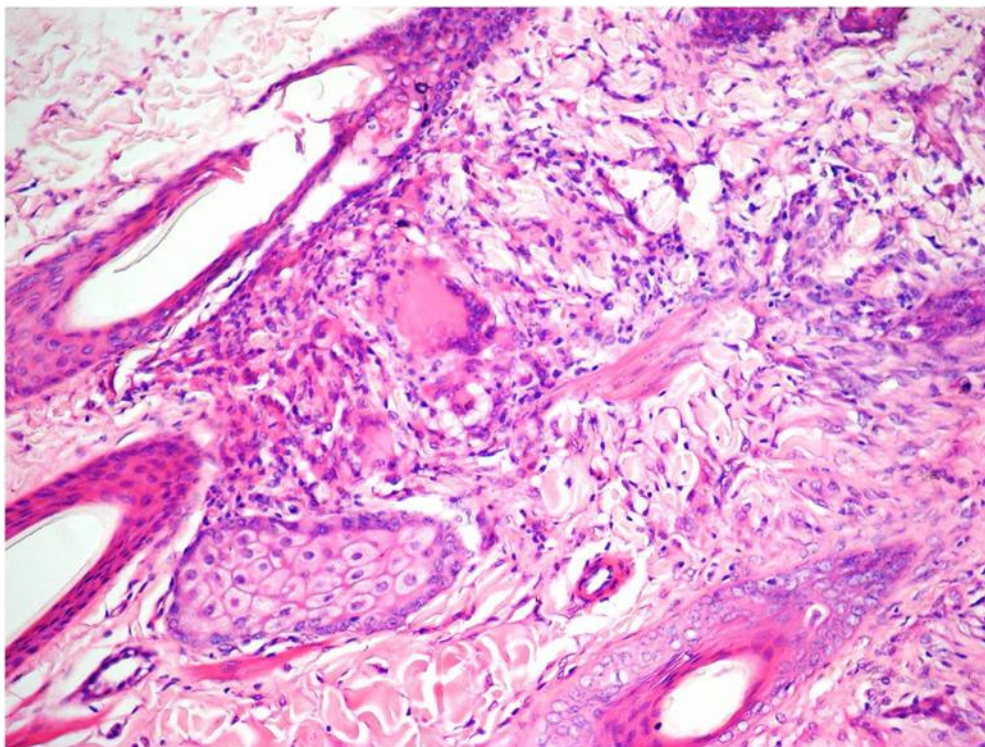


Figura 6. Pele, equino. Na derme superficial observa-se um granuloma típico da doença granulomatosa sistêmica. São observadas células gigantes do tipo Langhans e numerosos macrófagos epitelioides circundados por plasmócitos e linfócitos (granuloma não-caseoso). (Hematoxilina e eosina 200x)

HEMOCROMATOSE EM *Athene cunicularia* (Molina, 1792)

HAEMOCHROMATOSIS IN AN *Athene cunicularia* (Molina, 1792)

Jhennifer Lee Cham¹, Leonardo Gruchouskei², Estela Rose Araujo¹, Simone Benghi Pinto³,
Marivone Valentim Zabott³, Raimundo Alberto Tostes³, Aline de Marco Viott³

1. Graduando de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Campus Palotina, Palotina, Paraná, Brasil.

2. Médico Veterinário Residente de Patologia e Laboratório Clínico da Universidade Federal do Paraná, Campus Palotina, Palotina, Paraná, Brasil.

3. Professores do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Paraná, Campus Palotina, Palotina, Paraná, Brasil. E-mail: viott@ufpr.br

PALAVRAS-CHAVE: acúmulo de ferro, estrigiforme, hepatopatia.

ABSTRACT

Hemochromatosis is a disease caused by excessive iron storage in the organism, mainly in the liver. Is a common disease in birds, but had never been reported in animals of the genus estrigiforme. A female burrowing owl found dead by trampling was necropsied. The liver was moderately increased in size and had a brownish color. Microscopically, were observed a multifocal to coalescing inflammatory infiltrate predominantly in the periportal space. This was composed of macrophages, histiocytes and some lymphocytes and granulocytes. Interwoven with these cells had large amounts of brown pigment granules also observed in liver sinusoids and Küpffer cells. This pigment was positive for iron at potassium ferrocyanide staining. The macroscopic and microscopic findings observed were all compatible with hemochromatosis.

KEYWORDS: accumulation of iron, liver disease, Strigiformes.

INTRODUÇÃO

O termo ave de rapina é utilizado para diferenciar as águias, falcões, gaviões, corujas e urubus dos outros grupos de aves predatórias existentes. Dentro do grupo das aves de rapinas, há uma divisão entre os rapinantes noturnos, representados por animais da ordem Strigiforme, que engloba as corujas, mochos, suindaras, caburés e outros; e os rapinantes diurnos, representados por animais da ordem Falconiformes, composto por águias, falcões, abutres, carcarás, entre outros (CUBAS et al., 2006). Os hábitos alimentares das aves estrigiformes são altamente variáveis e ocorrem mudanças na dieta de acordo com o habitat, época do ano e disponibilidade de alimento. As corujas buraqueiras alimentam-se de pássaros

e répteis de pequeno porte, rãs, insetos, peixes, escorpiões e pequenos mamíferos como os ratos. Ao contrário de outras corujas, também comem frutas e sementes (MAYER, 2008).

A hemocromatose é caracterizada pelo acúmulo patológico de ferro em tecidos corporais, em especial no fígado, resultando em hemorragias focais, acompanhadas de congestões vasculares graves, que se iniciam no sistema mononuclear fagocitário. Isso resulta em lesão necrótica multifocal, com perda de função e doença. Algumas causas são especuladas, como por exemplo, a falta de controle na absorção intestinal de ferro, o excesso de ferro na dieta e predisposição genética. O distúrbio é mais comumente observado em aves da família Ramphastidae, que compreende os tucanos e araçaris (CUBAS, 2008; MASSAROTTO & MARIETO-GONÇALVES, 2010), mas não existem relatos da sua ocorrência nos membros da família Estrigiformes. Esse trabalho tem como objetivo descrever a ocorrência de hemocromatose em *Athene cunicularia* (MOLINA, 1792), necropsiada no Laboratório de Patologia Veterinária de UFPR – Campus Palotina.

DESCRIÇÃO DO CASO

Em oito de abril de 2010, um exemplar fêmea de *Athene cunicularia* (100 gr), encontrada morta (licença IBAMA nº21451-2) no município de Palotina - PR (latitude 24°04'48'' longitude 54°15'21'') foi encaminhado ao laboratório de Patologia Veterinária de UFPR – Campus Palotina para a realização da necropsia. Amostras de diversos órgãos foram coletadas em formol tamponado a 10% e processadas rotineiramente para a coloração de Hematoxilina e Eosina e Ferrocianeto Potássio, para detecção de ferro, de acordo com BEHMER et al. (1975).

RESULTADOS

O cadáver apresentava bom estado nutricional e a autólise era moderada. Ao exame macroscópico, observou-se hepatomegalia leve, sendo que o fígado e o rim apresentavam coloração acastanhada. Demais órgãos não apresentaram alterações. Microscopicamente, observava-se um infiltrado inflamatório multifocal a coalescente predominante no espaço periportal. Este era composto principalmente por macrófagos, histiócitos e alguns linfócitos e granulócitos. Entremeadado a essas células havia grande quantidade de pigmento granular marrom acastanhado que também era observado moderadamente nos sinusóides hepáticos e no interior das células de Kupffer. Havia degeneração microvacuolar leve dos hepatócitos adjacentes aos focos de lesão e necrose individual de algumas dessas células. O pigmento

marrom acastanhado observado foi positivo para ferro através da coloração de Ferrocianeto Potássio.

DISCUSSÃO

As alterações macro e microscópicas observadas são compatíveis com hemocromatose também chamada de siderose hepática. Essa doença é bem conhecida em aves da família Ramphastidae (MASSAROTTO & MARIETO-GONÇALVES, 2010), no entanto, até o momento não havia sido diagnosticada em aves da família Strigiforme.

A sobrecarga de ferro (Fe) em animais pode ser classificada em primária ou hereditária e secundária ou adquirida (fator nutricional, infeccioso, tóxico, por anemia ou secundária a outras doenças (RODENBUSCH et al., 2004). Em aves silvestres não há consenso quanto à etiologia da hemocromatose. Especula-se que a falta de controle na absorção intestinal do ferro, o excesso do microelemento na dieta e a predisposição genética sejam os fatores etiológicos mais prováveis (CUBAS et al., 2006). Com efeito, todos os autores sempre relacionaram a ocorrência da hemocromatose a uma oferta nutricional de Fe em demasia.

A siderose hepática é uma doença descrita em aves de diferentes ordens e famílias com dietas frugívoras e insetívoras. Frutas e insetos são fontes nutricionais pobres em minerais. Estudos demonstraram que aves que apresentam este tipo de dieta possuem um mecanismo fisiológico de compensação no qual há um maior aproveitamento do Fe disponível na mucosa intestinal (CUBAS, 2008). No presente caso não podemos avaliar a composição da dieta do animal, por se tratar de uma coruja de vida livre, mas, sabe-se que as corujas buraqueiras costumam-se alimentar de pequenos vertebrados (roedores e lagartos) grandes fontes de ferro. Sabe-se que aves silvestres mantidas em cativeiro com alimentos ricos em ferro (por exemplo, ração de cães e gatos) apresentam deposição excessiva do mineral em órgãos parenquimatosos, podendo agravar a condição até ocorrer hemocromatose (MASSAROTTO & MARIETO-GONÇALVES, 2010).

Macroscopicamente, em casos de hemocromatose, é observada esplenomegalia, congestão hepática, hepatomegalia, perda da coloração hepática normal, passando a uma cor de ferrugem (RODENBUSCH et al., 2004). As lesões histológicas caracterizam-se por alterações citoplasmáticas degenerativas, fibrose intersticial, infiltrado celular por mononucleares e macrófagos carregados de pigmentos. As aves que apresentam tecidos mais intensamente pigmentados tendem a apresentar menor grau de fibrose e infiltração celular. Os

depósitos de ferro são vistos em células de Kupffer e em agregados de macrófagos carregados de hemossiderina. Esses agregados são normalmente multifocais e podem estar presentes em sinusóides distendidos ou em espaços intersticiais (CUBAS, 2008). Todas essas alterações foram observadas na avaliação histológica. Apesar de se tratar de um acúmulo de pigmento férrico moderado, este já causava lesões de inflamação e necrose o que devia acarretar em prejuízos ao tecido hepático.

O principal diagnóstico diferencial da hemocromatose é a hemossiderose, que se caracteriza pelo acúmulo não patológico de hemossiderina nos tecidos. Na hemossiderose, o pigmento férrico se deposita no interior dos hepatócitos e/ou células de Kupffer na forma de hemossiderina e não causa alterações morfológicas ou inflamatórias ao tecido (MASSAROTTO & MARIETO-GONÇALVES, 2010).

CONCLUSÃO

Trata-se do primeiro relato de hemocromatose em *Athene cunicularia*. As condições avaliadas neste caso sugerem um quadro de hemocromatose de provável etiologia nutricional.

REFERÊNCIAS

- BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; FREITAS NETO, A. G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: Editora da universidade de São Paulo, p. 30-80, 1976.
- CUBAS, Z. S. **Siderose hepática em tucanos e araçaris**. Curitiba, PR, 2008. 159 p. Originalmente apresentado como dissertação de mestrado, Universidade Federal do Paraná. Disponível em <http://dspace.c3sl.ufpr.br:8080/dspace/handle/1884/14723>. Acesso em: 30 mai 2011.
- CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens**. São Paulo: Roca, p. 212-219, 2006.
- CORK, S. C. Review Iron storage diseases in birds. **Avian Pathology**, Londres, v. 29, p. 7–12, 2000.
- MASSAROTTO, V. M.; MARIETTO-GONÇALVES, G. A. Hemocromatose em aves da família ramphastidae. **Veterinária e Zootecnia**. Disponível em [http://www.fmvz.unesp.br/revista/volumes/vol17_n4/VZ17_4\(2010\)_450-460.pdf](http://www.fmvz.unesp.br/revista/volumes/vol17_n4/VZ17_4(2010)_450-460.pdf). Acesso em: 30 mai 2011.
- MAYER, A. B.; LOUZADA-SILVA, D. **Ecologia de coruja-buraqueira (*Athene cunicularia*, strigiformes, strigidae) na estação ecológica de águas emendadas e em ambiente urbano, em Brasília, DF – Uso de espaço, dieta e reprodução**. Faculdade de Ciências da Educação e Saúde Curso de Biologia, 2008. Disponível em <http://www.uniceub.br/Pdf/6%C2%BA%20PIC%202007-%20UniCEUB/Andreia%20Biolchi%20Mayer.pdf>. Acesso em: 30 mai 2011.
- RODENBUSCH, C. R.; CANAL, C. W.; SANTOS, E. O. Hemossiderose e hemocromatose em aves silvestres – Revisão. **Clínica Veterinária**, Osasco, Ano IX, n.53, p. 44-50, 2004.

OCORRÊNCIA DE *Dioctophyma renale* EM FURÕES (*Galictis cuja*)

OCCURRENCE OF *Dioctophyma renale* IN LITTLE GRISONS (*Galictis cuja*)

Estela Rose Araujo¹, Aline Konell¹, Leonardo Gruchouskei², Fernando França Giraldes³
Simone Benghi Pinto⁴, Marivone Valentim Zabott⁴, Raimundo A. Tostes⁴, Aline de Marco
Viott⁴

1. Graduando de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Campus Palotina, Palotina, Paraná, Brasil.

2. Médico Veterinário Residente de Patologia e Laboratório Clínico da Universidade Federal do Paraná, Campus Palotina, Palotina, Paraná, Brasil.

3. Técnico de Histopatologia do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Paraná, Campus Palotina, Palotina, Paraná, Brasil.

4. Professores do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Paraná, Campus Palotina, Palotina, Paraná, Brasil. E-mail: viott@ufpr.br

PALAVRAS-CHAVE: dioctofimose, necropsia, parasitismo.

ABSTRACT

The dioctophymosis is a parasitic disease caused by *Dioctophyma renale* with a worldwide occurrence and affects domestic animals as well as wildlife. Two adult (male) of *Galictis cuja*, found dead by trampling in the city of Guaira, state of Parana was necropsied in the Veterinary Pathology Laboratory of the Federal University of Parana - Campus Palotina. At necropsy were observed good nutritional condition and moderate autolysis in the two specimens. Three specimens of parasites were noted in the abdominal cavity of the first animal and three specimens were found in the second. Two at the right kidney and one in the abdominal cavity. The parasites were fixed in acetic formaldehyde and sent to identification. The parasites were identified as specimens of *D. renale*.

KEYWORDS: dioctophymosis, necropsy, parasitism.

INTRODUÇÃO

Galictis cuja (MOLINA, 1782) é membro da ordem Carnívora. Na América do Sul a espécie é encontrada no sul do Peru, oeste da Bolívia, na região central do Chile, do Paraguai, do Uruguai e da Argentina e no leste e sudeste do Brasil. Sua dieta inclui pequenos mamíferos (roedores), aves e seus ovos, vertebrados ectotérmicos (lagartos, rãs e sapos), invertebrados e frutas (YENSEN & TARIFA 2003; JAVOROUSKI & PASSERINO, 2006).

A dioctofimose é uma parasitose causada por *Dioctophyma renale* de ocorrência mundial. O parasito tende a se localizar principalmente nos rins, ou livre na cavidade

abdominal de cães causando destruição progressiva das camadas cortical e medular dos rins, reduzindo os órgãos a uma cápsula fibrosa (BARROS et al., 1990; LEITE et al., 2005; ALVES et al., 2007). O parasito já foi relatado em um grande número de animais silvestres incluindo martas (*Mustela vison*), doninhas (*Mustela sibirica coreana*), graxains (*Cerdocyon thous*), quatis (*Nasua nasua*), lontras (*Lutra longicaudis*), preguiças (*Choloepus didactylus*), lobos-guará (*Chrysocyon brachyurus*), coiotes (*Canis latrans*), lobos (*Canis Lupus*), raposas vermelhas (*Canis vulpes*), chacais (*Canis mesomelas*), rato-almiscarado (*Ondatra zibethica*), guaxinins (*Procyon lotor*), mão-pelada (*Procyon cancrivorous*), ursos (*Ursus ursus*) e em um macaco-prego (*Cebus apella*) no estado do Pará, Brasil (LEITE et al., 2005; REIS et al., 2006; ISHIZAKI et al., 2010; TOKIWA et al., 2011). No Brasil existem relatos da ocorrência de *D. renale*, em furões na região litorânea do estado do Paraná (BARROS et al., 1990) e no estado do Rio Grande do Sul no município de Pelotas (PESENTI et al., 2007). O objetivo desse trabalho é relatar as alterações macro e microscópicas de dois furões (*G. cuja*) parasitados por *D. renale* na região oeste do estado do Paraná.

DESCRIÇÃO DO CASO

Dois exemplares macho de *Galictis cuja* encontrados mortos por atropelamento no município de Guairá - PR foram encaminhados ao laboratório de Patologia Veterinária de UFPR – Campus Palotina para a realização da necropsia. Amostras teciduais foram coletadas, fixadas em formol tamponado a 10% e processadas rotineiramente pela coloração de Hematoxilina & Eosina para análise histopatológica. Os parasitos encontrados foram fixados em formol acético e submetidos para a identificação no laboratório de Parasitologia Veterinária da UFPR – Campus Palotina.

RESULTADOS

Os cadáveres apresentavam bom estado nutricional e a autólise era moderada. Em um dos animais foram observados três exemplares de parasitos dispostos na cavidade abdominal (duas fêmeas e um macho) um deles perfurara o diafragma e estava parcialmente alojado na cavidade torácica. No segundo furão necropsiado dois parasitas, um macho e uma fêmea, foram observados no interior do rim direito. O parênquima renal estava reduzido a uma cápsula fibrosa com conteúdo necrótico e sanguinolento. Outro parasita adulto foi observado na cavidade abdominal. Não foram observadas alterações macroscópicas nos demais órgãos em ambos os casos. Histologicamente, o parênquima renal era delgado e obliterado por tecido

conjuntivo fibroso associado a infiltrado inflamatório mononuclear intersticial, atrofia acentuada e perda de glomérulos e túbulos. Os parasitos observados durante a necropsia foram identificados como *Dioctophyma renale* em ambos os animais.

DISCUSSÃO

D. renale são ovíparos e em condições adequadas no meio ambiente a primeira fase larval surge dentro dos ovos. Para prosseguir sua evolução, os ovos larvados devem ser ingeridos por hospedeiros intermediários. Oligoquetas de água doce são considerados os principais hospedeiros intermediários, crustáceos, peixes, sapos, rãs ou salamandras também são considerados intermediários no ciclo biológico do grande estrôngilo (FORTES 1997; ISHIZAKI et al., 2010). Apesar do fato da fonte de infecção deste caso permanecer desconhecida, parece provável que esta é resultante da ingestão do segundo HI pelo furão (*G. cuja*). Sabe-se que esses animais não incluem na sua dieta peixes e crustáceos, mas, alimentam-se frequentemente de sapos e rãs (BARROS et al., 1990; YENSEN & TARIFA, 2003; PESENTI et al., 2007).

O parasitismo no hospedeiro definitivo ocorre mais frequentemente no rim direito, onde as fêmeas, quando fecundadas, produzem ovos que são eliminados pela urina (AMARAL et al., 2008). Um dos animais necropsiados apresentava parasitismo no rim direito semelhante ao observado por BARROS et al. (1990) e PESENTI et al. (2007). A presença do parasito na cavidade torácica com conseqüente lesão de diafragma só tinha sido observada até o momento em cães, sendo associada à sintomatologia clínica de pneumotórax (PESENTI et al., 2007). O local onde a larva infectante penetra no trato digestório do hospedeiro é determinante para a localização do parasito adulto. Larvas infectantes que penetram na curvatura menor do estômago evoluem para a forma adulta entre os lobos hepáticos o que explica a forma livre do parasito nas cavidades corpóreas. Já aquelas que migram pela curvatura maior do estômago e duodeno, tendem a se alojar no rim esquerdo e direito respectivamente (ISHIZAKI et al., 2010). Localizações ectópicas de parasitos adultos já foram descritas no escroto, glândula mamária e tecido subcutâneo inguinal (PESENTI et al., 2007; AMARAL et al., 2008; ISHIZAKI et al., 2010).

CONCLUSÕES

Relata-se a ocorrência de parasitismo por *Dioctophyma renale* em furões (*Galictis cuja*) na região oeste do estado do Paraná.

REFERÊNCIAS

- ALVES, G. C.; SILVA, D. T.; NEVES, M. F. *Diectophyma renale*: O parasita gigante do rim. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Publicação Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Graça/FAMED, Ano IV, n. 08, 2007.
- AMARAL, L. C. D.; POLIZER, K. A.; SANT'ANA, T. M.; NEVES, M. F. *Diectophyma renale*. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Ano VI, n. 10, 2008.
- BARROS, D. M.; LORINI, M. L.; PERSSON, V. G. *Diectophymosis* in the Little Grison (*Galictis cuja*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 26 n. 4, p. 538-539, 1990.
- FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. São Paulo, Editora Cone, 3ed. 1997.
- ISHIZAKI, M. N.; IMBELONI, A. A.; MUNIZ, J. A. P. C.; SCALERCIO, S. R. R. A.; BENIGNO, R. N. M.; PEREIRA, W. L. A.; LACRETA JUNIOR A. C. C. *Diectophyma renale* (GOEZE, 1782) in the abdominal cavity of a capuchin monkey (*Cebus apella*), Brazil. **Veterinary Parasitology**, n. 173 p. 340-343, 2010.
- JAVOROUSKI, M. L.; PASSERINO, A. S. M. 2007. Carnívora, Mustelidae (Ariranha, Lontra, Furão, Irara, Ferret), p. 547-570. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (Eds), **Tratado de Animais Selvagens**. São Paulo: ROCA, 2006.
- LEITE, L. C.; CÍRIO, S. M.; DINIZ, J. M. F.; LUZ, E.; NAVARRO-SILVA, M. A.; SILVA, A. W. C.; LEITE, S. C.; ZADOROSNEI, A.C.; MUSIAT, K. C.; VERONESI, E. M.; PEREIRA, C.C. Lesões anatomopatológicas presentes na infecção por *Diectophyma renale* (GOEZE, 1782) em cães domésticos (*Canis familiaris* LINNAEUS, 1758). **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 10, n. 1, p. 95-01, 2005.
- MILANELO, L.; MOREIRA, M. B.; FITORRA, L. S.; PETRI, B. S. S.; ALVES, M.; SANTOS, A. C. Occurrence of parasitism by *Diectophyma renale* in ring-tailed coatis (*Nasua nasua*) of the Tiete Ecological Park, São Paulo, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 12, p. 959-962, 2009.
- PESENTI, T. C.; KRÜGER, C.; MASCARENHAS, C. S.; MÜLLER, G. Ocorrência de *Diectophyma renale* (GOEZE, 1782) em *Galictis cuja* no Rio Grande do Sul. **XVI Congresso de Iniciação Científica UFPEL**, Pelotas, 2007.
- TOKIWA, T., HARUNARI, T., TANIKAWA, T., AKAO, N., OHTA, N. *Diectophyme renale* (Nematoda: Diectophymatoidea) in the abdominal cavity of *Rattus norvegicus* in Japan. **Parasitology International**, 2011. doi:10.1016/j.parint.2011.03.003
- YENSEN, E.; TARIFA, T.. Mammalian Species, *Galictis cuja*. **American Society of Mammalogists**, n. 728 p. 1-8, 2003.

HISTOMORFOMETRIA DA CÓRNEA DO BULBO DO OLHO DE PENEIREIRO-DE-DORSO-MALHADO (*Falco tinnunculus* - LINNAEUS, 1758)

HISTOMORPHOMETRY OF THE EYE BULB CORNEA FROM COMMON KESTREL

(*Falco tinnunculus* – LINNAEUS, 1758)

Cynthia Graziela Candioto¹, Karin Werther², Rüdiger Korbel³

1. Mestranda do Departamento de Patologia Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- FCAV - UNESP, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

2. Professora Doutora do Departamento de Patologia Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- FCAV - UNESP, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. E-mail: werther@fcav.unesp.br

3. Professor Titular Clinic for Birds, Reptiles, Amphibians and Pet Fish Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München, Munique - Alemanha.

PALAVRAS-CHAVE: falcão, histologia, morfometria.

ABSTRACT

The bulb of the eye is not a well-studied part of the body and needs more physiological values for various animal species. In this manner, the objective of the study was to evaluate histologically the eye of *Falco tinnunculus*, through measurements of the cornea. The results were compared between males and females and between the right and left eyes. The eyes were fixed in buffered formaldehyde and subsequently decalcified. The right eyes were cut vertically, and left eyes horizontally. After paraffin embedding, sections were prepared and stained with hematoxylin/eosin techniques. For the analysis of the cuts, three points on the cornea (A, B and C) have been defined and measured, using an image analyzing software. Corneal thickness was greater in the periphery (A and C) and lower in the central area (B). There were no statistical differences in corneal thickness measurements between the left and right eyes as well as between the sexes. The data described in the paper complement the basic knowledge of histomorphology of the eyes from *Falco tinnunculus* for the assessment of histopathology.

KEYWORDS: falcon, histology, morphometry.

INTRODUÇÃO

Apesar do globo ocular ser um órgão aparentemente isolado dos outros sistemas orgânicos, ele pode apresentar alterações isoladas ou decorrentes de afecções sistêmicas,

sendo a córnea, lente, e úvea as estruturas mais afetadas nas aves (KORBEL 1992; HVENEGAARD et al., 2009).

O *Falco tinnunculus* é um falcão, rapinante diurno, encontrado na Europa, Ásia e África, de ocorrência irregular no Brasil. Para a avaliação histopatológica do globo ocular de aves, é necessário conhecer os aspectos histomorfológicos normais nas diferentes espécies. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar cortes histológicos da córnea de *Falco tinnunculus*, adultos, de vida livre, correlacionando a sua espessura com o sexo e os olhos direitos e esquerdos.

MATERIAL E MÉTODOS

A colheita dos olhos foi realizada na Clinic for Birds, Reptiles, Amphibians and Pet Fish da Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) em Munique, na Alemanha. Aves de vida livre, que apresentavam lesões corporais muito graves, incompatíveis com a sobrevivência foram eutanasiadas e imediatamente após foram enucleados os bulbos do olho. Estes procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética (CEUA) local.

Os olhos foram fixados em solução de formaldeído (1:10) tamponado com fosfato (pH 7,3) e descalcificados em solução à base de ácido fórmico (Decalcifier®) durante 6-12 horas. A secção do globo ocular foi padronizada segundo Ehrenhofer (2001). Após o corte, os olhos foram desidratados, diafanizados em xilol e incluídos em parafina. Os blocos foram seccionados em micrótomo (5µm) e as lâminas coradas com Hematoxilina e Eosina.

A análise histomorfométrica da córnea foi realizada no Departamento de Patologia Veterinária da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP-Brasil.

Para a análise dos cortes, foram determinados três pontos na córnea (A, B, C), com o auxílio de uma lupa estereoscópica. Sendo B o ponto central, A e C os pontos localizados próximos à junção cornea-conjuntiva bulbar (pontos periféricos). No microscópio óptico foram feitas fotomicrografias da córnea com objetivas de 10x, 20x e 40x nos pontos determinados previamente. Por meio do software de análise de imagens ImageTool for Windows (version 3.0), foi medida a espessura da córnea em micrômetros.

Foi medida a espessura total da córnea e as três camadas distintas que a compõem: epitelial (mais externa), média (camada de Bowman, estroma e membrana de Descemet) e endotelial (mais interna).

Análise de variância de medidas repetidas foi o método estatístico utilizado, segundo o teste t de análise de variância (ANOVA). Comparações de médias aos pares foram feitas usando o teste de Tukey (significativo para $p < 0,05$).

RESULTADOS

A córnea nos pontos periféricos (A e C) foi mais espessa que no ponto central (B).

Apesar da média da espessura total da córnea nos pontos A, B e C ter sido maior nos olhos esquerdos que nos direitos, não houve uma diferença significativa. Em relação ao sexo dos animais, apesar da espessura média da córnea nos três pontos (A, B, C) ser maior nas fêmeas que nos machos, esta diferença não foi significativa.

Em relação às três camadas da córnea (epitelial, média e endotelial), não foi observado grande variação em suas espessuras. O ponto B apresenta as maiores espessuras da camada epitelial e endotelial, e ao mesmo tempo, a menor espessura da camada média. Nos três pontos (A, B e C) foi observada uma diferença significativa entre a camada média e as outras duas (endotelial e epitelial).

DISCUSSÃO

Na análise histológica da espessura da córnea de *Falco tinnunculus*, esta possuiu espessura maior na periferia (ponto A e C), e menor, na área central (ponto B). Na literatura constam achados semelhantes, porém utilizando outras técnicas de medição em diferentes espécies de animais (GILGER et al., 1991; ANDREW et al., 2001). A maior espessura da córnea na periferia pode ser explicada pelo fato da córnea, juntamente com a esclera, ser responsável pela manutenção da forma do globo ocular e proteção das estruturas internas, suportando diversas pressões (HUANG & MEEK, 1999).

A espessura da córnea, na área central, varia com as espécies de aves e a técnica aplicada para esta medição (MONTIANI-FERREIRA et al., 2004; STROBEL, 2010). Strobel (2010), utilizando a ultrassonografia nos mesmos indivíduos (*Falco tinnunculus*) deste estudo, obteve uma espessura de córnea de 305,3µm, enquanto pela técnica histológica neste trabalho foi verificado o valor de 129µm. Este fato comprova que os procedimentos da técnica histológica causaram uma diminuição da espessura da córnea.

Apesar de, numericamente, a espessura da córnea nas fêmeas nos três pontos (A, B, C) ter sido maior do que nos machos, estatisticamente esse fato não foi comprovado. Há relatos na literatura que cães machos possuem córneas mais espessas que fêmeas (MONTIANI-FERREIRA et al., 2003).

Ao comparar os resultados dos olhos direitos e esquerdos nenhuma diferença estatística foi encontrada. Semelhante ao que foi encontrado em trabalhos realizados em outras espécies de animais e utilizando técnicas diferentes (GILGER et al., 1991; TAMAYO-ARANGO et al., 2009).

Em relação as medidas obtidas nas três camadas da córnea (epitelial, média e endotelial), não foi encontrada nenhuma referência na literatura citando aves e outros vertebrados para realizar possíveis comparações.

A mensuração da espessura corneana é um meio para monitorar a função e a integridade das células endoteliais (GILGER et al., 1993) e é útil para acompanhamento e diagnóstico de alterações patológicas que acometem a córnea (MODIS et al., 2001).

CONCLUSÕES

Nesta espécie a córnea é mais espessa na periferia e mais delgada no ponto central.

A técnica histológica induz alterações nas dimensões da córnea, dificultando comparações com resultados obtidos por outras técnicas, descritos na literatura.

Não há diferenças na espessura da córnea quando analisando o sexo das aves ou os olhos direitos e esquerdos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o auxílio financeiro cedido pela CAPES Processo nº: 0074/08-0 e FUNDUNESP Processo nº: 01116/11-DFP

REFERÊNCIAS

- ANDREW, S.E.; RAMSEY, D.T.; HAUPTMAN, J.G.; BROOKS, D.E. Density of corneal endothelial cells and corneal thickness in eyes of euthanatized horses. *American Journal of Veterinary Research*, v.62, p.479-482, 2001.
- GILGER, B.C.; WHITLEY, R.D.; MCLAUGHLIN, S.A.; WRIGHT, J.C.; DRANE, J.W. Canine corneal thickness measured by ultrasonic pachymetry. *American Journal Veterinary Research*, v.52, n.10, p.1570-1572, 1991.
- GILGER, B.C.; WRIGHT, J.C.; WHITLEY, R.D.; MCLAUGHLIN, S.A. Corneal thickness measured by ultrasonic pachymetry in cats. *American Journal of Veterinary Research*, v.52, n.2, p.228-230, 1993.
- HUANG, Y.; MEEK, K.M. Swelling studies on the cornea and sclera: the effects of ph and ionic strength. *Biophysical Journal*, v.77, n.3, p.1655-1665, 1999.
- HVENEGAARD, A.P.; SAFATLE, A.M.V.; GUIMARÃES, M.B.; FERREIRA, A.J.P.; BARROS, P.S.M. Retrospective study of ocular disorders in Amazon parrots. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. v.29, n.12, p.979-984, 2009.
- KORBEL, R. Ocular manifestations of systemic diseases in birds. *Tierärztl Praxis*, v.20, n.4, p.385-394, 1992.
- MODIS, L.; LANGENBUCHER, A.; SEITZ, B. Corneal thickness measurements with contact and noncontact Specular Microscopic and Ultrasonic Pachymetry. *American Journal of Ophthalmology*, v.132, p.517-521, 2001.
- MONTIANI-FERREIRA, F.; PETERSEN-JONES, S.; CASSOTIS, N.; RAMSEY, D.T.; GEARHART, P.; CARDOSO, F. Early postnatal development of central corneal thickness in dogs. *Veterinary Ophthalmology*. v.6, n.1, p.19-22, 2003.
- MONTIANI-FERREIRA, F.; CARDOSO, F.; PETERSEN-JONES, S. Postnatal development of central corneal thickness in chicks of *Gallus gallus domesticus*. *Veterinary Ophthalmology*. v.7, n.1, p.37-39, 2004.
- STROBEL, B.K. Okulare sonographie des gesunden und erkrankten auges bei wildgreifvögeln. 2010. 185p. Doktorarbeit. Fakultät der Ludwigs-Maximilians Universität München, München.
- TAMAYO-ARANGO, L.J.; BARALDI-ARTON, S.M.; LAUS, J.L.; MENDES-VICENTI, F.A.; PIGATTO, J.A.; ABIB, F.C. Ultrastructural morphology and morphometry of the normal corneal endothelium of adult crossbred pig. *Ciência Rural*, v.39, n.1, p.117-122, 2009.

CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS EM EPITÉLIO NASAL DE UM HÂMSTER CHINÊS (*Cricetulus griséus*) – RELATO DE CASO
NASAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF NASAL EPITHELIUM IN A CHINESE HAMSTER (*Cricetulus griséus*) - CASE REPORT

Mayara Caroline Rosolem¹; Débora Cristina Romero²; Daniela Bernadete Rozza³; Daniel Castendo Simões⁴

1. Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, ênfase em Patologia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV (UNESP), Jaboticabal, SP, Brasil.

E-mail: mayara_roselem@yahoo.com.br

2. Mestranda do Programa de Pós – Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ (USP), SP, Brasil.

3. Professora Doutora Assistente do curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba - FMVA (UNESP), Araçatuba, SP, Brasil.

4. Médico Veterinário autônomo especialista em animais exóticos, Araçatuba, SP, Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: neoplasia, pequenos roedores, carcinoma epidermóide.

ABSTRACT

The squamous cell carcinoma (SCC) is a neoplasm that affect pets, production animals and exotic animals, and it's very common in tropical countries like Brazil, once it develops a sparsely pigmented, stratified squamous epithelium and on surfaces mucosa exposed to ultraviolet action. The SCC is quite infiltrative but rarely causes metastases. Its occurrence in the nasal epithelium is widely reported in cats. This case is a Chinese Hamster, female, young, who developed a nasal nodule, and their only clinical sign was intense itching. The animal underwent surgery to perform an incisional biopsy, which was referred to the Serviço de Patologia Veterinária of UNESP, campus Araçatuba for histopathological evaluation. The material showed features consistent with squamous cell carcinoma of well differentiated.

KEY-WORDS: neoplasm, small rodents, epidermóide carcinoma.

INTRODUÇÃO

O carcinoma de células escamosas (CCE) é uma neoformação maligna de células epidérmicas, as quais se diferenciam em queratinócitos (GOLDSCHMIDT, 2002; SOUZA, 2005; SCOPEL, 2007), comum em países de clima tropical, como o Brasil. O carcinoma de células escamosas pode ser altamente invasivo e ocasiona metástases para linfonodos

regionais, estrutura anexas, ossos e pulmão (GOLDSCHMIDT, 2002; KRAEGEL, 2004). O seu desenvolvimento pode estar associado a fatores genéticos, deficiências nutricionais, exposição ao sol, traumatismos freqüentes e má higiene (XAVIER, 2005). Acomete felinos, bovinos, caninos e eqüinos com bastante freqüência (SCOPEL, 2007), porém são pouco relatados em animais exóticos, como aves, répteis e pequenos roedores.

O objetivo deste trabalho é relatar o caso de um Hamster Chinês, fêmea, jovem que desenvolveu carcinoma de células escamosas em espelho nasal.

DESCRIÇÃO DO CASO

Foi encaminhado ao Serviço de Patologia Veterinária da Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) campus de Araçatuba, um fragmento excisado para análise histopatológica proveniente de um hamster chinês (*Cricetulus griséus*), fêmea, com um ano e meio, que apresentou aumento de volume de aproximadamente 0,5 cm, em espelho nasal com evolução rápida, de aproximadamente quinze dias. O animal tinha apenas prurido no local do aumento de volume, alimentava-se e ingeria água normalmente. O animal foi encaminhado para cirurgia onde foi realizada biopsia incisional do nódulo. A massa tinha odor pútrido e drenava conteúdo purulento. O proprietário informou ainda que o animal tinha contato apenas com maravalha. O material coletado foi fixado em formol 10% e encaminhado para processamento histológico, sendo corado com Hematoxilina e Eosina (HE).

RESULTADOS

O fragmento tinha coloração rósea, consistência macia, superfície irregular, medindo aproximadamente 0,5cm x 0,5cm x 0,3cm. Microscopicamente foi observado hiperqueratose paraqueratótica moderada e proliferação das células do estrato espinhoso com projeção para a derme profunda. As células do estrato espinhoso possuíam nucléolo evidente com mais de um núcleo e presença de grupos de isolados de células com centro queratinizado, além de infiltrado inflamatório polimorfonuclear e mononuclear moderado. Na derme, havia vascularização evidente e edema moderado. O diagnóstico final foi de carcinoma de células escamosas bem diferenciado.

DISCUSSÃO

A literatura descreve que a ocorrência de neoplasias é comum em hamsters e que são mais freqüentes em machos do que em fêmeas (ALENCAR, 2003). O estímulo para a

formação do carcinoma de células escamosas é bem conhecido em muitas espécies domésticas, e sabe-se que a influência principal está na exposição aos raios solares incididos constantemente sobre regiões glabras, áreas despigmentadas, levemente pigmentadas além do epitélio escamoso estratificado e de várias superfícies mucosas (JONES, 2000; KRAEGEL, 2004; KELLER, 2008). Estudos com ratos descrevem o desenvolvimento do CCE na mucosa da cavidade nasal após a emissão experimental de doses diferenciadas de formaldeído em vapor (SWENBERG, 1980). Neste caso, a causa do surgimento da neoplasia não ficou esclarecida.

No carcinoma de células escamosas a hiperplasia epitelial é evidente, sendo facilmente identificadas pérolas de queratina, células com morfologia alterada e infiltrado inflamatório linfoplasmocitário invadindo tanto tecido epitelial quanto o tecido conjuntivo. Na derme há aumento da vascularização do tecido conjuntivo, edema e presença de vasos em neoformação (OLIVEIRA, 2010). Os achados microscópicos foram compatíveis com os descritos na literatura.

CONCLUSÃO

O carcinoma de células escamosas é uma neoplasia que pode acometer animais domésticos e os animais exóticos, como foi relatado. Devido ao escasso número de trabalhos na literatura sobre neoplasias em hamsters fica evidente a necessidade em se realizar mais pesquisas para haver melhor embasamento sobre o assunto.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, N. X.; CORREIA, I. S.; ROMÃO, M. A. M. P.; VIEIRA, T. B.; FERREIRA, M. L. G.; TORTELLY, R. Osteossarcoma de tecidos moles em hamster chinês (*Cricetulus griseus*): relato de caso. Anais do VII Congresso e XI Encontro da ABRAVAS, São Pedro/SP, 2003.
- GOLDSCHMIDT, M. H.; HENDRICK, M. J. Tumors of the skin and soft tissues. In: MEUTEN, D. J. **Tumors in Domestic Animals**. 4.ed. Iowa: Iowa State Press, 2002. cap. 2, p. 45-117.
- JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. M. A pele e seus anexos. In: _____. **Patologia Veterinária**. 6.ed. Barueri: Manole, 2000. cap 17, p. 831-886.
- KRAEGEL, S. A.; MADEWELL, B. R. Tumores da Pele. In: ETTINGER, S. J.; FELDMANN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara/Koogan, 2004. cap. 99, p.555-557.
- KELLER D., RÖNNAU M., GUSMÃO M.A. & TORRES M.B.A.M. Casuística de carcinoma epidermóide cutâneo em bovinos do campus palotina da UFPR. *Acta Scientiae Veterinariae*, Porto Alegre, v36, p. 155-159, 2008.
- OLIVEIRA, M. A.; NUNES, M. B.; XAVIER, L. L.; SOUZA, F. L.; LOPES, M. A. **Descrição histológica qualitativa de tumores em bolsa jugal de hamster sírio dourado**. XI Salão de Iniciação Científica – PUCRS, 09 a 12 de agosto de 2010
- SCOPEL, D.; SPADER M. B.; GUIM, T. N.; DANIELI, V. M.; FERNANDES, C. G. Estudo retrospectivo da casuística de carcinoma de células escamosas em felinos, bovinos, caninos, eqüinos e ovinos entre os anos de 2002 e 2006 no Lrd/Ufpel. In: CIC (Congresso de Iniciação Científica de Pesquisa e Responsabilidade Ambiental) 16, 2007, Pelotas. **Anais** do XVI CIC. Pelotas: UFPEL, 2007.p.4.

SWENBERG, J. A.; KERNS, D. K.; MITCHELL, R. I.; GRALIA, E. J.; PAVKOV, K. L. Induction of squamous cell Carcinomas of the Rat Nasal Cavity by Inhalation exposure to Formaldehyde vapor. **CANCER RESEARCH** 40, 3398-3402, September 1980.

XAVIER, S.D.; BUSSOLOTI, I. F.; LANCELLOTTI, C.L.P. Prevalência de achados sugestivos de papilomavírus humano (HPV) em biópsias de carcinoma espinocelular de cavidade oral e orofaringe: estudo preliminar. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia, São Paulo** v.71, n.4, p.510-514, 2005.

GASTRITE E ADENOCARCINOMA GÁSTRICO EM CHINCHILAS (*Chinchilla lanigera*) NATURALMENTE INFECTADAS POR *Helicobacter* spp.

GASTRITIS AND GASTRIC ADENOCARCINOMA IN CHINCHILLAS (*Chinchilla lanigera*) NATURALLY INFECTECTED BY *Helicobacter* spp.

Ricardo B. Lucena¹, Bianca Tessele², Paula R. Giaretta², Tessie B. Martins², Juliana S. Brum², Claudio S. L. Barros³

1. Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Laboratório de Patologia Veterinária (LPV), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Rio Grande do Sul (RS), Brasil. E-mail: lucena.rb@gmail.com

2. Curso de Medicina Veterinária, Bolsista de Iniciação Científica (PIBC/CNPq), UFSM, LPV, Santa Maria, RS, Brasil.

3. Professor, Departamento de Patologia, UFSM, LPV, Santa Maria, RS, Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: chinchila, estômago, gastrite, *Helicobacter* sp, neoplasia.

ABSTRACT

Two chinchillas died after developing apathy and anorexia. Necropsy findings were a primary gastric neoplasm with transcelomic metastasis within the peritoneal cavity in one of these rodents (*Chinchilla* 1) and a severe gastritis in the other (*Chinchilla* 2). Histologically the tumor in *Chinchilla* 1 was a gastric adenocarcinoma of the intestinal type with areas of intestinal metaplasia and large nodular lymphoid aggregates. The lesion in the stomach of *Chinchilla* 2 was a severe chronic atrophic gastritis with mucosal atrophy, intestinal metaplasia, dysplasia and abundant nodular lymphoid aggregates. Polymerase chain reaction carried out in gastric samples from *Chinchilla* 1, revealed *Helicobacter* DNA with 99% homology with *H. pylori*. In the Gastric mucosa of *Chinchilla* 2, Warthin-Starry-positive micro-organisms with morphology compatible with *Helicobacter* sp. The microorganisms stained positive in the immunohistochemistry using a species specific anti-*Helicobacter pylori* antibody. Fragments of the lesion in *Chinchilla* 2 were also positive in the urease test. The present report describes the first cases of gastritis and stomach cancer in chinchillas and provides strong evidences to suggest an association with gastric carcinoma and *Helicobacter* sp. in chinchilla.

KEY WORDS: chinchilla, gastritis, neoplasia, stomach, *Helicobacter* sp.

INTRODUÇÃO

A infecção por bactérias do gênero *Helicobacter*, principalmente *H.pylori*, é considerada a principal causa de gastrite, úlcera péptica, adenocarcinoma gástrico e linfoma do tecido linfóide associado à mucosa (MALT) em humanos (DIXON et al., 1996; WARREN, 2000; KUSTERS et al., 2006). Gastrite associada à infecção por *Helicobacter* spp. é descrita com alta prevalência em animais selvagens mantidos em cativeiro, e constitui uma importante causa de morte em guepardos (*Acinonyx jubatus*) (KUSTERS et al., 2006). Roedores são usados como um modelo para o estudo da doença gástrica em humanos (WATANABE et al., 1998).

Na rotina de diagnóstico do Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (LPV-UFSM), tem-se observado grande número de chinchilas acometidas por gastrite, como um achado incidental de necropsia ou, menos comumente, como causa de morte. Este estudo tem como objetivo relatar a ocorrência espontânea de gastrite e tumor gástrico em chinchilas, descrever seus aspectos clínicos e patológicos e investigar uma possível participação de bactérias do gênero *Helicobacter* na etiologia dessas condições

DESCRIÇÃO DO CASO

Gastrite e neoplasia foram detectadas durante a necropsia de rotina em duas chinchilas (Chinchilas 1 e 2). Fragmentos do estômago da Chinchila 1 foram submetidos à reação em cadeia de polimerase (PCR) e fragmentos do estômago da Chinchila 2 foram submetidos ao teste rápido da urease. Material de vários órgãos, incluindo estômago, foram fixados em formol a 10%, processados rotineiramente e corados por hematoxilina e eosina, Warthin-Starry (WS) e azul alciano (AB). Seções de estômago das duas chinchilas foram avaliadas por imuno-histoquímica (IHQ) usando o anticorpo anti-*Helicobacter pylori* (monoclonal, DAKO, 1:200) pela técnica da avidina-biotina-peroxidase. A reação com diaminobenzidina foi usada para detecção da marcação final.

RESULTADOS

Antes da morte as chinchilas demonstraram apatia e anorexia parcial durante um mês, seguida por anorexia total por uma semana. Na necropsia da Chinchila 1, a serosa do estômago estava irregular, com múltiplas nodulações firmes. Havia numerosas metástases por

implantação na superfície do diafragma e cápsula renal. O fígado estava aumentado de volume, com bordos arredondados. Microscopicamente, observou-se crescimento infiltrativo transmural. As células neoplásicas eram cuboidais ou colunares baixas, com citoplasma eosinofílico e finamente fibrilar; o núcleo era redondo ou oval composto por cromatina distribuída na forma de finos grânulos. Algumas glândulas estavam dilatadas e continham material basofílico, amorfo, AB-positivo (muco), achados são consistentes com metaplasia intestinal. Algumas áreas do tumor demonstravam metaplasia escamosa. Numerosos agregados linfóides foram observados no segmento de lâmina própria adjacente ao tumor. Úlceras multifocais e infiltração por grande número de neutrófilos ocorriam na mucosa. O fígado revelou marcada vacuolização do citoplasma dos hepatócitos (lipidose hepática). Nas técnicas de WS e IHQ não foram evidenciadas bactérias em meio ao tumor. Porém, o exame de PCR e sequenciamento genético da amostra obtida da mucosa do estômago revelou a presença de *Helicobacter* com 99% de compatibilidade com *Helicobacter pylori*.

Na necropsia da Chinchila 2, foi observada marcada rugosidade da mucosa e edema da parede do estômago, dando um aspecto ceribriforme à mucosa. O teste rápido da urease em amostra do estômago revelou positividade após 40 minutos, caracterizado pela mudança da coloração do meio (amarelo pra rosa intenso). Histologicamente, na lâmina própria havia acentuado infiltrado inflamatório de linfócitos, plasmócitos, macrófagos e alguns neutrófilos. Havia marcada perda das células e de glândulas gástricas da região corpo-fúndica (atrofia). Em outras áreas do corpo do estômago as glândulas gástricas estavam acentuadamente dilatadas e tortuosas (displasia). Nas regiões fúndica e antro-pilórica, o epitélio glandular e foveolar estavam substituídos por células caliciformes, preenchidas por material basofílico amorfo, AB-positivo (metaplasia intestinal). Numerosos agregados linfóides foram observados na lamina própria e estruturas WS-positivas, espiraladas ou em formato de vírgula, na superfície da mucosa do estômago. Essas estruturas foram positivas na avaliação por IHQ com anticorpo anti-*Helicobacter pylori*. No fígado havia marcada lipidose, semelhante ao observado na Chinchila 1.

DISCUSSÃO

O presente estudo descreve o primeiro relato de gastrite crônica e adenocarcinoma gástrico em chinchilas e indica associação entre a infecção por *Helicobacter* spp. com o desenvolvimento dessas lesões. A infecção por *H. pylori* é responsável por gastrite e tumores gástricos em humanos (DIXON, 1996). Na Chinchila 2 foi observada marcada atrofia do

epitélio gástrico, inflamação da lâmina própria, metaplasia intestinal e displasia. Achados semelhantes são considerados específicos no diagnóstico de gastrite induzida pela infecção por *H. pylori* em humanos e são definidos como lesões pré-neoplásicas (DIXON, 1996, Warren, 2000).

A reação positiva no teste rápido da urease indica a presença de bactérias do gênero *Helicobacter* e esse é um importante método (> 90% de sensibilidade e 98% de especificidade) de diagnóstico em biópsias gástricas (MIDOLO & MARSHALL, 2000). Na Chinchila 2, a presença da bactéria foi confirmada pelo WS e pela IHQ. Na Chinchila 1 não foram observadas bactérias tanto na histoquímica quanto na IHQ, porém o sequenciamento genético em amostra do estômago comprovou infecção por *Helicobacter* sp. com 99% de homologia com *H. pylori*. Em casos avançados de gastrite crônica ou carcinoma gástrico associados a *H. pylori* em seres humanos, a não-visualização de bactérias ou a observação de um número reduzido delas é comum (DIXON, 1996, WARREN, 2000). Nesses casos, o exame por PCR é utilizado com um método altamente sensível e específico na identificação do agente (WARREN, 2000). A infecção por *H. pylori* nas chinchilas do presente relato pode ter ocorrido pela transmissão de tratadores infectados pela bactéria, como é sugerido em outras espécies animais mantidas em cativeiro (KUSTERS et al., 2006) e não por infecção durante a vida livre.

CONCLUSÕES

A bactéria *Helicobacter* sp. (possivelmente *H. pylori*) está associada a casos naturais de gastrite e câncer gástrico em chinchilas. Estudos complementares estão sendo realizados em nosso laboratório para determinar a prevalência de gastrite em chinchilas e a relação entre a infecção por bactérias do gênero *Helicobacter* com o desenvolvimento de gastrite atrófica e câncer gástrico nessa espécie.

REFERÊNCIAS

- DIXON, M. F.; GENTA, R. M.; YARDLEY, J. H.; CORREA, P. Classification and grading of gastritis: The update Sydney system. **The American Journal of Surgical Pathology**. New York, v. 20, n. 10, p. 1161-1181, 1996.
- KUSTERS, J. G.; VAN VLIET, A. H. M.; KUIPERS, E. J. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. **Clinical Microbiology Reviews**. Washington, v. 19, n. 3, 2006.
- MIDOLO, P.; MARSHALL, B. J. Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori*. Urease tests. **Gastroenterology Clinics of North America**. New York, v. 29, n. 4, p.871-878, 2000.
- WARREN, J. R. Gastric pathology associated with *Helicobacter pylori*. **Gastroenterology Clinics of North America**. New York, v. 29, n. 3, p. 705-751, 2000.
- WATANABE, T.; TADA, M.; NAGAI, H.; SASAKI, S.; NAKAO, M. *Helicobacter pylori* infection induces gastric cancer in mongolian gerbils. **Gastroenterology**, New York, v. 115, n. 3, p. 642-648, 1998.

CARCINOMA PAPILAR OVARIANO EM ONÇA (*PANTHERA ONCA*)
PAPILLARY OVARIAN CARCINOMA IN A PUMA (*PANTHERA ONCA*)

Ana Luiza Sarkis Vieira¹, Antonio Messias Costa², Karine Araújo Damasceno¹, Conrado de Oliveira Gamba¹, Geovanni Dantas Cassali³, Renato de Lima Santos⁴, Tatiane Alves da Paixão⁵

1 – Mestrando, Departamento de Patologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

2 – Médico Veterinário, Fundação Zoobotânica do Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará, Brasil.

3 – Professor Associado, Departamento de Patologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

4 – Professor Associado, Departamento de Cirurgia e Clínica Veterinárias, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

5 – Professora Aadjunta I, Departamento de Patologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. Email: tatipaixao.ufmg@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: neoplasia ovariana, felino, histopatologia, imuno-histoquímica

ABSTRACT

Ovarian neoplasms can be derived from epithelial components of the ovary, germ cells or sex cord gonadal stromal cells. This work describes a case of ovarian carcinoma in a puma (*Panthera onca*). The animal presented weight loss during a month and died. During the necropsy, white abdominal masses were observed and both ovaries were enlarged and with cystic cavities. The liver also presented white masses. Microscopically, the tumor was a tubulopapillary carcinoma affecting the liver and ovaries. Epithelial origin of neoplastic cells was confirmed by immunohistochemistry. Based on those findings the diagnostic was ovarian carcinoma with metastasis for abdominal cavity and liver.

KEYWORDS: Ovarian neoplasia, feline, histopathology, immunohistochemistry.

INTRODUÇÃO

Neoplasias ovarianas são incomuns em animais domésticos, com exceção da cadela, mas já foram descritas em várias espécies como caninos, felinos, equinos, suínos e bovinos (MACLACHLAN & KENNEDY, 2002). Em felinos, estas neoplasias são consideradas raras, mas há alguns relatos em gatas domésticas e felinos selvagens (NORRIS et al., 1969; GELBERT & MCENTEE, 1985; HOPE & DEEM, 2006). A elevada porcentagem de fêmeas

felinas castradas pode ser a causa de poucos relatos sobre essas neoplasias nestes animais (GELBERT & MCENTEE, 1985).

A classificação das neoplasias ovarianas é baseada em aspectos morfológicos e na origem embrionária da célula neoplásica predominante: neoplasias epiteliais, neoplasias originadas dos cordões sexuais, como células da granulosa e teca, e neoplasias das células germinativas (MACLACHLAN & KENNEDY, 2002). A frequência destes tipos de neoplasias em felinos difere entre as espécies, sendo que em gatas domésticas há maior proporção de tumores de células da granulosa (NORRIS et al., 1969), enquanto que nos relatos em onças, a neoplasia mais frequente são aquelas originadas do componente epitelial (HOPE & DEEM, 2006).

O objetivo deste trabalho é relatar um caso de carcinoma papilar ovariano em uma onça, com enfoque em seus aspectos macroscópicos, histopatológicos e imuno-histoquímicos.

DESCRIÇÃO DO CASO

Uma onça preta (*Panthera onca*), fêmea e de 22 anos de idade, proveniente do Parque Zoobotânico do Museu Paraense Emilio Goeldi (Belém, PA), foi submetida a exame clínico na mesma instituição por apresentar perda de peso significativa em um mês. O animal veio a óbito e o exame de necropsia foi realizado logo em seguida.

Amostras de coração, rim, fígado, ovário, baço e peritônio parietal foram coletadas durante a necropsia, fixadas por imersão em formalina a 10% e enviadas para análise histopatológica no Setor de Patologia Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFG). As amostras foram processadas pela técnica de inclusão em parafina, coradas por hematoxilina e eosina. Secções histológicas da neoplasia foram submetidas à técnica de imuno-histoquímica com utilização do sistema de revelação biotina-peroxidase e identificação a partir de anticorpo secundário e revelação polimérica (ADVANCE HRP – ready to use – DakoCytomation). Avaliou-se a expressão de citoqueratina (CK) (clone AE1/AE3, Dako, 1:100). Para o controle negativo substituiu-se o anticorpo primário por soro bloqueio.

À necropsia, observou-se emaciação, hipotrofia muscular acentuada, mucosas oculares discretamente ictéricas e mucosa oral moderadamente pálida. O exame da cavidade torácica revelou mucosa traqueal moderadamente ictérica e pulmões com antracose

moderada. À abertura da cavidade abdominal observou-se hemoperitônio moderado e múltiplos nódulos brancos e macios, medindo entre 0,2 e 1,0 cm de diâmetro, distribuídos pelo peritônio parietal, mesentério, diafragma e serosa do intestino delgado. Estes nódulos também foram evidenciados no parênquima hepático e esplênico. Ambos os ovários apresentaram massas medindo 5,0 x 4,5 e 5,5 x 4,2 cm, caracterizadas por múltiplas estruturas císticas contendo líquido amarelado ou sanguinolento. Além disso, observou-se intussuscepção de um segmento de intestino delgado de aproximadamente 15 cm para o lúmen do segmento adjacente, associado à intensa hemorragia e congestão do intussuscepto. Com base nesses achados foi feito um diagnóstico macroscópico de neoplasia maligna disseminada na cavidade abdominal associada à intussuscepção intestinal.

À análise histológica do tecido ovariano observou-se proliferação neoplásica infiltrativa de células epiteliais dispostas em arranjo predominantemente papilar e, por vezes, com formação de cavidades císticas. As células possuíam núcleos ovalados, hipercromáticos, sendo que em algumas células os núcleos possuíam cromatina frouxa e nucléolos únicos proeminentes. O citoplasma era cuboidal com limites celulares imprecisos. Observou-se discreta a moderada atipia celular e baixo índice mitótico. Proliferações neoplásicas com as mesmas características observadas no ovário foram identificadas no fígado e no peritônio parietal. Entretanto, nestes tecidos a neoplasia apresentava-se com maior pleomorfismo celular e maior índice mitótico. Além da alteração neoplásica observou-se glomerulopatia membranosa moderada. Os fragmentos de baço e coração não apresentaram lesões significativas.

O exame imuno-histoquímico foi realizado a fim de confirmar a histogênese epitelial da neoplasia. A neoplasia foi fortemente positiva para CK AE1/AE3, confirmando sua origem epitelial.

Com base nos achados anátomo-histopatológicos e imuno-histoquímicos foi firmado um diagnóstico de carcinoma papilar ovariano com metástases para múltiplos órgãos abdominais associado à intussuscepção.

DISCUSSÃO

Os principais diferenciais para carcinomas ovarianos são os tumores de células da granulosa pouco diferenciados (RICCARDI et al., 2007) e neoplasias epiteliais metastáticas para o ovário (SCHLAFER & MILLER, 2007). Nestes casos, muitas vezes a morfologia celular é insuficiente para diagnóstico definitivo sendo necessário a realização de imuno-

histoquímica. Contudo, esta técnica e seus critérios para identificação de neoplasias ovarianas em animais domésticos, inclusive felinos, ainda não foram adequadamente determinados (MACLACHLAN & KENNEDY, 2002).

As neoplasias ovarianas são raras em felinos domésticos e selvagens, mas dentre as doenças ovarianas das onças, o carcinoma ovariano tem sido relatado com maior frequência (HOPE & DÊEM, 2006). O progestágeno acetato de melengestrol (MGA), frequentemente utilizado como método contraceptivo em felinos em zoológicos, é relacionado surgimento de lesões no trato reprodutivo dos animais, como os cistoadenocarcinomas ovarianos (MUNSON et al., 2002; HOPE & DÊEM, 2006).

As alterações como icterícia, intussuscepção e hemoperitônio podem estar relacionadas com o comprometimento da cavidade abdominal e do fígado com as metástases da neoplasia ovariana.

CONCLUSÃO

O diagnóstico de carcinoma papilar ovariano foi baseado em achados macroscópicos e histopatológicos e confirma os dados da literatura que indicam que essa é a neoplasia ovariana mais frequente em onças. Este relato ressalta a importância de incluir as neoplasias ovarianas, apesar de raras, no diagnóstico diferencial de onças, principalmente animais idosos e não castrados, com sinais de emaciação e perda de peso.

AGRADECIMENTOS

Apoio FAPEMIG.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GELBERT, H.B.; McENTEE, K. Feline ovarian neoplasms. **Veterinary Pathology**, v.22, p. 572-576, 1985.
- HOPE, K.; DEEM, S.L. Retrospective study of morbidity and mortality of captive jaguars (*Panthera onca*) in North America: 1982-2002. **Zoo Biology**, v. 25, p. 501-512, 2006.
- MACLACHLAN, N.J.; KENNEDY, P.C. Tumors of genital systems. In: MEUTEN, D.J. **Tumors in domestic animals**. 4 ed. Iowa: Iowa State Press, p. 547-573, 2002.
- MUNSON, L.; GARDNER, I.A.; MASON, R.J.; CHASSY, L.M.; SEAL, U.S. Endometrial hyperplasia and mineralization in zoo felids treated with melengestrol acetate contraceptives. **Veterinary Pathology**, v. 39, p. 419-427, 2002.
- NORRIS, H.J.; GARNER, F.M.; TAYLOR, H.B. Pathology of feline ovarian neoplasms. **Journal of Pathology**, v. 97, p. 138-143, 1969.
- RICCARDI, E.; GRECO, V. VERGANTI, S.; FINAZZI, M. Immunohistochemical diagnosis of canine ovarian epithelial and granulosa cell tumors. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 19, p. 431-435, 2007.
- SCHLAFER, D.H.; MILLER, R.B. Female genital system. In: MAXIE, M.G. **Jubb, Kennedy and Palmer's pathology of domestic animals, volume 3**. 5 ed., Saunders Elsevier, p.429-564, 2007.

PIOMETRA EM CUTIAS (*Dasyprocta aguti*) CRIADAS EM CATIVEIRO NO SEMIÁRIDO NORDESTINO

PYOMETRA IN AGOUTIS (*Dasyprocta aguti*) BRED IN CAPTIVITY IN THE SEMIARID NORTHEASTERN

Maxson Cosme Alves de Souza¹, Roberio Gomes Olinda¹, Taciana de Melo Fernandes Silva¹, Alexandre José de Castro¹, Raquel Andrade Dantas¹, José Renato Gurgel Godeiro¹, Francisco Marlon Carneiro Feijó², Jael Soares Batista²

1. Discente do curso de graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), Mossoró, RN. Autor para correspondência: maxson.cas@gmail.com

2. Docente do Departamento de Ciências Animais da UFERSA, Mossoró, RN.

PALAVRAS-CHAVE: Alteração reprodutiva, animais silvestres, necropsia

ABSTRACT

This work aims to describe three cases of pyometra in agouti bred in captivity. For this study included the genital system of three agoutis (*Dasyprocta aguti*), females raised in captivity, who came to death. The autopsy showed the genital system is the presence of pus in the uterus, three agoutis, which was collected for bacteriological and histological analysis. Bacteriological examination was isolated in the presence of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. In histopathology was characterized by inflammatory infiltration of polymorphonuclear cells in the endometrium and myometrium, and presence in the lumen of the uterus of a large number of polymorphonuclear cells, cellular debris and the presence of fibrin lattices. Conclude that the diagnosis of pyometra in agoutis should be considered in animals with a history of permanent acyclic reproductive stage.

KEYWORDS: Reproductive change, wild animals, necropsy

INTRODUÇÃO

Com o aumento do número de criatórios de animais silvestres, tem crescido os estudos abordando aspectos reprodutivos com o objetivo de implantar programas de reprodução, através da seleção de animais férteis para o acasalamento, inseminação artificial e criopreservação (BATISTA et al., 2007).

O diagnóstico de falhas reprodutivas e a identificação dos fatores envolvidos podem ser feito por meio de estudos relacionados ao ambiente (climáticos e instalações), genéticos, de sanidade, de nutrição e de manejo (MADEC & JOSSE, 1984). A avaliação dos órgãos genitais de fêmeas em anestro durante o exame necroscópico é em muitas ocasiões a única forma de se chegar à identificação dos reais motivos que desencadearam os transtornos reprodutivos.

A criação de cutias no semiárido nordestino é viável, pois esses mamíferos vêm demonstrando boa adaptação e satisfatória fertilidade em cativeiro, dada a alta rusticidade e prolificidade. O que pode viabilizar sua exploração econômica e implantação de programas de repovoamento (LANGE & SCHMIDT, 2006).

Especificamente em cutias (*Dasyprocta aguti*), pouco se sabe sobre as enfermidades reprodutivas que acometem a espécie. Com o intuito de contribuir com informações sobre as enfermidades que afetam a reprodução de cutias, foi desenvolvido o presente trabalho que tem a finalidade de descrever três casos de piometra em cutia criadas em cativeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram incluídos neste estudo o sistema genital de três cutias (*Dasyprocta aguti*), fêmeas criadas em cativeiro no Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS), localizado na Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, Rio Grande do Norte.

Utilizou-se a técnica de necropsia preconizada e consagrada pela prática anatomopatológica, com exame externo do animal, seguido da abertura e retirado dos órgãos da cavidade torácica, abdominal e craniana e estudo macroscópico completo. Os sistemas genitais foram removidos das carcaças, dissecados e avaliados de acordo com metodologia descrita por BATISTA et al. (2007). Os sistemas genitais que apresentaram algum tipo de alteração macroscópica foram fotografados, sendo posteriormente coletadas amostras de aproximadamente 1,5cm, as quais foram fixadas em formol tamponado a 10% e em seguida conservadas em álcool a 70%. Os tecidos foram incluídos em parafina, cortados à espessura de 5 micrômetros, corados pela Hematoxilina e Eosina e observados em microscopia óptica (PROPHET, 1992).

Nos órgãos que apresentaram evidências de inflamação de origem infecciosa, tais como presença de exsudatos, foram colhidas amostras do conteúdo através de “swabs” para a

realização do isolamento e identificação do agente etiológico, segundo metodologia descrita por OLINDA et al. (2010).

RESULTADOS

A piometra foi observada em duas cutias (animais n. 1 e n. 2) encontradas mortas no recinto durante inspeção diária. Constatou-se nas fichas de identificação dos animais que os mesmo apresentavam-se sem parições por um período superior a um ano. A outra cutia (animal n. 3), após o parto não houve expulsão da placenta por um período superior a 24 horas. O referido animal apresentou quadro clínico de apatia, anorexia e perda de peso. Foi estabelecido o tratamento com antibioticoterapia por cinco dias, mas o animal não respondeu ao tratamento e veio a óbito cerca de dez dias após o parto.

Durante o exame externo observou-se em todas as cutias mucosa oral e conjuntival hipocoradas, além de distensão abdominal. No exame interno, observaram-se cornos e corpo uterino distendido, com presença em seu interior de exsudato purulento viscoso de coloração branco-amarelado, além da mucosa do útero ter apresentado aspecto hiperêmica e espessada.

No exame histológico realizado em fragmentos coletados do útero observou-se infiltrado inflamatório de células polimorfonucleares no endométrio e miométrio, além de presença no lúmen do útero de grande quantidade de células polimorfonucleares, detritos celulares e presença de retículos de fibrina. Na cutia n. 1, observou-se ainda moderada hiperplasia da epitelial glandular uterino.

Na análise microbiológica do conteúdo uterino purulento, foi realizado o isolamento em cultura e a identificação morfológica e bioquímica, das espécimes *Escherichia coli* (cutia n. 1 e n. 2) e *Staphylococcus aureus* (cutia n. 3).

DISCUSSÃO

As enfermidades do sistema genital de animais silvestres podem, de maneira variável, comprometer temporária ou permanentemente a fertilidade, com conseqüente diminuição da eficiência reprodutiva do plantel (BATISTA et al., 2007). Piometra é uma doença uterina de grande morbidade e mortalidade em animais domésticos (NASCIMENTO & SANTOS, 2003). Porém há escassez de relatos em animais silvestres, não tendo sido encontrado relatos de piometra em cutias.

Os animais avaliados no presente estudo não apresentavam nenhum tipo de secreções vaginal, sendo dessa forma a piometra classificada como fechada. A piometra fechada apresenta prognóstico ruim uma vez que frequentemente resulta em septicemia, pois acumula grande quantidade de pus dentro da luz uterina com manifestações associada à liberação de toxinas bacterianas e sepse, determinando uma série de alterações sistêmicas, resultando quase sempre na morte do animal (OLIVEIRA et al., 2008).

Provavelmente a piometra da cutia n. 3 ocorreu como consequência de sequelas da retenção placentária e infecção do útero. A presença de *E. coli* isolada do exsudato purulento intra-uterino nas cutias n. 1 e 2 está de acordo com dados de literatura que relatam que essa bactéria é o microrganismo mais comumente isolado de animais doméstico com piometra. *E. coli* é uma bactéria normal da microbiota vaginal (COGGAN et al., 2004; SILVA et al., 2004; HAGMAN & GRECO, 2005). *Staphylococcus aureus* é outro microrganismo descrito na literatura frequentemente associado a infecções uterinas (FOSSUM, 2008) o qual foi também observado na cutia n. 3.

CONCLUSÃO

O presente caso sugere que o diagnóstico de piometra em cutias deverá ser considerado em animais que apresente histórico de permanente estágio de aciclia reprodutiva.

REFERÊNCIAS

- BATISTA, J.S.; OLIVEIRA, A.F.; BARRETO, M.P.V. Patologias do sistema genital feminino de catetos (*Tayassu tajacu*) criados em cativeiro. **Revista Caatinga**, v.2, p.133-136, 2007.
- FOSSUM, T. W. **Cirurgia de Pequenos Animais**, 3ªed., Rio de Janeiro: Mosby Elsevier, p.737-743, 2008.
- MADEC, F.; JOSSE, J. Utilization des methodes d'analyse des donnes pour l'etude de maladies d'elevage application du porc. **Epid. Sante Anim**, v.6, p.35-63, 1984.
- NASCIMENTO, E.F.; SANTOS, R.L. **Patologia da reprodução dos animais domésticos**. 2.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p.48-69, 2003.
- Lange, R.R.; Schmidt, E.M.S.. Rodentia: roedores silvestres. In: Cubas, Z.S.; Silva J.C.R.; Catão-Dias, J.L. (Eds), **Tratado de Animais Selvagens: medicina veterinária**. Editora Roca, p.475-491, 2006.
- OLINDA, R.G.; FEIJÓ, F.M.C.; ALVES, N.D.; AMORIM, R.N.L.; ALVES, H.M.; ALVES, H.M.; BATISTA, J.S.; OLIVEIRA, M.F. Otite bacteriana em cateto (*Tayassu tajacu* Linnaeus, 1758) criado em cativeiro. **Acta Veterinária Brasília**, v.4, p.113-117, 2010.
- OLIVEIRA, P.C.; LOPES, M.D.; THOMÉ, H.E.; BALIEIRO, J.C.C. Avaliação citológica, histológica e hormonal de cadelas normais e com complexo hiperplasia endometrial cística/piometra. **Vet e Zootec**, v.15, n.1, p.150-159, 2008.
- PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B; SOBIN, L.H. **Laboratory Methods in Histotechnology**. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC. 279p, 1992.

**MENINGOENCEFALITE POR *Listeria monocytogenes* EM UM CERVO DAMA
(*Dama dama*) DE CATIVEIRO**

MENINGOENCEPHALITIS BY *Listeria monocytogenes* IN A FALLOW DEER (*Dama dama*) OF CAPTIVITY

Fabiana Marques Boabaid¹, Djeison Lutier Raymundo², Luciana Sonne³, Tatiane Terumi Negrão Watanabe¹, Nadia Aline Bobbi Antoniassi¹, Elisandro Oliveira dos Santos⁴, Flademir Wouters¹, David Driemeier⁵

1. Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (FAVET-UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

2. Professor, Faculdade de Veterinária, Universidade de Cuiabá, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.

3. Professora, Faculdade de Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

4. Veterinário autônomo, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

5. Professor, FAVET-UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. E-mail: davetpat@ufrgs.br

PALAVRAS-CHAVE: animais silvestres, imuno-histoquímica, listeriose, neuropatologia.

ABSTRACT

Listeriosis is a disease caused by *Listeria sp* that is characterized by abortion, septicaemia or encephalitis. Meningoencephalitis with micro-abscesses are observed mainly in the brainstem. A neurological disease, caused by *Listeria monocytogenes*, is described in one Fallow Deer (*Dama dama*) bred in captivity in Rio Grande do Sul state, southern Brazil. Clinical signs, such as, depression, walk in circles, incoordination, recumbency and death were shown. Necropsy exam was performed and leptomeninges were congested. The main histological findings were marked multifocal meningoencephalitis mononuclear to suppurative, infiltration by Gitter cells and micro-abscesses formation. Gram-positive bacteria were observed by Brow-Hopps special stain and immunohistochemistry (IHC) anti*Listeria monocytogenes* has a strong positive marker. The diagnostic was based on clinical signs, pathological findings and confirmed by IHC. According to these results, this disease is an important differential diagnosis to wild ruminant.

KEYWORDS: immunohistochemistry, listeriosis, neuropathology, wild animals.

INTRODUÇÃO

Listeriose é uma enfermidade ocasionada por bactérias Gram-positivas do gênero *Listeria*, que pode apresentar três síndromes clínicas: abortamento, quadros de septicemia com formação de abscesso em diversos órgãos ou doença neurológica (MAXIE & YOUSSEF, 2007). Das espécies conhecidas *Listeria monocytogenes* é considerada a mais patogênica e afeta diversas espécies de animais e inclusive o homem. As espécies *Listeria ivanovii* e *Listeria innocua*, em ruminantes, estão ocasionalmente associadas a aborto e

encefalite, respectivamente (SCHILD, 2007; BRUGÈRE-PICOUX, 2008). A forma neurológica da listeriose é caracterizada por meningoencefalite e pela formação de microabscessos no tronco encefálico (RISSI et al., 2010). *L. monocytogenes* é uma bactéria intracelular facultativa que possui afinidade pelo sistema nervoso central, acredita-se que a doença encefálica decorra da penetração do agente através de erosões na mucosa oral ou por infecção das cavidades dentárias chegando ao tronco encefálico, por via neurógena, pelos nervos trigêmeo e facial (BARROS, 2006). Este trabalho tem como objetivo relatar os achados clínico-patológicos e imuno-histoquímicos de listeriose neurológica em um cervo dama (*Dama dama*) criado em cativeiro no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

DESCRIÇÃO DO CASO

O cervídeo era mantido em cativeiro em um zoológico no município de Gravataí, Rio Grande do Sul, em pastagem nativa e recebia cana-de-açúcar, que era triturada no momento do fornecimento. No mesmo recinto dos cervos dama havia outras espécies de mamíferos e aves silvestres. O histórico clínico foi obtido junto ao veterinário responsável pelo zoológico e o cervo foi necropsiado pela equipe do Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande Sul (SPV-UFRGS) no mês de outubro de 2009. Fragmentos de diversos órgãos foram coletados em solução de formalina a 10%. Do encéfalo foram selecionados os seguintes cortes: bulbo na região do óbex, cerebelo, ponte na altura dos pedúnculos cerebelares, mesencéfalo na altura dos colículos rostrais, lobo telencefálico occipital, córtex parietal com o hipocampo e tálamo subjacentes e lobo telencefálico frontal. Posteriormente, as amostras foram processadas por técnicas histológicas rotineiras e coradas por hematoxilina e eosina (HE) e as secções de encéfalo submetidas à coloração especial de Brown-Hopps (PROPHET, 1992). Para realização da técnica de imuno-histoquímica cortes de tecidos encefálicos foram preparados em lâminas de Poli-L-lisina 10%. As lâminas foram submetidas à inibição da peroxidase endógena com metanol e peróxido de hidrogênio a 10%, em seguida foram imersas em leite desnatado por 30 minutos e incubadas com anticorpo primário policlonal anti-antígeno celular de *Listeria monocytogenes* (BD[®]) na diluição de 1:1000 a temperatura de 4°C *overnight*. A imuno-histoquímica foi realizada pela técnica de estreptavidina-biotina ligada a peroxidase (Dako[®]) e na revelação utilizou-se como cromógeno o DAB (Dako[®]).

RESULTADOS

Segundo o veterinário o cervo iniciou um quadro de depressão, mantendo-se longe dos demais cervídeos do recinto, em seguida apresentou andar em círculos, incoordenação,

dificuldades de manter-se em estação e úlcera de córnea no olho esquerdo, sendo realizado flap de terceira pálpebra. Após cinco dias os sinais progrediram para decúbito lateral e morte. Durante a necropsia foram observadas mucosas oral e conjuntivais pálidas e após remoção da sutura do olho esquerdo, opacidade e ulceração da córnea. A única alteração observada no encéfalo foi congestão difusa dos vasos sanguíneos das leptomeninges. No jejuno, o conteúdo intestinal estava liquefeito, avermelhado e com coágulos sanguíneos, e a mucosa desta região estava difusamente avermelhada, enquanto que no intestino grosso as fezes estavam enegrecidas. No abomaso também foram visualizadas petéquias, equimoses e ulcerações multifocais, de aproximadamente 2 cm de diâmetro, na mucosa. Na histologia do encéfalo foram observados focos extensos de malácia unilaterais e infiltrado de células *Gitter*, com formação de esferoides axonais, trombose e manguitos perivasculares, predominantemente linfoplasmocitários, na região do óbex e da ponte. Nas regiões do hipotálamo e mesencéfalo foram observadas áreas extensas de malácia com infiltrado inflamatório purulento abundante, por vezes formando microabscessos, gliose e manguitos perivasculares mistos abundantes com exsudação de fibrina, endotélio reativo e trombos. Em todos os cortes encefálicos foi observada congestão difusa com trombos ocasionais e corpúsculos de choque. No gânglio trigeminal havia ganglioneurite não supurativa multifocal moderada e trombose difusa acentuada na *rete mirabile*. No olho esquerdo havia necrose da camada superficial da córnea com infiltrado inflamatório supurativo discreto associado. No intestino delgado foi observada hemorragia multifocal moderada e congestão difusa com exsudação de fibrina e trombos em vasos da submucosa, enquanto que no intestino grosso havia sangue digerido na luz e sobre a mucosa. O abomaso apresentava áreas de necrose da lâmina própria com focos de hemorragia e degeneração fibrinoide da parede de vasos da submucosa adjacente. Observou-se ainda hemossiderose difusa acentuada no baço e nos linfonodos mesentéricos.

Na coloração de Brow-Hopps evidenciou-se bactérias Gram-positivas na forma de bastonetes associada às áreas de lesão no encéfalo. Quando submetidas ao teste de imunohistoquímica anti-*Listeria monocytogenes* essas áreas apresentaram marcação positiva, principalmente nos focos de encefalite purulenta.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de listeriose foi estabelecido com base nos achados histológicos semelhante aos descritos em outras espécies de ruminantes (SCHILD, 2007; BRUGÈRE-PICOUX, 2008; RISSI et al., 2006; RISSI et al., 2010) e na marcação positiva para imunohistoquímica anti-*Listeria monocytogenes*. Nesse caso a doença neurológica ocorreu de forma

isolada, porém *Listeria monocytogenes* também é descrita ocasionando surtos em ruminantes domésticos e selvagens (BARROS, 2006; ANDRADE NETO, 2007). Em um surto de mortalidade em cervos dama *Listeria monocytogenes* foi isolada do solo e fezes de animais saudáveis sendo considerada uma possível fonte de infecção (ANDRADE NETO, 2007).

Esse caso ocorreu durante a primavera e os cervídeos não recebiam silagem, semelhante ao descrito em surtos em ruminantes domésticos no Brasil (SCHILD, 2007; RISSI et al. 2010), em que a forma neurológica da listeriose ocorre durante os períodos mais quentes do ano e sem envolvimento de silagem contaminada, divergindo do que é relatado em outros países em que a enfermidade ocorre com maior frequência no inverno e associada a contaminação de silagem (BRUGÈRE-PICOUX, 2008).

A técnica de imuno-histoquímica tem demonstrado ser efetiva no diagnóstico da *Listeria monocytogenes* com maior sensibilidade que a coloração de Gram e o isolamento bacteriológico (RISSI et al., 2006). Nesse caso o material não foi remetido para isolamento bacteriológico e a imuno-histoquímica foi um método efetivo para diagnóstico em tecidos fixados em parafina.

CONCLUSÃO

A listeriose deve ser considerada no diagnóstico de enfermidades que causam sinais clínicos neurológicos em ruminantes silvestres. A técnica de imuno-histoquímica é uma alternativa para o diagnóstico dessa enfermidade.

AGRADECIMENTOS

Aos demais membros da equipe do SPV-UFRGS pelo apoio técnico. A Capes e ao CNPq pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE NETO, J. P. Neurologia. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens**. 1. ed. São Paulo: Rocca, cap. 66, p. 1118. 2007.
- BARROS, C. S. L.; DRIEMEIER, D.; DUTRA, I. S.; LEMOS R. A. A. **Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil**. São Paulo: Vallée, p.67-70. 2006.
- BRUGÈRE-PICOUX, J. Ovine listeriosis. **Small Ruminant Research**. v. 76, p. 12-20. 2008.
- MAXIE, M. G.; YOUSSEF, S. Nervous system. In: MAXIE, M.G. (ed) **Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of domestic animals**. 5.ed. Edinburgh: Elsevier,. v. 2, cap. 3, p. 405-408. 2007.
- PROPHET E.B., MILLS, B., ARRINGTON J.B. & SOBIN L.H. **Laboratory Methods in Histotechnology**. 1st ed. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C. 279p. 1992.
- RISSI, R. D.; RECH, R. R.; BARROS, R. R.; KOMMERS, G. D.; LANGOHR, I. M.; PIEREZAN, F.; BARROS, C. S. L. Forma nervosa de listeriose em caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.26, n. 1, p. 14-20, 2006.
- RISSI, R. D.; KOMMERS, G. D.; MARCOLONGO-PEREIRA, C.; SCHILD, A. L.; BARROS, C. S. L. Meningoencefalite por *Listeria monocytogenes* em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.30, n. 1, p. 51-56, 2010.
- SCHILD, A. L. Listeriose. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. **Doenças dos ruminantes e eqüinos**. 3.ed. Santa Maria: Palloti, p.352-357. 2007.

LEIOMIOMA UTERINO EM UM BABUÍNO – RELATO DE CASO

UTERINE LEIOMYOMA IN A BABOON- CASE REPORT

Janete Madalena da Silva¹, Maria Cecília Rui Luvizotto², Maria Emília Bodini Santiago³, Hugo Enrique Orsini Beserra¹, Milla Bezerra Paiva⁴, Gabriela Mayumi Gouveia⁴

1. Médico(a) Veterinário(a) Residente do Hospital Veterinário “Luiz Quintiliano de Oliveira” da UNESP- Araçatuba, SP- Brasil. E-mail: janifelixmedvet@hotmail.com
2. Professora Doutora do Serviço de Patologia Veterinária. Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal (DCCRA) da UNESP- Araçatuba, SP- Brasil.
3. Médica Veterinária do Parque Zoológico Municipal de Bauru, SP- Brasil.
4. Pós-graduanda em Ciência Animal da UNESP- Araçatuba, SP- Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: neoplasia, primatas, útero, histopatologia.

ABSTRACT

Leiomyomas appears from the smooth muscle in the wall of the uterus, cervix or vagina, and its features of malignancy cannot be easily observed. In general, the ultrasonography and the radiography only confirm the presence of an abdominal mass, but it is necessary an histologic examination of surgically excised specimens for a definitive diagnosis. This case reports an uterine leiomyoma in a baboon, taking into account the absence of reports of leiomyoma on this species.

KEYWORDS: neoplasm, primates, uterus, histopathology.

INTRODUÇÃO

O leiomioma é uma neoplasia benigna, de crescimento lento, porém expansivo, sem apresentar caráter invasivo e metastático referido em animais domésticos (MORRIS & DOBSON, 2001). Pode acometer o útero, cérvix ou vagina, associado ou não a hiperplasia endometrial, cistos foliculares ovarianos, como também neoplasia mamária (MORRIS & DOBSON, 2001, KLEIN, 2007). Em humanos o leiomioma uterino é freqüente e está relacionado aos receptores de estrógeno e progesterona, mesmo sendo benigno pode ocasionar metástase (KANG et al., 2011). Esta neoplasia raramente está associada a sinais clínicos, porém ocasionalmente pode ser observada massa abdominal palpável e descarga vaginal ou piometra (KLEIN, 2007). São escassas as descrições de neoplasia uterina em primatas, porém,

no Brasil, há o relato de hemangiossarcoma primário intrauterino em macaco-aranha-de-cara-vermelha (*Ateles paniscus*) por Casagrande *et al.* (2009). Descrições de leiomioma em macaco-aranha, macaco-rhesus e em chimpanzé são citados em achados necroscópicos (SEIBOLD & WOLF, 1973). O objetivo do presente relato é descrever um caso de leiomioma em um *Papio papio* (babuíno), pois são escassos os dados na literatura a cerca de neoplasia uterina em primatas.

DESCRIÇÃO DO CASO

Foi encaminhada ao Serviço de Patologia Veterinária da UNESP-Araçatuba uma massa esbranquiçada, redonda, bem delimitada, firme, proveniente de excisão cirúrgica do útero de uma babuíno, fêmea, adulta do Parque Zoológico Municipal de Bauru. Durante o exame clínico de rotina foi constatada uma massa palpável na região ventral inferior do abdômen, revelando acometimento do útero e espessamento do endométrio no exame ultrassonográfico. Foram realizadas as análises macro e microscópicas da neoformação uterina, utilizando a coloração de Hematoxilina e Eosina, PAS e Tricrômio de Masson.

RESULTADOS

O exame histopatológico corado pela Hematoxilina e Eosina (HE) revelou hiperplasia endometrial difusa, acompanhada de formações císticas que invadiam o miométrio. O miométrio exibiu proliferação de miócitos comprometendo toda a extensão a extensão miometrial. Os miócitos encontravam-se dispostos em feixes densos e em sentidos aleatórios, margeados por septos de tecido conjuntivo delicado. As células musculares apresentaram-se fusiformes, citoplasma eosinofílico, núcleo alongado a oval com cromatina granular delicada e nucléolo proeminente. A coloração de Masson evidenciou os feixes musculares corados em vermelho, contrastando com o delicado tecido conjuntivo intersticial. Na reação ao PAS as glândulas endometriais mostraram positividade, evidenciando a produção de mucopolissacarídeos.

DISCUSSÃO

Os leiomiomas raramente estão associados a sinais clínicos, tornando-se achado de necropsia ou são diagnosticados durante procedimento cirúrgico (KLEIN, 2007). Tal fato corrobora com o presente caso, onde a neoplasia foi constatada por meio de exame de rotina,

sem sinais clínicos aparentes. Em relação à idade, a ocorrência dos leiomiomas uterinos nos animais é compatível com a literatura humana, onde a neoplasia acomete mulheres acima de 30 anos (GOMES et al., 2006; KLEIN, 2007; MAC LACHLAN & KENNEDY, 2002); porém, na literatura não há relação da frequência da neoplasia entre as espécies. À análise microscópica, a neoplasia se caracterizava por feixes de músculo liso com estroma abundante, septados por tecido conjuntivo delicado (KENNEDY & MILLER, 1993), identificado mais precisamente nos cortes corados pelo Tricrômico de Masson. A utilização do PAS foi útil para evidenciar o endométrio hiperplásico secretório, muitas vezes infiltrando o miométrio. No presente caso, foi realizada a ovariectomia, descrita pela literatura como tratamento eficaz devido o comportamento benigno do tumor (KEMPER et al., 2007; KLEIN, 2007).

CONCLUSÃO

A ausência de sinais clínicos ou ainda a detecção de massa palpável em região abdominal podem sugerir neoplasia, particularmente em animais de zoológico que são inspecionados periodicamente. O diagnóstico, no presente caso incluiu o exame macroscópico e o histopatológico, sendo ambos fundamentais para a obtenção do diagnóstico definitivo.

REFERÊNCIAS

- CASAGRANDE, R.A.; TORRES, L.N.; GOMES, M.S.; QUAGGLIA NETO, F.; KANAMURA, C.; KISHIMOTO, L.; MATUSHIMA, E.R. Hemangiossarcoma primário intrauterino em um macaco aranha de caramelha (*Ateles paniscus*). **Acta Scientiae Veterinariae**, v.37, n.1, p. 59-63. 2009.
- GOMES, M.T.V.; CASTRO, R.A.; VILLANOVA, F.E.; SILVA, I.D.C.G.; BARACAT, E.C.; LIMA, G.R.; GIRÃO, M.J.B.C. Relação entre polimorfismo do gene do receptor de progesterona, raça, paridade e ocorrência de leiomioma uterino. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, v.28, n.5, p. 278-284. 2006.
- KANG, M.W.; KANG, S.K.; YU, J.H.; LIM, S.P.; SUH, K.S.; AHN, J.S.; NA, M.H. Benign metastasizing leiomyoma: metastasis to rib and vertebra. **Ann. Thorac. Surg.** v. 91, n. 3, p. 924-926. 2011.
- KLEIN, M.K. Tumors of the female reproductive system. In: WITHROW, S.S.; VAIL, D.M. **Small animal clinical oncology**. 4.ed. Saint Louis: Saunders Elsevier. 2007. p. 613-614.
- KEMPER, B.; MARTINS, M.I.M.; REIS, A.C.F.; ZANATA, A. Leiomioma uterino extra abdominal em cadela. **Ciênc. Vet. Tróp.**, v. 10, n. 1, p. 42 - 45 .2007.
- KENNEDY, P.C., MILLER, R.B. The female genital system. In: In: JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. **Pathology of domestic animals**. San Diego: Academic Press, 1993. p. 451.
- MAC LACHLAN, N.J.; KENNEDY, P.C. Tumors of the genital Systems. In: MEUTEN, D.J. **Tumors in domestic animals**. 4.ed. Iowa: Iowa State Press, 2002. p. 588-589.
- MORRIS, J.; DOBSON, J. **Small animal oncology**. Oxford: Blackwell Science, 2001. p. 169-171.
- SEIBOLD, H.R.; WOLF, R.H. Neoplasms and proliferative lesions in 1065 nonhuman primate necropsies. **Laboratory Animal Science**. v. 23, p. 533-539, 1973.

ESTOMATITE FÚNGICA EM JIBÓIAS (*Boa constrictor*) – RELATO DE CASO.

FUNGAL STOMATITIS IN BOAS (*Boa constrictor*) - CASE REPORT

Marina Mendonça de Miranda¹, Janaína Barisson¹, Daniilo Rezende Silva², Yandra Cássia
Lobato do Prado³, Luciana Batalha de Miranda Araújo⁴, Eugênio Gonçalves de Araújo⁴

1. Médica Veterinária autônoma.

2. Graduando em Medicina Veterinária, EVZ-UFG, Goiânia, GO, Brasil. Email: drs-patovet@hotmail.com

3. Pós doutoranda em Ciência Animal, EVZ-UFG, Goiânia, GO, Brasil.

4. Professor Adjunto, EVZ-UFG, Goiânia, GO, Brasil.

5. Professor Associado, EVZ-UFG, Goiânia, GO, Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: ofídios, fungo, afecção cavidade oral

ABSTRACT

Fungal stomatitis in snakes is usually secondary to bacterial disease and is related to stress, trauma and inadequate environment. In both cases reported, snakes were free-living, run over on highways and sent to CETAS / GO for treatment and placement. Neither responded to treatment and died. Autopsy Gross abnormalities were observed in the oral cavity, trachea, lungs and air sacs. Microscopic fragments of liver and lung granulomas were observed, as well as silver-impregnated structures suggestive of filamentous hyphae, featuring a systemic granulomatous disease of fungal origin.

KEYWORDS: snakes, fungus, oral cavity disease.

INTRODUÇÃO

A estomatite infecciosa ou “mouth rot” é uma alteração observada com certa frequência em répteis, predominantemente serpentes, geralmente provocada por agentes bacterianos destacando-se *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophilia*, *Proteus* e *Klebsiella*. Estes agentes são isoladas juntamente a cocos gram positivos ou negativos residentes de flora normal de animais sadios (KOLESNIKOVAS et al.; 2007). Segundo PACHALY (2007), as principais causas da ocorrência da estomatite infecciosa são deficiência de vitaminas A e C, íon Ca^{2+} e proteínas, estresse crônico, traumatismo, endoparasitas e ambiente inadequado. Dentre os sinais clínicos mais comuns incluem-se sialorréia, paralisia da língua, gengivas inflamadas, inapetência, petéquias, eritemas ou ulceração da mucosa oral (AGUILAR et. al.2007).

Serpentes que apresentam quadro clínico avançado com letargia e anorexia necessitam de internação em ambiente termoestável e alimentação forçada (PACHALY, 2007; JEPSON, 2010). O tratamento varia de acordo com a causa primária e evolução do quadro clínico

(CARPENTER, 2010). O prognóstico da estomatite infecciosa depende da severidade das lesões, resposta imune humoral e celular do hospedeiro, virulência do microorganismo e sua resposta ao fármaco antimicrobiano utilizado (FRYE, 2007). É considerado favorável quando o animal ainda está comendo e ativo, os sinais são observados no início da doença e não são detectadas outras doenças em evolução conjunta. Em contrapartida, o prognóstico é de reservado a desfavorável quando os animais estão anoréxicos, fracos, depressivos e os sinais clínicos estão em fase avançada (BIRCHARD, 2003).

Este trabalho tem por objetivo relatar a ocorrência de estomatite em dois exemplares de jibóia e descrever os achados clínicos e anatomopatológicos que podem ser utilizados no diagnóstico desta enfermidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dois exemplares de jibóia (uma *Boa constrictor constrictor* e uma *B. constrictor amarali*) chegaram ao Centro de Triagem de Animais Silvestres de Goiânia (CETAS GO), mantido pelo IBAMA, com histórico de atropelamento. Após contenção física, os animais foram avaliados clinicamente e os dados anotados em fichas individuais. O exemplar de *B. constrictor constrictor* apresentava escore corporal bom, desidratação, mucosa oral hiperêmica, petéquias, sialorréia com secreção muco-purulenta, membrana diftérica de coloração esbranquiçada e aumento bilateral do volume da face. O exemplar de *B. constrictor amarali* apresentava escore corporal ruim, desidratação, laceração e ruptura do músculo masseter com exposição óssea na face direita. Nos dois casos não foi realizado nenhum exame complementar, sendo a suspeita clínica de estomatite traumática baseada no histórico e exame clínico.

Os animais foram mantidos em ambiente aquecido e tratados com curativos locais e resolução das lesões de continuidade conforme a necessidade. O exemplar de *B. constrictor amarali* foi submetido a miorráfia e dermorrafia, sendo os tratamentos tópicos posteriores similares aos aplicados ao exemplar de *B. constrictor constrictor*. Estes consistiam em limpeza do local afetado com água oxigenada 3%, iodopovidona 1%, clorexidina 0,5% OU Furanyl® (de acordo com a disponibilidade) e aplicação de gentamicina 4% tópica. O tratamento sistêmico consistiu em administração IM de gentamicina 4% (2,5 mg / Kg / 72 h / 7 dias) no exemplar de *B. constrictor constrictor* e enrofloxacina 10% (10 mg / Kg / 48 h / 7 dias) no exemplar de *B. constrictor amarali*, ambos associados à fluidoterapia via cloacal com Ringer Lactato aquecido (20 mL / Kg / 72 h / após aplicação do fármaco e por mais 4 dias após o término do mesmo). Os dois animais obtiveram piora do quadro clínico ao término do tratamento, tendo o exemplar de *B. constrictor constrictor* desenvolvido pneumonia e o de

B. constrictor amarali passou a apresentar secreção muco-purulenta e petéquias. Nova terapia foi instituída nos dois animais, tendo a primeira recebido nebulização com gentamicina (1 mL de gentamicina + 9 mL de solução fisiológica) e própolis (duas gotas, uma vez ao dia, durante 30 minutos) e a segunda a aplicação de trancinolona acetona pomada diariamente no local após a limpeza descrita na primeira fase do tratamento. Por causa da disfagia, as duas serpentes foram submetidas à alimentação forçada, via sonda, com camundongos (*Mus musculus*) macerados, uma vez por semana. Os tratamentos mostraram-se ineficientes e, nos dois casos, os animais vieram a óbito e foram submetidos a exames necroscópicos, onde foram obtidos fragmentos de pulmão, fígado, rim, e pâncreas. Estes fragmentos foram fixados em formol tamponado a 10%, processados em parafina e cortados com 5 µm de espessura para posterior coloração com hematoxilina e eosina. Fragmentos selecionados foram submetidos à impregnação pela prata para identificar hifas fúngicas, segundo a técnica de Grocott (LUNA, 1968).

RESULTADOS

Ao exame necroscópico, ambos os exemplares apresentavam lesões macroscópicas importantes em diferentes partes do organismo, demonstrando a ampliação do quadro clínico inicial. A observação da cavidade oral demonstrou hiperemia de mucosa, presença de membrana diftérica de coloração esbranquiçada e placas caseosas. A traquéia apresentava secreção amarelada e translúcida, os pulmões coloração escurecida, sacos aéreos com exsudato e lesões puntiformes amareladas e friáveis.

No exame microscópico dos fragmentos de fígado e pulmão foram visualizadas múltiplas formações delimitadas com centro amorfo e eosinofílico, deposição de tecido conjuntivo de forma circular e infiltração de macrófagos epitelióides na periferia, caracterizando granulomas múltiplos. Na histoquímica de Grocott foram visualizadas estruturas fúngicas ao centro dos granulomas. Os achados macroscópicos e microscópicos determinam um quadro de doença granulomatosa sistêmica de origem fúngica.

DISCUSSÃO

Apesar de menos freqüente, a estomatite fúngica está geralmente associada a deficiências imunológicas, estresse, desnutrição e condições precárias de higiene (CUBAS, 2001). Os animais levados ao CETAS chegaram debilitados devido ao atropelamento, e esta debilidade associada ao cativeiro e manipulação freqüente para tratamento das lesões pode ter provocado uma queda acentuada dos mecanismos de defesa dos mesmos. Apesar de geralmente ser secundária à infecção bacteriana, a infecção fúngica apresenta potencial de disseminação sendo geralmente isolados agentes pertencentes à flora sistêmica do animal

(FRYE, 1981). O prognóstico da estomatite depende do estágio de evolução da doença, se há acometimento local ou sistêmico e o agente envolvido na afecção. Nos dois casos relatados os animais evoluíram de lesões locais a sistêmicas sem resposta ao tratamento antibiótico instituído e tal fato levou a procura de indícios de contaminação por agentes fúngicos em avaliação histopatológica, confirmado pela observação de estruturas filamentosas com morfologia sugestiva de hifas após impregnação pela prata em histoquímica de Grocott. Em trabalho realizado com serpentes, SERAPICOS et al. (2005) encontraram que alterações pulmonares foram observadas na maioria dos animais que apresentaram lesões no tegumento, podendo estar relacionado com um quadro de septicemia. Outros autores descrevem que pneumonia heterofílica leve pode ser decorrente de uma estomatite ou da proliferação de bactérias oportunistas nesse grupo de animais (HERRON, 1972; FIRMIN, 1976; FRYE, 1981; ZWART, 1986; STOAKES, 1992).

CONCLUSÃO

As alterações macro e microscópicas encontradas em dois exemplares de jibóia são sugestivos da ocorrência de estomatite associada à pneumonia e hepatite granulomatosas, possivelmente de origem fúngica.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR, R.; DIVERS, S. M. H.; DIVERS, S. J. H.; **Atlas de Medicina, Terapêutica e Patologia de Animais Exóticos**. São Paulo: Interbook, 2007, p. 119 – 211.
- BIRCHARD, S.J.; SHERDING, R.G. Manual Saunders. **Clínica de pequenos animais**. 2º ed. São Paulo: Roca, 2003, p. 1694–1726.
- FRYE, F. L. Doenças Infeciosas- Doenças Fúngicas, por Actinomicetos, Bacterianas, Ricktsiais e Virais. In: VILANI, R. G. D. (ed.). Grupo Fowler – **Avanço na Medicina de Animais Selvagens – Medicina de Répteis**. Curitiba: Fotolaser, 2007, p. 89–155.
- JEPSON, L. Clínica de animais exóticos. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010, p. 315-357.
- KOLESNIKOVAS, C. K. M.; GREGO, K. F.; ALBUQUERQUE, L. C. R. Ordem Squamata – Subordem Ophidia (Serpente). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO – DIAS, J. L. (eds.). **Tratado de Animais Selvagens – Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca, 2007, p. 68–85.
- LUNA, L. G. **Manual of histological staining methods of the armed forces institute of pathology**, 3 ed. New York: McGraw-Hill, 1968. 258p.
- PACHALY, J. R. Odontoestomatologia. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO – DIAS, J. L. (eds.). **Tratado de Animais Selvagens – Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca, 2007, p. 1068–1091.
- HERRON, M.R. Diseases of snakes. Part 1: Common problems of the captive specimen. **Southwestern Veterinarian**, v. 25, n.3, p. 205-208, 1972.
- FIRMIN, Y. Quelques aspects de la pathologie des serpents. **Recueil Medecine Vétérinaire**, v.152, p.721-727. 1976,
- FRYE, F.L. Biomedical and surgical aspects of captive reptile husbandry. **Veterinary Medicine Publishing Company**, 1981.
- ZWART, P. Infections Diseases of Reptiles. In: Fowler, M.E., **Zoo & Wild Animal Medicine**. W. B. Saunders Company, 1986, p. 155-162.
- SERAPICOS, E.O.; CASAGRANDE, R.A.; MATUSHIMA, E.R. & MERUSSE, J.L.B. Alterações macro e microscópicas observadas em serpentes *Micrurus corallinus* mantidas em biotério Reptilia –Ophidia –Elapidae). **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.100, n.553-554, p.71-74, 2005.
- CUBAS, Z.S., Terapêutica dos Animais Silvestres. In: Andrade, S.F. **Manual de Terapêutica Veterinária**. São Paulo: Roca; 2ª ed. , 2002, 569 – 589p.

**ACHADOS CLÍNICOS E ANATOMOPATOLÓGICOS EM BOVINOS
INTOXICADOS EXPERIMENTALMENTE POR *SOLANUM PANICULATUM*:
ACHADOS PRELIMINARES**
CLINICAL AND PATHOLOGICAL FINDINGS IN CATTLE EXPERIMENTALLY
POISONED BY *SOLANUM PANICULATUM*: PRELIMINARY RESULTS

Rafael Otaviano do Rego¹, José Augusto Bastos Afonso², Gliere Silmara Leite Soares³,
Márcia Bersane Araújo de Medeiros Torres⁴

1. Mestrando, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, PE, Brasil. E-mail: faelvet@yahoo.com.br.
2. Médico Veterinário, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Clínica de Bovinos, Garanhuns, PE, Brasil.
3. Graduando, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, PE, Brasil.
4. Professor adjunto 1, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, PE, Brasil.

PALAVRAS CHAVES: Jurubeba, células de purkinje, cerebelo, ruminantes.

ABSTRACT

Some species of Solanum causes neurological disease characterized by cerebellar disorder with periodic epileptiform episodes in ruminants. There weren't specific necropsy lesions associated with this kind of intoxication. Histological findings reveal vacuolization and loss of Purkinje cells. Therefore an experimental model of Solanum intoxication was developed in cattle. For such five animals, aged six months old, with no defined breed, and weighing around 120 kg were used. Animals were kept in cages during five months at Clínica de Bovinos de Garanhuns/UFRPE. Animals received 5g/kg/BW/day of the plant mixed in the diet and the administration was made by spontaneous intake. To determine whether there was cerebellar signs the "Head Raising Test" was weekly performed and when there was confirmation of cerebellar damage animals were euthanized. The CNS and *rete mirabile* were fixed in a 10% buffered formalin solution, and stained with hematoxylin and eosin for histopathologic evaluation. Three animals showed signs of intoxication in an average time of 108 days and one animal at 156 days. Clinical signs observed include transient convulsive seizures, which lasted a few seconds and balance disturbance. At necropsy there were no specific intoxication lesions. Histopathological examination revealed thin vacuolization of the perikaryon and loss of purkinje cells, with axonal spheroids on granular layer and at the marrow's white matter.

KEYWORDS: Jurubeba, purkinje cells, cerebellum, ruminants.

INTRODUÇÃO

Algumas espécies de *Solanum*, popularmente conhecidas como “jurubeba”, causam intoxicações espontâneas em bovinos e caprinos caracterizadas clinicamente por desordens cerebelares e microscopicamente como doença do armazenamento lisossomal. No Brasil a ocorrência de intoxicação mais estudada é por *S. fastigiatum* e existem poucas descrições de intoxicações experimentais por *S. paniculatum* e surtos de intoxicação espontânea em bovinos no Agreste do Estado de Pernambuco durante o período de 2005 a 2008 (MEDEIROS et al., 2004; JUNIOR et al., 2010; GUARANÁ et al., 2011).

A jurubeba causa uma doença neurológica caracterizado clinicamente por ataques convulsivos e à necropsia não são encontradas lesões macroscópicas específicas, mas podem ser observadas lesões traumáticas devido às quedas. O diagnóstico é realizado através dos sinais clínicos observados e dos dados epidemiológicos, sendo confirmadas pela observação das lesões histológicas características, localizadas no cerebelo, mais especificamente nas células de purkinje que apresentam vacuolização no citoplasma, com áreas multifocais de perda ou desaparecimento destas células, além da presença de esferóides axonais (GUARANÁ et al., 2011).

Este trabalho tem por objetivo descrever as alterações clínicas e histopatológicas do cerebelo observadas em bovinos intoxicados experimentalmente por *S. paniculatum*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na Clínica de Bovinos da UFRPE em Garanhuns, onde foram utilizados cinco bovinos, sendo quatro no grupo experimental e um no grupo controle, com faixa etária de seis meses de idade, sem raça definida, com peso médio de 120 Kg. Os animais foram mantidos em sistema de criação intensivo e submetidos ao mesmo manejo higiênico sanitário e nutricional. Foi respeitado um período de 30 dias de adaptação dos animais. A colheita da planta *S. paniculatum* foi realizada nas propriedades em que foram relatados os casos naturais, nos municípios de Brejão e Garanhuns. A planta seca foi administrada por ingestão natural misturada na ração na dose de 5g/kg/PV/dia, sendo suspensa um dia antes do sacrifício. A dose e período de experimentação foram baseados nos experimentos de Medeiros et al. (2004) e Afonso et al. (2009). O experimento teve a duração de cinco meses, sendo realizado *Head Raising Test* semanalmente para determinar os sinais cerebelares (PIENAAR et al., 1976). Após a manifestação do quadro clínico os animais foram submetidos à eutanásia. Na necropsia foi colhido encéfalo, *rete mirabiles* e medula espinhal

dos animais e fixados em formol tamponado a 10%. Os fragmentos foram processados rotineiramente e corados pela hematoxilina e eosina para avaliação descritiva da lesão.

RESULTADOS

Três animais do grupo experimental apresentaram sinais de intoxicação com tempo em média de 108 dias e o quarto animal com 156 dias. Após a realização do *HR test* apresentavam crises epileptiformes que duravam em torno de 20 a 30 segundos, com tremores de intenção, opistótono, nistagmo, quedas em posições diversas. Após alguns segundos o animal apresentava desequilíbrio, demonstrando ataxia e lateralização do andar. *HR test* seguidos quando realizados num mesmo animal observou-se que os sinais tornavam-se mais leves ou a não ocorrência da crise epileptiforme. Na necropsia não foram encontradas lesões específicas da intoxicação, apenas hematomas no tronco encefálico devido à coleta de líquido céfalo-raquidiano para avaliação bioquímica, imediatamente antes da eutanásia.

Na avaliação histopatológica do cerebelo todos os animais do grupo experimental apresentaram na maioria das células de purkinje vacuolização fina do pericário, algumas delas com núcleo marginalizado e outras com ausência dos mesmos. Também apresentaram necrose neuronal, com redução do número das células de purkinje, proliferação das células da glia e esferóides axonais na camada granular e na substância branca medular.

DISCUSSÃO

Os sinais clínicos neurológicos observados nos animais positivos para o *HR test* comprovam que a *S. paniculatum* causa quadro clínico semelhante aos descritos nas intoxicações por outras espécies do gênero *Solanum* como *S. fastigiatum*, *S. kwebense*, *S. dimidiatum* e *S. bonariensis* (RECH et al., 2006). A duração dos sinais clínicos de poucos segundos e a recuperação após o ataque convulsivo dos animais mostrando-se aparentemente normais também foi descrito por Riet-Correa et al. (1983) e Rech et al. (2006), na intoxicação por *S. fastigiatum*. Tokarnia et al. (2000), relatou bem o achado encontrado em relação aos repetidos *HR test*, ocorrendo uma diminuição dos sintomas se realizado várias vezes em pouco tempo.

Em virtude das diferenças de susceptibilidade para o desenvolvimento do quadro clínico neurológico a eutanásia ocorreu em momentos diferentes. Segundo Tokarnia et al. (2000) a resistência individual é um fator ligado ao animal que influencia a toxidez da planta.

Diminuição do cerebelo e atrofia da substância cinzenta foram observadas em casos de intoxicação espontânea por *S. paniculatum* (GUARANÁ et al., 2011) o que não ocorreu neste estudo e em outras intoxicações experimentais pela mesma espécie (MEDEIROS et al., 2004;

GUARANÁ et al., 2009). A variabilidade na quantidade de planta consumida em casos espontâneos e o desconhecimento do princípio ativo podem estar associados a estes achados (GUARANÁ et al., 2009).

Os achados histopatológicos associados às células de purkinje com proliferação de astrócitos de Bergmann, esferóides axonais, gliose no cerebelo são similares encontradas por intoxicações experimentais com *S. paniculatum* (MEDEIROS et al., 2004; GUARANÁ et al., 2009) e também são encontrados nos animais intoxicados espontaneamente e experimentalmente por *S. fastigiatum* (RECH et al., 2006).

CONCLUSÕES PRELIMINARES

A dose e período de tempo utilizados nesse protocolo experimental confirmaram a toxidez de *S. paniculatum* para bovinos com o desenvolvimento de lesões cerebelares similares às desenvolvidas em outras espécies tóxicas de Solanum.

REFERÊNCIAS

- AFONSO J. A. B.; GUARANÁ E. L. S.; RIET-CORREA F.; MENDONÇA C. L.; COSTA N. A. Ocorrência de Intoxicação por *Solanum paniculatum* (jurubeba) em bovinos no estado de Pernambuco. **Vet. & Zoo.**, n. 1, p. 7, 2009.
- GUARANÁ, E. L. S.; RIET-CORREA, F.; MENDONÇA, C. L.; MEDEIROS, R. M. T.; COSTA, N. A., AFONSO, J. A. B. Poisoning by *Solanum paniculatum* in cattle in Pernambuco, Northeastern Brazil. **Proceedings 8th International Symposium on Poisonous Plants**, João Pessoa, Brazil, p.62, 2009.
- GUARANÁ, E. L. S.; RIET-CORREA, F.; MENDONÇA, C. L.; MEDEIROS, R. M. T.; COSTA, N. A.; AFONSO, J. A. B. Intoxicação por *Solanum paniculatum* (Solanaceae) em bovinos. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 31, n. 1, p. 59-64, jan. 2011.
- JUNIOR, S. A. B.; MONTEIRO, B. C. M.; ALBUQUERQUE, R. F.; CUNHA, A. L. B.; MENDONÇA, F. S. Ocorrência de doença lisossomal associada à ingestão de *Solanum paniculatum* em caprinos em Pernambuco. **X JEPEX**, Recife - PE, out. 2010.
- MEDEIROS R. M. T.; GUILHERME R. E.; RIET-CORREA F.; BARBOSA R. C.; LIMA E. F. Intoxicação Experimental por *Solanum Paniculatum* (jurubeba) em bovinos. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 24. p. 41, 2004.
- PIENAAR, J. G.; KELLERMAN, T. S.; BASSON, P. A.; JENKINS, W. L.; VAHRMEIJER, J. Maldronksiekte in cattle: a neuronopathy caused by *Solanum kwebense* N.E. Br. **Onderstepoort J. Vet. Res.**, v. 43, n. 2, p.67-74, Jun.1976.
- RECH R. R.; RISSI, D. R.; RODRIGUES, A.; PIEREZAN, F.; PIAZER, J. V. M.; KOMERS, G. D; BARROS C. S. L. Intoxicação por *Solanum fastigiatum* (Solanaceae) em bovinos: epidemiologia, sinais clínicos e morfometria das lesões cerebelares. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 26, n. 3, p. 183-189, 2006.
- RIET-CORREA F.; MÉNDEZ M .C.; SCHILD A .L.;SUMMERS B. A.; OLIVEIRA J. A. Intoxication by *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* as a cause of cerebellar degeneration of cattle. **Cornell Vet.**, v. 73, p. 240-256, 1983.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas tóxicas do Brasil**. RJ: Helianthus, 2000. 310p.

IMUNOMARCAÇÃO DE CD44 EM NEOPLASIAS MAMÁRIAS CANINAS

MALIGNAS COM E SEM METÁSTASE

CD44 IMMUNOSTAINING IN CANINE MALIGNANT MAMMARY NEOPLASMS WITH AND WITHOUT METASTASIS.

Geórgia Modé Magalhães¹, Ana Carolina Trompieri Silveira², Antonio Carlos Alessi³

1- doutoranda em Patologia Animal, FCAV, UNESP Jaboticabal

2- Pós-doutorado na Universidade Federal do Sergipe

3- Docente em Patologia Animal, FCAV-Unesp Jaboticabal

georgiamode@hotmail.com

PALAVRAS-CHAVE: cão, oncologia, tumor.

ABSTRACT

CD44 is a cell adhesion molecule closely related to tumor progression in humans. In canine mammary tumors, little information is available about this molecule. The aim of this study is analyze, by immunohistochemistry the behavior of this molecule in canine mammary tumors with or without the presence of metastatic lymph nodes. The groups were divided into N (without metastasis) and group M (metastasis). Tumors were classified according to the WHO, World Health Organization. The cells were counted whereas the plasma membrane and/or cytoplasm are stained. There was a significant increase in group N for group M, and increase the primary neoplasia of metastatic tumor to metastatic neoplastic mass (lymph node or emboli). It is concluded that there was more immunostaining in metastatic neoplastic mass than in primary neoplasia of metastatic tumor and tumors without metastasis.

KEYWORDS: dogs, oncology, tumors.

INTRODUÇÃO

Os receptores de superfície celular são importantes para regular a mobilidade celular além de interagir a célula com o microambiente em que está inserida (CICHY e PURÊ, 2003). O CD44 é uma molécula de adesão, multifuncional, pertencente à família de glicoproteínas transmembrana e está intimamente relacionada com a progressão tumoral (KLINGBEIL *et al.*, 2009). Está envolvida nas interações célula a célula e entre a célula e a matriz (NAOR *et al.*, 1997). O enfraquecimento do mecanismo de adesão celular é o pré-requisito básico para a ocorrência de metástase (POZDNYAKOVA *et al.*, 2009), porém pouco se sabe sobre o mecanismo pelo o qual a molécula CD44 interfere nas metástases. Harrell *et al.* (2006) mostram que o CD44 é expresso em tumores primários e superexpresso em êmbolos tumorais linfáticos e metástases, concluindo que as subpopulações de CD44 no sítio primário são

preferencialmente atraídas para os vasos linfáticos tumorais e seus linfonodos. Em cães, o comportamento da molécula de adesão CD44 foi relatado por Madrazo et al. (2009) o qual limita seu uso como um marcador de malignidade em tumores de mama canino. Paltian *et al.* (2009) associa a maior marcação de CD44 com tumores benignos ou com tumores mamários caninos que tenham comportamentos relativamente benignos. O objetivo deste estudo é avaliar pelo método imuno-histoquímico o comportamento do receptor CD44 em neoplasias mamárias caninas malignas com e sem metástase em linfonodos drenantes.

MATERIAL E MÉTODOS

Compuseram os grupos experimentais cadelas com tumor mamário, com ou sem metástase visível em linfonodos, e um grupo controle composto por tecido mamário normal. Não houve predileção por localização mamária, mas usou-se em maior número as mamas inguinais e linfonodos inguinais. Utilizou-se dez neoplasias mamárias malignas sem metástase visível em microscopia de luz em vasos e em linfonodos; Dez neoplasias mamárias malignas metastáticas e seus respectivos linfonodos com metástases observadas microscopicamente.

Os fragmentos dos tumores mamários e de linfonodos drenantes foram adquiridos do Hospital Veterinário da FCAV - UNESP, Jaboticabal, SP e de clínicas particulares. Os fragmentos colhidos fixados em solução de formol a 10%, e processados rotineiramente até a inclusão em parafina. Na análise microscópica em microscopia de luz, foi feita a classificação da neoplasia, segundo os critérios da Organização Mundial da Saúde (MISDORP *et al.* 1999).

A técnica imuno-histoquímica empregada foi o complexo estreptavidina peroxidase (ABC), desenvolvido por HSU *et al.* (1981), com ligeiras modificações. Usou-se o anticorpo monoclonal CD44v6, clone DF1485, DAKO na diluição de 1:50, com incubação de 4°C por 18 h. A recuperação antigênica foi realizada com tampão citrato, pH 6 em Microondas por 10 minutos, sendo os dois primeiros em potência máxima e o restante em temperatura morna. Como controles positivos interno foram utilizadas glândulas mamárias normais que se encontravam ao redor da neoplasia e como controle negativo usou-se PBS ao invés do anticorpo primário. As marcações foram consideradas positivas quando a membrana plasmática e ou o citoplasmas apresentavam-se marcados. Para se quantificar a frequência da imunomarcção, foram aleatoriamente selecionados quatro campos por corte e, foi contado um total de 100 células entre as marcadas e não marcadas, na objetiva de 40x. As contagens foram feitas nas neoplasias sem metástases, na neoplasia primária metastática e na massa metastática onde foram consideradas as células epiteliais neoplásicas em linfonodo e êmbolos tumorais em vasos linfáticos e sanguíneos. Foi aplicado o teste T para comparação de resultados.

RESULTADOS

O tipo histológico encontrado foi: no grupo sem metástases; cinco carcinomas mamários complexos, dois sólidos e três túbulos-papilíferos, no grupo metastático; seis túbulos-papilíferos e quatro sólidos. No grupo controle, todas as células epiteliais glandulares mamárias foram imunomarcadas para o CD44, 100% marcadas. Houve um aumento significativo em relação ao grupo de neoplasias sem metástases para as contagens de células nas massas neoplásicas ($p < 0,05$). E também aumento significativo das contagens de células da neoplasia primária metastática em relação à respectiva metástase (Tabela 1).

Tabela 1 – Médias percentuais e desvio-padrão das contagens das células imunomarcadas pelo anticorpo CD44 nos grupos analisados.

Neoplasia sem metástase	Neoplasia primária da metástase	Massa neoplásica metastática (em linfonodo ou êmbolos)
41,30 ± 14,82a	43,2 ± 17,5a	73,70 ± 13,50b

No sítio primário do tumor, observou-se poucas marcações em relação ao local da metástase. Em carcinomas simples túbulo-papilíferos observou-se marcações mais intensas nos túbulos mais próximos dos normais e nas camadas mais externas de células nas papilas. Dois dos quatro carcinomas sólidos apresentaram pouca marcação no sítio primário. As células neoplásicas em vasos linfáticos, em sua maioria, estavam agrupadas e mesmo as que se encontravam isoladas estavam marcadas para o anticorpo CD44. Nos linfonodos as células marcadas estavam agrupadas em sua maioria nos seios subcapsulares e, em apenas dois casos elas invadiram o linfonodo pelos cordões linfáticos atingindo a região medular.

DISCUSSÃO

Em glândulas mamárias de mulheres, o CD44v6 apresenta forte imunorreatividade em mioepitélio normal e em células epiteliais ductais (FRIEDRICHS, *et al.* 1995). Em cães a marcação de CD44 em tecidos mamários normais foi maior em ductos e células do epitélio alveolar e em menor quantidade nas células mioepiteliais (PALTIAN, *et al.* 2009). Em nosso estudo, as neoplasias primárias metastáticas apresentaram menor marcação de CD44 em relação à metástase. Contrastando com os nossos achados, POZDNYAKOVA (2008) encontrou mais marcações em sítios primários de CD44v6 do que na metástase cutânea em humanos. Apesar de ser o mesmo clone do anticorpo, a metástase foi analisada em pele, enquanto o presente estudo analisou linfonodo. Nos linfonodos a maioria dos tumores metastáticos localizava-se nos seios subcapsulares condizendo com a circulação linfática unidirecional, chegando pelos vasos aferentes e saindo pelos linfáticos do hilo, ou eferentes

(JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999). A marcação superexpressa em células no interior de vasos linfáticos confere uma estabilidade na estrutura do êmbolo tumoral (MADRAZO, *et al.* 2009). Fato interessante observado é que a molécula de adesão CD44 foi imunomarcada em uma média de 73,7% das células tumorais nas massas tumorais metastáticas, indicando que a célula neoplásica necessita de adesão para enfrentar o novo microambiente que está colonizando. Muitos estudos em humanos têm proposto que o CD44 pode ser uma molécula de fator prognóstico de metástase (XIN *et al.*, 2001). Em cães, há necessidade de estudos complementares para que fique clara essa hipótese. Já que nosso estudo contrasta com o de Paltian, 2009 que encontraram maior marcação em tumores benignos ou comportamento próximo de benigno.

CONCLUSÃO

Conclui-se que houve maior número de células imunomarcadas pelo receptor CD44 em massas neoplásicas metastáticas do que na neoplasia primária onde ocorreu a metástase e neoplasias sem metástases.

REFERÊNCIAS

- CICHY, J.; PURÉ E. The liberation of CD44. **The Journal of Cell biology**, mini review, v.161, n. 5, p. 839-843, 2003.
- FRIEDRICH, K.; FRANKE, F.; LISBOA, B. W.; KUGLER, G.; GILE, I. TERPE, H. J.; HOLZEL, F.; MAASS, H.; AND GUNTHER U. CD44 isoforms Correlate with Cellular Differentiation but not with prognosis in Human Breast Cancer. **Cancer Research**, v.55, p. 5424-5433, 1995.
- HARRELL, J.C.; DYE, W.W.; ALLRED, D.C.; JEDLICKA, P., SPOELSTRA, N.S.; SARTORIUS, C.A.; AND HORWITZ, K.B. Estrogen Receptor Positive Breast Cancer Metastasis: Altered Hormonal Sensitivity and Tumor Aggressiveness in Lymphatic Vessels and Lymph Nodes. **Cancer Research** v.66, n.18, September 15, 2006.
- HSU, S.M.; RAINE, L.; FANGER, H.A. A Comparative study of peroxidase- antiperoxidase method and an avidin biotin complex method for studying polypeptide hormones with radioimmunoassay antibodies. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 75, p. 734-738, 1981.
- JUNQUEIRA L.C.; CARNEIRO, J. in **Histologia Básica**, Ed.Guanabara, nona edição, 427p,1999.
- KLINGBEIL, P.; NATRAJAN, R.; EVERITT, G.; VATCHEVA, R.; MARCHIO, C.; PALACIOS, J.; BUERGER, H.; REIS-FILHO, J.S.; ISACKE, C.M. CD44 is over expressed in basal-like breast cancers but is not a driver of 11p13 amplification. **Breast Cancer Research and Treatment**. P.95-109, 2009.
- MADRAZO, J.; GARCIA-FERNANDEZ, R.A.; GARCIA-IGLESIAS, M.J.; DURAN, A.J.; ESPINOSA, J.; PEREZ-MARTINEZ, C. The role of CD44 adhesion factor in canine mammary carcinomas. **The Veterinary Journal**. V. 180, p. 371-376, 2009.
- MISDORP, H.; ELSE, R.; HELLMAN, E., Histologic classification of mammary tumors of the dog and cat. In: **World Health Organization International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals**, Series 2, v. 7, nº 2, Armed Forces Institute of Pathology Washington DC, 1999.
- NAOR, D.; SIONOV, R.V.; ISH-SHALOM, D. CD44: structure, function, and association with the malignant process. **Advances in Cancer Research**. v. 71, p. 241-319, 1997.
- PALTIAN, V.; ALLDINGER, S.; BAUMGARTNER, W.; WOHLSEIN, P. Expression of CD44 in Canine Mammary Tumours. **Journal of Comparative Pathology**. v.141, p. 237-247, 2009.
- POZDNYAKOVA, O.; HOANG, M.M.; DRESSER, K.A.; MAHALINGAM, M. Prognostic value of E-cadherin, beta-catenin, CD44v6, and HER2/neu in metastatic cutaneous adenocarcinoma. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**. v. 133, n. 8, p.1285-90, 2009
- XIN Y, GRACE A, GALLAGHER MM, CURRAN BT, LEADER MB, KAY EW. CD44V6 in gastric carcinoma: a marker of tumor progression. **Applied Immunohistochemistry Molecular Morphology**, v. 9, n. 2, p. 138-142, 2001.

CREMES DE BARBATIMÃO A 5% E QUITOSANA A 5% COMO COADJUVANTES NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM COELHOS

**5% BARBATIMAN AND 5% CHITOSAN CREAMS AS AN ADJUVANT IN SKIN
WOUND HEALING IN RABBITS**

Caroline Rocha de Oliveira Lima¹; Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura²; Rogério Elias Rabelo³; Lorena Damasio Cardoso⁴; Juliana Ferreira Batista⁴; Luiz Antônio Franco da Silva²

1. Doutoranda em Ciência Animal, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás (UFG), Campus Samambaia, Goiânia, Goiás, Brasil. E-mail: carolrochavet@hotmail.com (autor correspondente)
2. Professor de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Samambaia, Goiânia, Goiás, Brasil.
3. Professor de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, Goiás, Brasil.
4. Acadêmicas de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, Goiás, Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: Fitoterápico, pele, reparação tecidual, tanino.

ABSTRACT

Were evaluated 5% barbatiman and 5% chitosan creams as an adjuvant in skin wound healing in rabbits. For this, it was used 20 male rabbits adults in which four were induced skin wounds, submitted to heal by secondary intention and treated with 5% chitosan cream, 5% barbatiman cream, 2% allantoin cream and base cream. The wounds were evaluated by clinical examination daily for 21 consecutive days and histological analysis on days three, seven, 14 and 21 after induction. Macroscopically, the wounds of all groups progressed in accordance to the microscopic evolution of the healing process. Chitosan cream at 5% and barbatiman cream at 5% contributed to the process of cutaneous repair in rabbits when compared to other treatments, once favored fibroblast activation and collagen deposition early, and modulate neovascularization and reepithelialization. Thus, the 5% barbatiman and 5% chitosan creams coadjuvant treatment is effective in the healing of skin wounds in rabbits.

KEYWORDS: Phytotherapeutic, skin, tissue repair, tannin.

INTRODUÇÃO

A cicatrização é um fenômeno biológico complexo, sistemático e organizado que ocorre em resposta à dissolução da integridade tissular, visando a restauração tecidual (BARBUL, 2006). É descrita nas fases inflamatória, proliferativa e de remodelação colágena, que correspondem aos principais episódios observados em um determinado período de tempo (ACKERMANN, 2007).

Os coadjuvantes do processo cicatricial são preconizados quando o organismo não se encontra apto a responder a injúria tecidual (BARBUL, 2006). Dentre os diferentes métodos propostos, a molécula de quitosana e o fitoterápico barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville] merecem ênfase, pois além da ação sistemática frente ao processo cicatricial, são considerados métodos alternativos economicamente viáveis (LOPES et al., 2005; SEZER et al., 2007). Diante disso, este estudo teve como objetivo avaliar a ação dos cremes de quitosana a 5% e barbatimão a 5% na cicatrização de feridas cutâneas em coelhos.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido entre de abril de 2008 e junho de 2009 e dividido em quatro etapas. Na primeira fase efetuou-se o processamento e a padronização do extrato aquoso do barbatimão. A segunda etapa consistiu da manipulação das formulações terapêuticas, a saber: creme de barbatimão a 5% (CB), creme de quitosana a 5% (CQ), creme de alantoína 2% (CA) e creme base sem a adição de princípios ativos (CN). Na terceira etapa, foi promovida a indução das feridas cutâneas para avaliar a ação terapêutica das formulações. Foram utilizados 20 coelhos, sendo confeccionadas quatro feridas cutâneas equidistantes em pontos específicos do dorso dos animais. As feridas foram induzidas com auxílio de um *punch* circular de um centímetro de diâmetro e higienizadas com solução de cloreto de sódio a 0,9% e, em seguida, receberam os tratamentos tópicos, que foram estabelecidos mediante sorteio. Para avaliar a ação terapêutica dos cremes foram formados quatro grupos (n=5), sendo que as feridas tratadas com CB e CQ compuseram os grupos testes do estudo, e as feridas tratadas com CA e o CN constituíram os grupos controles positivo e negativo, respectivamente. Na quarta etapa, as feridas foram avaliadas macroscopicamente por 21 dias consecutivos considerando-se os parâmetros hiperemia, hemorragia, secreção, crostas e reepitelização. Microscopicamente, as feridas foram avaliadas nos momentos três, sete, 14 e 21 dias, seguindo critérios adaptados de NETO et al. (2006). O material foi colhido por meio de biópsia, sendo processado e corado pelas técnicas de Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Masson. Os resultados da análise macroscópica foram analisados descritivamente e para as avaliações microscópicas foi empregado o teste de *U-Mann Whitney*, considerando-se o nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Clinicamente houve predomínio de hiperemia nas áreas adjacentes às lesões, hemorragia, exsudação serosa e crostas até o quarto dia de tratamento, independente do grupo. Em seguida, estes sinais começaram a regredir, não sendo descritos nos grupos CB e CQ ao oitavo dia. Hiperemia e secreção foram observadas em 40% das feridas de CA e CN até o término do estudo. Crostas foram identificadas em todas feridas no segundo dia, se

destacando após a reepitelização ou durante a antissepsia das feridas. Retração centrípeta ocorreu em 100% das feridas do grupo CB no terceiro dia, enquanto que no grupo CQ esta foi visualizada a partir do quarto dia. Nos dias 17 e 19, a totalidade das lesões dos grupos CB e CQ encontrava-se reepitelizada. Nos grupos CA e CN a reepitelização ocorreu em apenas 40% das feridas ao final da pesquisa.

Microscopicamente houve maior predomínio de infiltrado polimorfonuclear no grupo CN em relação à CB e CQ, diferindo significativamente ($p>0,05$) em todos os momentos considerados. Esta diferença ocorreu nos momentos 14 e 21 dias quando se comparou o grupo CA em relação aos CB e CQ. Quanto à neovascularização foi verificada diferença entre CN e os grupos testes em todos os momentos. Houve proliferação fibroblástica (fibroplasia) precoce e mais acentuada nos dias três e sete ($p>0,05$) em CB e CQ em comparação a CA e CN. Colagenização decorrente da síntese fibroblástica foi constatada a partir do sétimo dia e aumentou gradativamente até o final do estudo. Os grupos CN e CA apresentaram menor intensidade ($p>0,05$) quando comparadas aos CB e CQ no sétimo e 14º dias de avaliação. A reepitelização, caracterizada por migração epitelial das bordas em direção ao centro da lesão, ocorreu tardiamente ($p>0,05$) nos grupos CA e CN, sendo verificada diferença significativa em comparação aos grupos CB e CQ. As variáveis necrose/crosta, tecido de granulação e infiltrado mononuclear não diferiram significativamente entre os tratamentos em nenhum momento considerado.

DISCUSSÃO

Os resultados iniciais para CB e CQ foram condizentes com os da fase inflamatória da cicatrização. Sugere-se que a redução precoce desses sinais estão relacionadas ao mecanismo anti-inflamatório da quitosana e do tanino. Resultados semelhantes foram apontados por SEZER et al. (2007) e VIEIRA et al. (2008) na fase inicial da evolução da cicatrização. Em contrapartida, persistência dos sinais da inflamação nos grupos CN e CA. Estudos de VIEIRA et al. (2008) também fizeram referência à extensão do processo inflamatório em feridas tratadas apenas com CN. Infere-se que o veículo empregado na pesquisa possa ter desencadeado irritação no tecido lesionado. A extensão do processo inflamatório no grupo CA pode ser explicado pela menor eficácia do mecanismo anti-inflamatório promovido pela alantoína, afirmação respaldada pelos achados de NETO (2005).

As crostas das feridas, apesar de limitar as avaliações e a ação dos cremes, não foram removidas para não interferir na formação epitelial. Conduta similar foi adotada por EURIDES et al. (1996), mas não por LOPES et al. (2005), que promoveram o debridamento das crostas e não notaram intercorrências decorrentes da manobra.

Formação de tecido de granulação e início de reepitelização evidenciou que o processo cicatricial evoluíra para fase proliferativa, visto que tais parâmetros correspondem aos descritos para esta fase, corroborando os achados de HOSGOOD (2006). Fibroplasia precoce e acentuada também foi notada em CB e CQ. Esse achado está de acordo com MARTINS et al. (2003) que atribuíram esse parâmetro à baixa tensão de oxigênio e ao acúmulo de fibrina proporcionado pelo fitoterápico no centro da lesão. A propriedade imunomoduladora da quitosana também foi confirmada e concorda com SILVA et al. (2006).

Colagenização também esteve mais acentuada e precoce nos grupos CB e CQ e corroboram, respectivamente, os achados de LOPES et al. (2005) e SEZER et al. (2007). Dessa forma, pode-se inferir que tais terapias exercem ação benéfica quanto à colagenização, contribuindo para o melhor aspecto das feridas e maior força tênsil do tecido neoformado.

A neovascularização foi mais acentuada nos dias sete e 14, regredindo ao 21º dia, independente da terapia empregada. A presença dos vasos nas fases iniciais garante fornecimento de nutrientes e trocas gasosas no ambiente da lesão e a ausência desse parâmetro demonstra que a cicatrização está evoluindo para a fase de remodelação, como descreve BARBUL (2006). Ainda, reepitelização completa que ocorreu por volta do 18º dia de tratamento nas feridas dos grupos CB e CQ, demonstraram a eficácia destes protocolos quando comparados aos demais tratamentos e concordam com as citações de SEZER et al. (2007) e VIEIRA et al. (2008).

CONCLUSÃO

Os cremes de quitosana de barbatimão a 5% auxiliam na reparação tecidual, sendo protocolos eficazes e economicamente viáveis como coadjuvantes da cicatrização.

REFERÊNCIAS

- ACKERMAN, M.R. Acute inflammation. In: McGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. **Pathologic basis veterinary disease**. Philadelphia: Mosby Elsevier, 2007. cap.3-4, p. 101-191.
- BARBUL, A. History of wound healing. In: BRUNICARDI, F.C.; SEYMOUR, I.; SCHWARTS, D.L.; DUN, D.K.; ANDERSEN, R.E. **Schwartz's Surgery**. Ontario: Companion handbook, 2006. p. 25-78.
- LOPES, G.C.; SANCHES, A.C.C.; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P.; HERNANDES, L.; MELLO, J.C.P. Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. and *Stryphnodendron obovatum* Benth. on the cicatrization of cutaneous wound in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 99, n. 2, p. 256-272, 2005.
- NETO, N.M.A. **Tratamento tópico com mel, própolis em gel e creme a base de alantoína em feridas experimentalmente infectadas em coelhos**. 2005. 36p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- SEZER, A.D.; HATIPOGLU, F.; CEVHER, E.; OGURTAN, Z.; BAS, A.L.; AKBUGA, J. Chitosan film containing fucoidan as a wound dressing for dermal burn healing: preparation and in vitro / in vivo evaluation. **AAPS PHARMSCITECH**, Istanbul, v. 8, n. 2, 2007.
- VIEIRA, A.P.; SANTOS, N.R.; BORGES, J.H.S.; VINCENZI, M.P.; SCHMITZ, W.O. Ação dos flavonóides na cicatrização por segunda intenção em feridas limpas induzidas cirurgicamente em ratos Wistar. **Semina: Ciências Biológicas e Saúde**, Londrina, v. 29, n. 01, p. 65-74, 2008.

**DETERMINAÇÃO MORFOLÓGICA DE LESÕES HISTOPATOLÓGICAS
COMPARATIVAMENTE A ANÁLISE PELA ESPECTROFOTOMETRIA DE
ABSORÇÃO ATÔMICA EM CHAMAS COM INOCULAÇÃO EXPERIMENTAL DE
CHUMBO EM RATOS DA LINHAGEM WISTAR**

**MORPHOLOGIC DETERMINATION OF HISTOPATHOLOGICAL LESIONS
COMPARATIVELY THE ANALYSIS BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY IN
FLAMES WITH EXPERIMENTAL INOCULATION OF LEAD IN WISTAR RATS**

Basílio Smuczek¹; Maria Eliza Tomotake²; Jayme Augusto Peres³; Sueli Percio Quinaia⁴; Ana
Heloisa Reis⁸; Larissa M. Schroeder⁶; Antônio Carlos Oliveira⁷; Matheus Folgearine Silveira³

1. Graduando do curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual do Centro Oeste – UNICENTRO, Guarapuava – PR; basiliosmuczek@hotmail.com
2. Docente do curso de Ciências Biológicas – UNICENTRO, Guarapuava – PR
3. Docentes do curso de Medicina Veterinária – UNICENTRO, Guarapuava – PR
4. Docente do curso de Química – UNICENTRO, Guarapuava – PR
5. Graduanda do curso de Química – UNICENTRO, Guarapuava – PR
6. Graduanda do curso de Medicina Veterinária – UNICENTRO, Guarapuava – PR
7. Graduando do curso de Ciências Biológicas das Faculdades Guairacá, Guarapuava – PR.
8. Graduanda do curso de Química – UNICENTRO, Guarapuava – PR

Projeto aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal. Protocolo N: 121/2010-CUA-UNESP, Botucatu-SP.

PALAVRAS-CHAVE: Biologia celular; Xenobiótico; Intoxicação

ABSTRACT

The Lead (Pb) is a heavy metal found naturally in the environment, but its concentration has been increased encouraging human and animal exposure to this element by anthropogenic indiscriminate actions. With no physiological function in the body, it accumulates favoring chronic changes that compromise the function of organs as was observed by the experimentally work where Wistar rats was exposed with this element comparing the histologic changes the lead was detected by Atomic Absorption Spectrometry in Flames - FAAS. The results showed that the changes were predominant in liver and kidneys, but changes were also observed in other organs in which the element concentration was not measurable.

KEYWORDS: Cell biology, Xenobiotic, Intoxication.

INTRODUÇÃO

O chumbo é um metal pesado que não possui função fisiológica no organismo. No seu processo de detoxicação forma complexos com macromoléculas favorecendo sua adsorção e, posteriormente, absorção e distribuição e/ou excreção. É absorvido por inalação em até 16% em adultos, e em crianças, o percentual absorvido pela via digestória é de 50%. Uma vez absorvido, o chumbo é distribuído pelo sangue, onde a meia vida é de 37 dias; nos tecidos moles, a meia vida é de 40 dias; nos ossos e dentes a meia vida é de 27 anos (MARÇAL, 2005, OGA et al, 2008). A concentração de chumbo no sangue é menor do que 2% do seu total no corpo, deste valor, uma porção igual ou menor do que 5% se encontra no plasma, representando a fração lábil e biologicamente ativa do chumbo, capaz de atravessar barreiras anatômicas, como, por exemplo, a placentária, e alcançar os tecidos fetais, causando danos irreversíveis ao feto (MOREIRA & MOREIRA, 2004).

O quadro 01 ilustra resumidamente as principais alterações clínicas ocasionadas pelo chumbo.

QUADRO 01: descrição das alterações clínicas nos sistemas que compõem o organismo.

ÓRGÃOS ALVOS	ALTERAÇÕES
Efeito gastrointestinal	Cólica saturnica, caracterizada por espasmos intestinais, com desconforto abdominal devido à lesão em musculatura lisa. Músculos abdominais rígidos com hipersensibilidade acentuada, febre e palidez.
Efeitos neuromusculares	Desmielinização e degeneração axonal, prejudicando as funções psicomotoras e neuromusculares. Altera o metabolismo de neurotransmissores como a acetilcolina e as catecolaminas. Fraqueza muscular, fadiga e paralisia.
Efeitos neurológicos	Distúrbios no metabolismo dos carboidratos, principal fonte de NAD e NADP durante o desenvolvimento do cérebro, ácido quinolínico e no catabolismo do triptofano.
Efeitos cardiovasculares	Miocardite crônica, hipotonia ou hipertonia com hipertensão e arteriosclerose precoce, com alterações cerebrovasculares.
Efeitos renais	Distúrbio reversível dos túbulos renais e nefropatia intersticial irreversível. Síndrome com proteinúria, hematuria e cilindrúria.
Efeitos hepáticos	Inativação da biotransformação, com redução na concentração hepática do citocromo P ₄₅₀ e da atividade da glutathion-S-transferase, favorecendo o desenvolvimento de hepatite tóxica.
Efeitos hematopoéticos	Inibe a eritropoese com consequente anemia

Efeitos hematológicos

Nos eritrócitos, pode ocorrer a formação do Ponteadado Basofílico, porém, ocorre a anemia microcítica hipocrômica pela incapacidade da citocinese e pela fragilidade da membrana celular.

FONTE: SCHIFER *et al*, 2005; SPINOSA *et al*, 2008.

Objetivo (s) O projeto objetiva descrever morfológicamente as alterações histopatológicas em fígado e rins de ratos da linhagem Wistar submetido à intoxicação experimental por chumbo na forma de Sulfato de Chumbo ($PbSO_4$)[®]

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 12 ratos da linhagem Wistar, com aproximadamente 120 dias de vida, peso médio de 230gr provenientes do Biotério da Universidade Estadual do Centro-Oeste - UNICENTRO - BIOCEN, sendo separados em tres caixas próprias para o acondicionamento destas. Cada caixa contendo quatro ratos mantidos em ambiente com temperatura e luminosidade controladas. As caixas eram higienizadas diariamente e os animais recebiam alimentação *ad libidum*.

O experimento ocorreu num periodo de sete dias com os animais recebendo Sulfato de Chumbo ($PbSO_4$)[®] em solução fornecida aos animais pelo método de gavagem preparada no momento da aplicação utilizando-se 10mg do composto para 100ml de água. No momento da aplicação os animais foram pesados em balança digital fornecendo aos animais 5ml da solução para cada quilo de peso vivo pelo processo de gavagem. Os animais foram sacrificados em câmara de gás carbônico (CO_2) e posteriormente necropsiados para coleta de amostras de fígado e rins. Fragmentos de amostras das mesmas estruturas foram coletadas na quantidade de 6 mg, acondicionados em sacos plásticos, identificadas e resfriadas para posterior encaminhamento para análise pela Espectrofotometria de Absorção Atômica em Chamas no Laboratório de Quimica da UNICENTRO.

RESULTADOS

	FIGADO	RIM
Espectrofotometria (Chumbo) FAAS* - µg/g	4,14	86,86
Histopatologia	Necrose multifocal associada à reação inflamatória mononuclear perivascular com tumefação de células de kupffer e estase biliar	Degeneração hidrópica de células epiteliais em túbulos contorcidos proximais associada à picnose e presença de condensação de cromatina

*FAAS - Espectrofotometria de absorção atômica em chamas / Limite Detectável (LD): $\leq 0,05 \mu g.mL^{-1} \mu g.mL^{-1}$

DISCUSSÃO

Para Spinosa et al, 2008 todas as estruturas que compõem o organismo vivo são passíveis de serem afetadas pelo chumbo, porém no exame pela FAAS apenas no fígado e rins de todos os animais foram encontrados este elemento, caracterizando ou a impossibilidade de detecção do aparelho utilizado para análise estando os níveis abaixo do limite de detecção ou o tempo de exposição não foi o suficiente para que o elemento fosse detectável no órgão, pois alterações degenerativas e vasculares foram observadas nos demais órgãos e até mesmo anemia aplásica em porção medular de fêmur. Porém em fígado e rins o elemento foi detectado em valores considerados altos para a quantidade do elemento processado demonstrando as alterações acima descritas de acordo com a função do órgão um com função metabólica e de detoxicação e outro com função de excreção, o que favorece o maior tempo de exposição do elemento nos órgãos em questão (SPINOSA et al, 2008; McGAVIN & ZACHARY, 2009)

CONCLUSÃO

Pelo período de exposição às alterações observadas em fígado e rins estão associadas a lesões reversíveis, o que se pode concluir que retirando a causa, estes órgãos podem restabelecer-se porém mesmo de acordo com as alterações observadas as principais consequências de caráter metabólico quando a exposição for aguda, porém esta fase, favorece a deposição do elemento em órgãos caracterizados de fase crônica.

REFERÊNCIAS

- CAMARGO, O.A.; ALLEONI, L.R.F.; BERTON, R.S. O solo e a qualidade do ambiente. **In: ANDRADE, J.C.; ABREU, M.F. Análise química de resíduos sólidos para monitoramento e estudos agroambientais.** Campinas: Instituto Agronômico, p. 11-32, 2006.
- MARÇAL, W.S. Atuação pericial do médico veterinário em ações de biomonitoramento ambiental. **Revista CFMV.** n. 39, p. 27 – 33, 2005.
- McGAVIN, M.D. & ZACHARY, J.F. **Bases da Patologia em Veterinária.** 4ª ed.; Rio de Janeiro: Elsevier. 2009. 1476p.
- MOREIRA, F.R. & MOREIRA, J.C. A importância da análise de especiação do chumbo em plasma para a avaliação dos riscos à saúde. **Química Nova.** v. 27, n 02, p. 02 – 21, 2004.
- OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de Toxicologia.** 3ª ed. Atheneu Editora; São Paulo; 2008. 677p.
- SCHIFER, T.S.; BOGUSZ Jr.; S.; MONTANO, M A E. Aspectos Toxicológicos do Chumbo. **Informa.** v. 17, n. 5/6, p. 67 – 72, 2005.
- SPINOSA, H. S.; GÓRNIAC, S. L.; PALERMO-NETO, J. **Toxicologia Aplicada à Medicina Veterinária.** São Paulo: Editora Manole. 2008. 942p.

ESTUDO COMPARATIVO DO TRATAMENTO *IN VITRO* COM TRIIODOTIRONINA SOB A DIFERENCIAÇÃO OSTEOGÊNICA DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS DA MEDULA ÓSSEA E DO TECIDO ADIPOSEO DE RATAS COM OSTEOPOROSE

COMPARATIVE STUDY OF THE EFFECT OF TRIIODOTHYRONINE ON THE OSTEOGENIC DIFFERENTIATION OF THE MESENCHYMAL STEM CELLS FROM BONE MARROW AND ADIPOSE TISSUE OF FEMALE RATS WITH OSTEOPOROSIS

Jankerle Neves Boeloni¹, Natália de Melo Ocarino³, Juneo Freitas Silva¹, Paula Nunes Vidigal², Alfredo Miranda Goes⁴, Rogéria Serakides^{3*}

1. Doutorando, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.
 2. Graduando, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.
 3. Professor, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.
 4. Professor, ICB, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.
- *E-mail: serakidesufmg@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: cultivo celular, diferenciação osteogênica, hormônio tireoidiano, ovariectomia, ratas.

ABSTRACT

This study verified the effect of triiodothyronine on the osteogenic differentiation of the mesenchymal stem cells (MSCs) from bone marrow and adipose tissue of female rats with osteoporosis. We collected bone marrow from long bones, and omental adipose tissue for extraction of MSCs. The cells were cultured in osteogenic medium with or without T3 distributed into the following groups: 1) MSCs of young rats without osteoporosis; 2) MSCs of adult rats without osteoporosis; 3) MSCs of adult rats with osteoporosis without T3 and 4, 5, 6 and 7) MSCs of adult rats with osteoporosis with T3 (0,01nM, 1nM, 100nM and 1000nM, respectively). At 7 and 21 days of osteogenic differentiation of MSCs, MTT conversion, alkaline phosphatase activity, and gene expression for collagen I, osteocalcin, bone sialoprotein and osteopontin were analyzed, and at 21 days the mineralized nodule number was analyzed. MSCs from bone marrow of rats with osteoporosis had a slower osteogenic differentiation compared to rats without osteoporosis. The treatment with T3

enhanced the osteogenic differentiation of MSCs from bone marrow of rats with osteoporosis, however did not improve the osteogenic differentiation of MSCs from adipose tissue.

KEYWORDS: cell culture, osteogenic differentiation, thyroid hormone, ovariectomy, female rats.

INTRODUÇÃO

Os hormônios tireoidianos são fundamentais para o crescimento e desenvolvimento de vários órgãos e tecidos (NUNES, 2003), incluindo o tecido ósseo (PEPENE et al., 2001). Além disso, foi comprovado que a triiodotironina (T3) também estimula a diferenciação osteogênica *in vitro* das células tronco mesenquimais (CTM) da medula óssea de ratas saudáveis (BOELONI et al., 2009).

Um dos mecanismos pelo qual a deficiência dos esteróides sexuais induz osteoporose é por reduzir a diferenciação osteogênica das CTM da medula óssea (OCARINO et al., 2008). No entanto, até o presente momento não se sabe se a deficiência dos esteróides sexuais também reduz a diferenciação osteogênica das células tronco do tecido adiposo.

A injeção intra-óssea de CTM no fêmur de ratas pode reverter a osteoporose local (OCARINO et al., 2010). O uso de CTM é seguro não induzindo rejeição pelo sistema imune quando as células tronco são oriundas do próprio paciente. Mas como a osteoporose reduz a diferenciação osteogênica das CTM, o indivíduo com osteoporose não é um doador adequado, a menos que suas CTM tenham restaurado *in vitro* sua capacidade de diferenciação osteogênica. Por isso, o objetivo deste estudo é verificar o efeito do tratamento *in vitro* com T3 sob a diferenciação osteogênica das CTM do tecido adiposo e da medula óssea de ratas com osteoporose e compará-la à de ratas sem osteoporose.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 18 ratas Wistar adultas saudáveis (n=6), jovens saudáveis (n=6) e adultas com osteoporose (n=6). As ratas jovens e adultas tinham um e cinco meses de idade, respectivamente. A osteoporose foi induzida três meses após ovariectomia bilateral e comprovada por histomorfometria óssea. Foram colhidas CTM da medula óssea da tíbia e do fêmur e CTM do tecido adiposo do omento. Tanto as CTM da medula óssea quanto do tecido adiposo foram cultivadas em DMEM enriquecido a 37°C e 5% de CO₂. A caracterização fenotípica das CTM de todos os grupos foi realizada por meio da pesquisa, por citometria de fluxo, da expressão de CD45, CD54, CD73 e CD90. Tanto as células do tecido adiposo quanto da medula óssea foram distribuídas em sete grupos: 1) CTM de ratas jovens sem osteoporose; 2) CTM de ratas adultas sem osteoporose; 3) CTM de ratas adultas com

osteoporose sem T3; 4, 5, 6 e 7) CTM de ratas adultas com osteoporose tratadas com T3 (0,01nM, 1nM, 100nM e 1000nM, respectivamente). Foram avaliados: a atividade da fosfatase alcalina, a conversão do substrato dimetiltiazol (MTT) em cristais de formazan e a expressão de colágeno tipo I, osteocalcina, sialoproteína óssea e osteopontina, por RT-PCR em tempo real aos sete e 21 dias de diferenciação osteogênica. O número de nódulos de mineralização foi avaliado aos 21 dias de diferenciação. Os dados foram submetidos à análise de variância com comparação das médias pelo teste SNK.

RESULTADOS

Tanto as células da medula óssea quanto do tecido adiposo, independente do grupo, apresentaram características fenotípicas compatíveis com as de células tronco.

As CTM de ratas adultas, independente da fonte, apresentaram menor diferenciação osteogênica quando comparadas às CTM de ratas jovens. Na cultura dessas células, houve redução da conversão do MTT em formazan, da atividade da fosfatase alcalina, do número de nódulos de mineralização e da expressão de proteínas colagênicas e/ou não colagênicas em pelo menos um dos períodos estudados ($p < 0,05$).

O efeito da osteoporose, induzida pela deficiência dos esteróides sexuais, foi mais marcante na redução da diferenciação osteogênica das CTM da medula óssea do que do tecido adiposo, uma vez que maior número das variáveis analisadas foi significativamente alterado pela deficiência dos esteróides sexuais nas CTM da medula óssea. Além disso, o tratamento com T3 foi capaz de melhorar a diferenciação osteogênica somente das CTM da medula óssea.

DISCUSSÃO

Os efeitos da idade, da deficiência dos esteróides sexuais para indução da osteoporose e do tratamento *in vitro* com T3 variaram de acordo com a origem das CTM e com o período de cultivo. O aumento da idade reduziu significativamente a diferenciação osteogênica das CTM da medula óssea e do tecido adiposo. A redução da diferenciação osteogênica das CTM da medula óssea causada pela idade também foi observada por outros pesquisadores (KRETLOW et al., 2008). No entanto, com relação às CTM do tecido adiposo, já havia sido relatado que a idade não reduz a diferenciação osteogênica (ZHU et al., 2009).

Assim, como previamente descrito por OCARINO et al. (2008), a deficiência dos esteróides sexuais reduz a diferenciação osteogênica das CTM da medula óssea. Resultado surpreendente foi observado quando da adição de T3 nessas culturas, onde houve melhora significativa da diferenciação osteogênica das CTM. O resultado positivo da adição de T3 na

diferenciação osteogênica das CTM da medula óssea de ratas com osteoporose também já havia sido observado nas CTM de doadores saudáveis (BOELONI et al., 2009).

No entanto, apesar da deficiência dos esteróides sexuais alterar alguns dos parâmetros analisados nas CTM do tecido adiposo, o tratamento com T3 não foi eficiente em melhorar o potencial osteogênico dessas células. Este resultado é intrigante, pois essas células apresentam receptores para T3 (ORTEGA et al., 2009). Assim, mais estudos são necessários a fim de explicar o porquê dessas diferenças entre as CTM do tecido adiposo e da medula óssea.

CONCLUSÕES

A deficiência dos hormônios sexuais, induzida pela ovariectomia, compromete mais a diferenciação osteogênica das CTM da medula óssea do que do tecido adiposo, sendo melhor a resposta das células da medula óssea ao tratamento com T3 para melhorar a diferenciação osteogênica.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, Fapemig e PRPq.

REFERÊNCIAS

- BOELONI, J.N.; OCARINO, N.M.; BOZZI, A. et al. Dose-dependent effects of triiodothyronine on osteogenic differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells. **Hormone Research**, v. 71, n. 2, p. 88-97, 2009.
- KRETLOW, J.D.; JIN, Y-Q; LIU, W.; ZHANG, W. J.; HONG, T-H.; ZHOU, G.; BAGGETT, L. S.; MIKOS, A. G.; CAO, Y. Donor age and cell passage affects differentiation potential of murine bone marrow-derived stem cells. **BMC Cell Biology**, v. 9, n. 60, p. , 2008.
- NUNES, M. T. Hormônios tireoideanos: mecanismo de ação e importância biológica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 47, n. 6, p. 639-643, 2003.
- OCARINO, N. M.; BOELONI, J. N.; GOES, A.M.; SILVA, J.F.; MARUBAYASHI, U.; SERAKIDES, R. Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells from osteopenic rats subjected to physical activity with and without nitric oxide synthase inhibition. **Nitric Oxide**, v. 19, n. 4, p. 320-325, 2008.
- OCARINO, N.M.; BOELONI, J. N.; JORGETTI, V.; GOMES, D. A.; GOES, A. M.; SERAKIDES, R. Intra-bone marrow injection of mesenchymal stem cells improves the femur bone mass of osteoporotic female rats. **Connective Tissue Research**, v. 51, n. 6, p. 426-433, 2010.
- ORTEGA, F. J.; MORENO-NAVARRETE, J. M.; RIBAS, V.; ESTEVE, E.; RODRIGUEZ-HERMOSA, J. I.; RUIZ, B.; PERAL, B.; RICART, A. W.; ZORZANO, A.; FERNÁNDEZ-REAL, J. M. Subcutaneous fat shows higher thyroid hormone receptor- $\alpha 1$ gene expression than omental fat. **Obesity**, v. 17, n. 12, p. 2134-2141, 2009.
- PEPENE, C.E.; KASPERK, C.H.; PFEILSCHIFTER, J. et al. Effects of triiodothyronine on the insulin-like growth factor system in primary human osteoblastic cells *in vitro*. **Bone**, v. 29, n. 6, p.540-546, 2001.
- ZHU, M.; KOHAN, E.; BRADLEY, J.; HEDRICK, M.; BENHAIM, P.; ZUK, P. The effect of age on osteogenic, adipogenic and proliferative potential of female adipose-derive stem cells. **Journal of tissue engineering and regenerative medicine**, v. 3, n. 4, p. 290-301, 2009.

AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA DAS ALTERAÇÕES ENCONTRADAS EM ÓRGÃOS DE BOVINOS EM FRIGORÍFICOS NA REGIÃO DE ARAGUAÍNA-TO
MICROSCOPIC EVALUATION OF ORGANS CHANGES FOUND IN SLAUGHTERHOUSE IN ARAGUAÍNA REGION – TO

Lázaro Moreira de Melo Júnior¹, Antônio Aires França Júnior¹, Anderson Barbosa Milhomen², Domenica Palomaris Mariano de Souza³, Silvia Minharro Barbosa⁴, Viviane Mayumi Maruo⁴, Adriano Tony Ramos⁴

1. Graduando, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal do Tocantins (UFT), Araguaína, Tocantins, Brasil.
2. Médico Veterinário Concursado do Município de Araguaína, Tocantins, Brasil.
3. Bolsista PRODOC-CAPES do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, Araguaína, Tocantins, Brasil.
4. Professor, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal do Tocantins (UFT), Araguaína, Tocantins, Brasil. E-mail: adrianotony@hotmail.com

PALAVRAS-CHAVE: inspeção, saúde pública, histopatologia

ABSTRACT

Brazil is the great meat exporter of the world, with 32% of total world exportations. The partial or total condemnation of carcasses or organs by Federal Inspection Service (SIF) during inspection constitutes economical losses for slaughterhouse however ensures public and animal health. So, our results showed that 434 samples condemned by the SIF in 3 slaughterhouses located in Araguaína-TO were positive (322), negative (24), complemented (73) and 15 without microscopic changes. So, training of personnel and guides to good practice should be implemented.

KEYWORDS: inspection, public health, histopathology.

INTRODUÇÃO

O agronegócio brasileiro é detentor de 32% das exportações mundiais, movimentando no ano de 2008 mais de 2,2 milhões de toneladas de carne bovina (FAO, 2008).

No que se refere à exportação de carne bovina, o Serviço de Inspeção Federal (SIF) apresenta grande importância como órgão fiscalizador, em relação à saúde pública, além de gerar dados consistentes através de seus relatórios e estudos epidemiológicos regionais e nacionais (ALMEIDA, 2006).

Durante a avaliação macroscópica pode haver falhas diagnósticas, pois algumas lesões apresentam macroscopia semelhante. Neste contexto, exames complementares como o histopatológico, fornecem informações que permitem a tomada de medidas sanitárias preventivas pelos setores responsáveis pela saúde animal e saúde humana (ALMEIDA, 2006).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar microscopicamente as alterações encontradas nas linhas de inspeção, uma vez que há pleno conhecimento sobre as doenças que acometem os bovinos do estado.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de animais abatidos em três frigoríficos-matadouros da região de Araguaína-TO, todos sobre regime do Serviço de Inspeção Federal. As coletas foram realizadas semanalmente em sistema de rodízio, no período de 12/2009 a 04/2011. Cerca de 10 a 20 fragmentos foram coletados de órgãos condenados pela avaliação macroscópica, segundo os critérios de coloração, textura e forma dos órgãos, estabelecidos pelos os funcionários das linhas do SIF.

As amostras obtidas foram encaminhadas ao Laboratório de Patologia Animal da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia (EMVZ) da Universidade Federal do Tocantins (UFT). Inicialmente os tecidos foram fixados com formol a 10%, e preparadas de forma rotineira, para histopatologia. As lâminas analisadas por microscopia de luz.

De acordo com o diagnóstico obtido na análise microscópica, os resultados foram classificados em: positivo, os quais as causas de condenação coincidiam com a microscopia; negativo, onde a causa de condenação foi divergente as encontradas na microscopia; complementado, de forma que os tecidos apresentavam além da lesão que levou a sua condenação, alguma outra alteração patológica; sem-alteração, caracterizado quando não havia nenhum processo patológico no tecido analisado.

RESULTADOS

Na tabela 1 são apresentados o diagnóstico das 434 lâminas analisadas.

TABELA 1: Diagnóstico microscópico de vísceras condenadas pelo SIF na região de Araguaína-TO.

ÓRGÃO CONDENAÇÃO	DIAGNÓSTICO MICROSCÓPICO				Total geral
	COMPL.	NEG.	POSIT.	SEM ALT.	
BAÇO			5		5
CONGESTÃO			5		5
CORAÇÃO	4		10	3	17
CISTICERCOSE			3		3
CONGESTÃO	2		1		3
PERICARDITE	2		6	3	11
FÍGADO	24	16	125	4	169

ABCESSO	6	7	31	1	45
CIRROSE	8	1	33	2	44
CONGESTÃO	1		2		3
HEPATITE	1				1
HIDATIDOSE	2	3	10		15
MELANOSE		1			1
PERIEPATITE	1	1	9	1	12
TELEANGIECTASIA	5	3	40		48
INTESTINO DELG.	20	1	26		47
ESOFAGOSTOMOSE	20	1	26		47
LINFONODO		1	13		14
ABCESSO			1		1
LINFADENITE		1	12		13
PULMÃO	3	4	101	5	113
ABCESSO		1	2		3
ASPIRADO DE SANGUE			5	1	6
ASPIRADO RUMINAL		2			2
BRONQUITE				2	2
CONGESTÃO			27		27
ENFISEMA	3	1	57	1	62
HIDATIDOSE PULMONAR			1		1
LINFONODO HEMAL			11	1	12
RIM	22	1	32	3	58
ABCESSO			1		1
ANEMIA				3	3
CISTO URINÁRIO	8		10		18
CONGESTÃO	1				1
ESQUEMIA	2				2
NEFRITE	1	1	19		21
URONEFROSE	10		2		12
TRAQUÉIA		1	8		9
BRONQUITE		1	8		9
Total geral	73	24	322	15	434

Os dados revelam que 74,2% dos diagnósticos foram positivos, corroborando com as causas de condenação dadas pelo SIF. Por outro lado, 16,82% dos diagnósticos foram complementados (73/434). Os principais órgãos complementados foram: o fígado onde as principais alterações que complementaram os diagnósticos foram hepatite (12/24 – 16,43%) e cirrose (9/24 – 12,32%) (9/24 – 12,32%); no rim a nefrite foi a principal alteração complementar representando 30,1% de casos; no intestino delgado foi diagnosticada enterite associada à esofagostomose, representando 27,4% dos casos e o coração, representando 5,47% teve o seu diagnóstico complementado pela presença de *Sarcocystis* sp.

O diagnóstico negativo (24/434) foi dado para 5,52% das amostras, assim, o fígado apresentando hepatite (8/16) e cirrose (4/16) e pulmão apresentando enfisema (2/4) e aspirado de sangue (2/4) foram os órgãos que apresentaram maior erro.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesse estudo apontam a condenação desnecessária dos órgãos pelo SIF, uma vez que, em alguns casos o diagnóstico microscópico realizado não revelou alterações aparente. No nosso estudo essas perdas representam 3,45% das condenações, resultando em prejuízos para a cadeia produtiva, ainda se forem considerados apenas os órgãos nobres como fígado e rim essas perdas são de 2,36% e 5,17% respectivamente. Esses dados corroboram aos estudos conduzidos por Mendes & Pilati (2007) realizado junto ao SIE, os quais apontam a condenação desnecessária de 7,2% das 167 amostras de fígado e de 3,42% das 117 amostras de rins sem alterações microscópicas (MENDES & PILATI, 2009).

Ao observar os dados com diagnóstico negativo (5,52%) fica evidente a existência de falhas no critério de julgamento dos órgãos, como relatado por Almeida (2006).

Os resultados obtidos por Mendes & Pilate (2009) demonstram que 20,51% dos rins avaliados foram condenados por nefrite e 17,09% condenados por cisto urinário. De forma semelhante, na presente investigação a nefrite foi o diagnóstico complementar para 31,03% das amostras avaliadas microscopicamente.

CONCLUSÃO

Considerando que há falta de acurácia na linha de inspeção e falhas no critério de julgamento para as condenações, faz-se necessário o treinamento do profissional da linha de inspeção, bem como aperfeiçoamento das técnicas de abate. Assim, medidas desta natureza reduziriam os custos de produção da indústria por condenações inadequadas e assegurariam o destino apropriado das carcaças e vísceras provenientes do abate de bovinos.

AGRADECIMENTOS

O projeto recebeu apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq - Brasil. (Processo CNPq: 481601/2010-4). Agradecimento as técnicas Elis Regina Negri e Gilzelle Maria da Luz Silva.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, D. O. Cisticercose bovina em matadouro sob inspeção sanitária em Teixeira de Freitas-BA. I- Prevalência da enfermidade. II- Análise anátomo patológica de diagnósticos. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Higiene Veterinária e processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal). **Universidade Federal Fluminense** – Niterói, RJ. 65p. 2006
- FAO – Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. **Statistical Databases**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 01 de dez de 2008
- MENDES, R. E.; PILATI, C. Estudo morfológico de fígado de bovinos abatidos em frigoríficos industriais sob inspeção estadual no Oeste e no Planalto de Santa Catarina, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.6, p.1728-1734. 2007
- MENDES, R. E.; PILATI, C. Estudo morfológico de rins de bovinos abatidos em frigoríficos industriais sob inspeção estadual no oeste e planalto catarinense, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Santa Maria, v. 10, n. 1, p. 281-287, jan./mar. 2009

ALTERAÇÕES DO TRATO GASTROINTESTINAL DE RATOS SUBMETIDOS À DIETA COM LEITE DE VACAS INTOXICADAS POR *Pteridium arachnoideum*
CHANGES OF THE GASTROINTESTINAL TRACT OF RATS SUBMITTED TO THE DIET WITH MILK OF COWS INTOXICATED BY *Pteridium arachnoideum*

Leandro Egert¹, João Paulo Oliveira Santos Ribeiro de Souza¹, Patrícia Gusmão Guimarães Giuriato², Anderson Barros Archanjo³, Marcelo Eustáquio Silva⁴, Dirlei Molinari Donatele⁵,
Louisiane de Carvalho Nunes⁵

1. Graduando em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, Espírito Santo, Brasil.
2. Residente em Patologia Veterinária do Centro Universitário de Vila Velha, Vila Velha, Espírito Santo, Brasil.
3. Graduando em Farmácia, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, Espírito Santo, Brasil.
4. Professor Associado III, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil.
5. Professor Adjunto III, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, Espírito Santo, Brasil. E-mail: louisiane@cca.ufes.br.

PALAVRAS-CHAVE: HEB, samambaia, leite, neoplasia, histopatologia.

ABSTRACT

This work aims to evaluate in rats experimentally intoxicated with *P. arachnoideum* and milk from cows with enzootic hematuria. Were used 48 rats in two experiments: evaluation in short-term (60 days) and medium term (90 days). At each stage, the animals were divided into three groups (n = 8): Group 1 = control, administration by gavage of distilled water, Group 2 = administration by gavage of aqueous extract of bracken fern, Group 3 = administration by gavage raw milk of contaminated cows. The animals were necropsied and collected samples for histopathology. All animals showed hyperplasia of intestinal lymphoid tissue, more evident in Group 3. There was inflammatory infiltration in the intestine of animals in Groups 1 and 2. The most striking change was found in the stomach of an animal in group 3 that revealed epithelial hyperplasia and squamous cell carcinoma *in situ*. Although it has been observed low occurrence of cancer in this study, it is believed that milk from cows with EBH may induce gastrointestinal cancer and therefore, the consumption of raw milk by humans should not be indicated.

KEYWORDS: BEH, bracken fern, milk, neoplasm, histopathology.

INTRODUÇÃO

Pteridium arachnoideum é uma planta com ampla distribuição geográfica que causa sérios problemas de intoxicação em animais (TOKARNIA et al. 2000). Os humanos também

podem se intoxicar pela ingestão da planta, contato físico com os esporos e ingestão do leite cru de animais contaminados (POTTER e BAIRD, 2000).

A concentração do princípio tóxico (ptaquilosídeo) no leite de animais contaminados corresponde a 8,5% da quantidade ingerida pelo animal (ALONSO-AMELOT et al.,1996). O leite destes animais já foi administrado em camundongos com alta incidência de tumores, especialmente os de mama (VILALOBOS-SALAZAR,1989). De acordo com Silva et al. (2009), na microrregião do Caparaó, Espírito Santo, a planta existe em vasta escala e é alta a prevalência de intoxicação em bovinos. Além disto, os humanos consomem o leite destes animais. Objetivou-se com este trabalho avaliar as alterações anátomo-histopatológicas do trato gastrointestinal de ratos submetidos à dieta com leite cru (*in natura*) proveniente de vaca com hematúria enzoótica, do município de Ibitirama, ES, com alta prevalência de HEB.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras frescas de brotos de *P. arachnoideum* foram colhidas de setembro a novembro de 2010, no município de Ibitirama, ES. Três a cinco gramas do broto seco foram diluídos em 50 mL de água destilada, filtrado e estocado a 4 °C. O uso do extrato da planta foi utilizado como controle positivo das lesões neoplásicas. O leite *in natura* foi coletado de vacas com HEB da mesma fazenda onde foi coletada a planta.

48 ratos Fisher, fêmeas, com 60 dias de idade foram utilizados em dois experimentos, um de avaliação em curto prazo (60 dias de experimento) e outro em médio prazo (90 dias). Em cada fase, os animais foram divididos em três grupos (n=8), a saber: Grupo 1 = controle, administração por *gavage* de água destilada; Grupo 2 = controle positivo, administração por *gavage* de extrato aquoso de samambaia; Grupo 3 = administração por *gavage* de leite *in natura* proveniente de vacas contaminadas. Durante todo o experimento os animais receberam dieta comercial e água *ad libitum*. Os animais foram necropsiados e fragmentos de esôfago, estômago, duodeno, jejuno, íleo e cólon foram coletados e fixados em formol a 10% e submetidos ao processamento histopatológico de rotina.

Os dados obtidos foram submetidos à análise descritiva. Este protocolo experimental foi aprovado pelo CEUA UFES n° 019/2010.

RESULTADOS

No grupo controle, aos 60 dias, observou-se infiltrado inflamatório linfoplasmocitário discreto no intestino delgado e no intestino grosso em 37.5% (3/8) dos animais e discreta hiperplasia do tecido linfóide associado ao trato gastrointestinal (GALT) em 37.5% (3/8). Aos

90 dias, observou-se 37.5% (3/8) dos ratos com infiltrado inflamatório linfoplasmocitário moderado e 87.5% (7/8) revelaram hiperplasia moderada do GALT.

No grupo extrato da planta, quatro animais morreram durante a realização do experimento, dois do experimento 60 dias e dois de 90 dias. Aos 60 dias, notou-se infiltrado inflamatório linfoplasmocitário discreto no intestino delgado em 25% (2/8) dos animais e moderada hiperplasia do GALT em 37.5% (3/8). Aos 90 dias, observou-se hiperplasia acentuada do GALT em 62.5% (5/8) dos ratos.

No grupo leite cru, dois animais morreram durante a realização do experimento, um no experimento de 60 e um de 90 dias. Aos 60 dias, observou-se infiltrado inflamatório linfoplasmocitário discreto no duodeno em 12.5% (1/8) dos animais e acentuada hiperplasia do GALT em 37.5% (3/8). Aos 90 dias, observou-se infiltrado inflamatório linfoplasmocitário discreto no estômago associado a uma hiperplasia epitelial em 12.5% (1/8) dos ratos. Além disto, neste mesmo animal, observaram-se projeções papiliformes na mucosa e um carcinoma de células escamosas *in situ*. 62.5% (5/8) dos ratos revelaram hiperplasia elevada do GALT.

DISCUSSÃO

Segundo Altman e Goodman (1979), neoplasias espontâneas em intestino delgado representam 1,3 % dos tumores em ratos com idade acima de 18 meses. Neste estudo foi encontrada baixa ocorrência de tumores, 2.08% (1/48). A indução de neoplasias de diferentes origens em ratos pela administração de ração com samambaia, extrato aquoso do broto, leite de vacas que consumiam samambaia ou ptaquilosídeo purificado foi comprovada (Hirono et al., 1982; Santos, Brasileiro-Filho e Hojo, 1987; Villalobos-Salazar, Meneses e Salas, 1990).

Neste estudo, acredita-se que o curto tempo de ingestão do leite possa ter sido um fator limitante para a indução tumoral. Também não foram testados os níveis de ptaquilosídeo no leite utilizado o que também pode ter influenciado na quantidade de toxina administrada. O extrato e o leite coletados, por questões de logística, foram armazenados congelados, e de acordo com Kawai et al. (1981), o armazenamento reduz a toxidez de *P. aquilinum*, isso também poderia ser um fator determinante para a baixa ocorrência de lesões neoplásicas.

Cruz et al. (2005) relataram que amostras brasileiras de *Pteridium aquilinum* não promoveram a formação de neoplasias em ratos após 32 (224 dias) semanas de dieta com uma dose baixa. Já Santos, Brasileiro-Filho e Hojo (1987) encontraram 100% de tumores no íleo de ratos tratados durante 70 (490 dias) semanas com ração contendo 5% de samambaia.

De acordo com Fenwick (1988), em animais de laboratório a carcinogênese promovida pela samambaia é modulada pela dose, processamento da amostra e tempo de exposição e as

lesões mais frequentes são pólipos, adenocarcinomas e sarcomas no final do íleo. Neste estudo o foco tumoral foi encontrado apenas no estômago, entretanto tumores em fígado, mama e bexiga já foram descritos em ratos (HIRONO et al., 1983). Outro fato importante é que a maioria dos estudos experimentais utiliza um agente iniciador da carcinogênese, (Hirono et al., 1982), ou o agente tóxico purificado (Villalobos-Salazar, Meneses e Salas, 1990) diferentemente da forma como foi conduzido este estudo. A opção por não utilização do agente iniciador era comprovar a ação potencialmente carcinogênica da planta na região.

CONCLUSÃO

Embora tenha se observado baixa ocorrência de neoplasias neste estudo, acredita-se que o leite de vacas com HEB possa induzir ao câncer gastrointestinal e portanto, o consumo do leite cru por humanos não deve ser indicado. Estudos com maior tempo de exposição ao princípio tóxico devem ser conduzidos para a comprovação destes dados.

REFERÊNCIAS

- ALONSO-AMELOT, M. E.; CASTILHO, U.; SMITH, B. L.; LAUREN, D. R. Bracken ptaquiloside in milk. **Nature**, London, v.382, p. 587, 1996.
- ALTMAN, N. H.; GOODMAN, D. G. Neoplastic diseases. In: BAKER, H. J.; LINDSEY, J. R.; WEISBROTH, S. H. **The Laboratory Rat**, v. 1, Academic Press: New York, 1979, p. 333-376.
- CRUZ, G. D.; BRACARENSE, A. P. F. R. L.; YAMASAKI, L.; CORTEZ, D. E. A. Alterações anátomo-histopatológicas em ratos submetidos à dieta com extrato de broto de samambaia (*Pteridium aquilinum* var. *arachnoideum*) de dois municípios do estado do Paraná. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.57, n.3, p.409-411, 2005.
- FENWICK, G. R. Bracken (*Pteridium aquilinum*) toxic effects and toxic constituents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, United States, v.46, p.147-173, 1988.
- HIRONO, I.; HOSAKA, S.; KUHARA, K. Enhancement by bracken of induction of tumours of the upper alimentary tract by N-propyl- N-nitrosourethan. **British Journal of Cancer**, London, v.46, p.423-427, 1982.
- HIRONO, I.; AISO, S.; HOSAKA, S.; YAMAJI, T.; HAGA, M. Induction of mammary cancer in CD rats fed bracken diet. **Carcinogenesis**, London, v.4, p. 885-887, 1983.
- KAWAI, T.; TAKANISHI, H.; NAKAYAMA, M.; MORI, H.; HIRONO, I. Effect of storage on carcinogenic activity of bracken fern. **Cancer Lett**, Oxford, v. 12, p. 29-35, 1981.
- POTTER, D. M.; BAIRD, M. S. Carcinogenic effects of ptaquiloside in bracken fern and related compounds. **British Journal of Cancer**, London, v. 83, n. 7, p. 914-920, 2000.
- SILVA, M. A.; SCÁRUA, C. M.; DÓREA, M. D.; NUNES, L. C.; MARTINS, I. V. F.; DONATELE, D. M. Prevalência de hematúria enzoótica bovina em rebanhos leiteiros na microrregião do Caparaó, Sul do Espírito Santo, entre 2007 e 2008. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.6, 2009.
- SANTOS, R. C.; BRASILEIRO-FILHO, G.; HOJO, E. S. Induction of tumors by bracken fern (*Pteridium aquilinum*) from Ouro Preto, MG, Brazil. **Brazilian Journal Medical Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 20, p. 73-77, 1987.
- TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. 310p.
- VILLALOBOS-SALAZAR, J.; MENESES, A.; ROJAS, J. L.; MORA, J.; PORRAS, R. E.; HERRERO, M. V. Bracken derived Carcinogens as affecting Animal Health and Human Health. In: TAYLOR, J. Bracken Toxicity and Carcinogenicity as related to animal and human health. Institute of Earth Studies. Bangor: Wales, 1999, p. 40-51.
- VILLALOBOS-SALAZAR, J.; MENESES, A.; SALAS, J. Carcinogenic effects in mice of milk from cows fed on bracken fern *Pteridium aquilinum*. **The Australian Institute of Agricultural Sciences**, Curtin, v.40, p.247-251, 1990.

EFEITOS DOS EXTRATOS DE FOLHAS *Brunfelsia sp.* EM CAMUNDONGOS

SWISS

EFFECTS OF LEAF EXTRACTS *Brunfelsia sp.* IN SWISS MICE

Ciro José Sousa de Carvalho¹, Marília Martins Melo², Ana Flávia Ribeiro³, Bruno Benetti Junto Torres³, Franklin Riet-Correa⁴, Roberto Maurício Carvalho Guedes², Vanny Perpétua Ferraz⁵, Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva¹.

1. Pós-graduando em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, PI - Brasil
2. Professores da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG - Brasil.
3. Pós-Graduandos em Ciência Animal- Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG - Brasil
4. Professor da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos, PB – Brasil
5. Dra. Vanny Perpétua Ferraz, Laboratório de Cromatografia (UFMG), Belo Horizonte, MG- Brasil.
6. Professora do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária-Patologia Animal, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, PI –Brasil. Email: sissivet@yahoo.com.br (autor correspondente)

ABSTRACT

In Brazil, more than 16 known species of plants toxic to livestock interest that affect the central nervous system. *Brunfelsia sp.* As reported by the producers of Piauí as toxic to ruminants and donkeys. To prove its toxicity leaves collected in the municipalities of Caraubas-PI, were dried and crushed and made the prospect of its chemical constituents. The experiment was divided in G1-alkaloids, flavanodes-G2, G3, saponins, total extract G4-and G5-saline). After administration at a dose of extracts (5g/kg) mice were observed individually and by group for evaluation of clinical symptoms. Moderate to severe nervous signs were seen in G1, G2, G3 and G4, Sudden death occurred in G3 between 10 and 20 minutes post-gavage partial discretas. The G5 animals received saline and showed no clinical change . It is concluded that all extracts of *Brunfelsia sp.* were toxic to mice. The saponins from the leaves of *Brunfelsia sp.* a greater toxic effect on mice.

PALAVRAS-CHAVE: HPLC, toxicidade, sinais clínicos.

INTRODUÇÃO

As razões que levam os animais a ingerirem as plantas nocivas são a falta de pastagens adequadas e a escassez de alimentos, (ANDRADE & MATTOS, 1968). No Brasil são conhecidas mais de 16 espécies de plantas tóxicas de interesse pecuário que afetam o sistema nervoso central. Duas destas plantas causam quadros convulsivos, a *Halimium brasiliense* (Cistaceae) que afetam ovinos maiores de dois anos (RIET-CORREA et al., 2007) e a

Brunfelsia pauciflora que experimentalmente revelaram toxicidade em bovinos (TOKARNIA et al., 1991).

Levantamento realizado na Mesorregião Norte Piauiense em 2009 apontou a existência de plantas relatadas como tóxicas, mas sem comprovação científica como é o caso da *Brunfelsia* sp conhecida popularmente como “manacá” por produtores, que relatam casos de intoxicações em asininos, ovinos e bovinos após ingerirem folhas e flores. Os principais sinais clínicos são alterações nervosas, perda de equilíbrio, tremores, e os animais recuperam-se quando retirados do local (MELLO et al., 2010).

Sabe-se que o gênero *Brunfelsia* pertence à Família *Solanaceae* e consiste em 40 diferentes espécies. São ricas em alcalóides e nativas na América do Sul, Central e no oeste da Índia. Recente estudo descreve quatro casos de intoxicação acidental cães nos Estados Unidos, onde esta planta é bastante cultivada em jardins. Os cães intoxicados apresentaram apatia, diarreia, respiração ofegante, engasgos, irritação bucal, ataxia, ansiedade, vômitos, convulsões, tremores e hiperestesia de membros, nistagmo e urinação profusa. (SINGH, M. et al., 2008).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos dos extratos de folhas de *Brunfelsia* sp. em camundongos Swiss, comparando os sinais clínicos com o quadro de intoxicação relatado por produtores em casos espontâneos.

MATERIAL E MÉTODOS

As folhas de *Brunfelsia* sp coletadas no município de Caraúbas- PI, foram secas e trituradas 200g em moinho, em seguida realizou-se a prospecção de constituintes químicos, por extração aquosa ácida (EAA) e extração aquosa básica (EAB) (ABREU MATOS, 1988). As extrações das folhas de *Brunfelsia* produziram 4 extratos ricos em diferentes grupos químicos: Extrato 1: rico em saponinas, Extrato 2: rico em alcalóides, Extrato 3: rico em açúcares, antocianinas, ácidos orgânicos, Extrato 4: rico em flavonóides. Todos os 4 extratos foram retomados em água, ajustados para pH 6 e mantidos na concentração correspondente a 20g de folhas de *Brunfelsia* sp. para 1ml de extrato. A confirmação da classe química principal em cada extrato foi feita pelo método de prospecção de constituintes químicos de extratos de plantas (1) e por espectrometria de infravermelho (IV). O perfil cromatográfico dos constituintes de cada extrato foi obtido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). O experimento foi dividido em 5 grupos contendo 5 animais por grupo (G1- alcalóides, G2- flavanóides, G3- saponinas, G4- extrato total e G5- solução salina). Após

administração dos extratos na dose (5g/kg) os camundongos foram avaliados individualmente e por grupo para avaliação de sinais clínicos.

RESULTADOS

Os animais do G1 (alcalóides), apresentavam crises epiléticas parciais graves, piloereção após 10 min. da administração do extato. No G2 (Flavanóides) ,crises epiléticas parciais moderada piloereção, surgiram 57 min, após administração do extrato, . . Observou-se(quantos) óbito no G3 (saponinas) entre 15 e 20. Os animais intoxicados com a fração saponina apresentaram sinais neurológicos moderados a graves, e morte súbita por parada cardíaco-respiratória.O G4 (extrato total) animais tiveram crises epiléticas parciais discretas. Os animais do grupo controle (G5), não desenvolveram quaisquer sinais clínicos. (Tabela 1) Em todos os grupos foram observados mioclonia de cabeça e tremores de mebrros.

Tab. 1 – Sinais clinicos e evolução observados na intoxicação por diferentes extratos de Brunfelsia sp. em camundongos.

Grupos	Extrato	Nº de animais	Dose	Tempo de início pós-gavagem	Crises epiléticas	Piloereção	Óbito
G1	Alcalóides	5	5g/kg	10 min	+++	+++	Não
G2	Flavanóides	5	5g/kg	57 min	++	++	Não
G3	Saponinas	5	5g/kg	10 min	+++	+++	Em todos
G4	Total	5	5g/kg	30 min	+	++	Não
G5	Sol. salina	5	5g/kg	-	Não	Não	Não

+ discreta; ++ moderado; +++ intenso

DISCUSSÃO

Os sinais clínicos observados nos grupos são de cunho neurológico e assemelham-se aos observados na literatura que são atribuídos aos alcalóides (MACBARROM & SAREM 1975). Neste experimento constatou-se que grupo que recebeu extrato saponinas, além de provocar efeitos sobre o sistema nervoso (SNC) também ocasionou óbito, supõe-se que os mesmos ocorreram devido as saponinas possuírem ação lipofílica o que facilita a complexação das saponinas com esteróides, proteínas e fosfolipídeos das membranas celulares alterando a permeabilidade das mesmas, ou causando sua destruição (SCHENKEL et al., 2001). Sabe-se ainda que as saponinas triterpênicas são um grupo de compostos naturais que apresentam um amplo espectro de atividades biológicas e farmacológicas. A sua

atividade mais comum é a capacidade de produzir hemólise. Essa propriedade é resultado da interação das suas moléculas com colesterol presentes na membrana de eritrócitos resultando na mudança conformacional da membrana levando a uma penetração de íons e água para dentro da célula com conseqüente rompimento celular e liberação de hemoglobina (HARUNA et al., 1995).

No presente estudo os diferentes extratos tiveram efeitos sobre o SNC em todos os animais, porém em intensidades diferentes, assemelhando-se com experimentos realizados (SPAINHOUR et al., 1990), onde investigaram os efeitos toxicológicos de *Brunfelsia calcyne* var. pauciflora B em três espécies em camundongos, ratos e cães e que foi comprovado que todas as partes da planta eram tóxicas e produziam sinais semelhantes nas espécies animais estudadas.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que todos os extratos de *Brunfelsia sp.* foram tóxicos aos camundongos causando sinais como convulsões, ataques epileptiformes, piloereção e que a saponina parece ter efeito letal. Os sinais clínicos observados nos camundongos assemelham-se aos observados no animais intoxicados a nível de campo .

REFERÊNCIAS

- ABREU MATOS, F. J. Introdução a Fotoquímica Experimental, Editora UFC, Fortaleza, 1988.
- ANDRADE, S. O.; MATTOS, J. R. Contribuição do estudo de plantas tóxicas no Estado de São Paulo. **Instituto Biológico**, São Paulo, 1968, 101p.
- ANDRÉAS, HAMPP, **Journal Chemical Education**, v.73, 1172p., 1996.
- HARUNA, M.; TANAKA, M.; SUGIMOTO, T.; KOJIMA, R.; SUZUKI, Y.; KONOSHIMA, T.; KOZUKA, M.; ITO, K. Alteration of Na⁺ permeability in human erythrocytes as studied by ²³Na-NMR and inhibition of the kidney Na⁺,K⁺-ATPase activities with saponins: Interaction of *Gleditsia* saponins with human erythrocyte membranes. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.5, p.827-830, 1995.
- MACBARRON, E. J.; DE SAREM, W. Poisoning of dogs by the fruits of the garden shrub *Brunfelsia bonodora*. **Australian Veterinary Journal**, v. 51, p-280, 1975.
- SCHENKEL, E. P.; ZANINNIN, M.; MENTZ, L. A.; BORDIGNON, S. A. L.; IRGANG, B. (2001). Plantas Tóxicas. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L.A. & Petrovick, P.R. (eds.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3^a. ed., Editora Universidade/UFRGS.
- SPAINHOUR JUNIOR, C. B.; FISKE, R. A.; FLORY, W.; REAGOR, J. C. A Toxicological Investigation of the Garden Shrub *Brunfelsia Calcyne* var. *Floribunda* (Yesterday-Today-and-Tomorrow) in three Species. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 2, p. 3-8, 1990.
- HARKNESS, J.E.; WAGNER, J.E. **Biologia e clínica de coelhos e roedores**. 3.Ed. São Paulo: Roca, 1993. 238p.
- MELLO, G. W. S. et al. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Norte Piauiense. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, p. 1-9, 2010.
- RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. D. C. Intoxicações por plantas e micotoxinas. In: RIET-CORREA, F. et al. (ed). **Doenças dos Ruminantes e Eqüinos**. 3. ed. Santa Maria: Palloti, p. 161-172, 2007.
- SINGH, M.; COWAN, S.; CHILD, G. *Brunfelsia spp* (Yesterday, today, tomorrow) toxicity in four dogs. **Australian Veterinary Journal**, v. 86, p. 214-218, 2008
- TOKARNIA, C. H.; GAVA, A.; STOLF, L.; PEIXOTO, P. V. Intoxicação experimental por *Brunfelsia pauciflora* (Solanaceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 11, p. 9-12, 1991.

EFEITO DO TRATAMENTO TÓPICO (POUR-ON) COM FIPRONIL A 1% SOBRE O PERFÍL BIOQUÍMICO SÉRICO DE RATOS WISTAR JOVENS E ADULTOS
THE EFFECT OF TOPIC TREATMENT (POUR-ON) WITH FIPRONIL 1% ON SERUM BIOCHEMICAL RESPONSE OF YOUNG AND ADULTS WISTAR RATS

Ed Johnny da Rosa Prado¹, Marco Antonio de Andrade Belo², Alessandra Cristina de Moraes³.

1.Mestrando no Departamento de Patologia Veterinária-FCAV/UNESP – Campus de Jaboticabal/SP-Brasil;

2.Professor da Pos-Graduação em Medicina Veterinária-FCAV/UNESP – Campus de Jaboticabal/SP-Brasil.

E-mail: maabelo@hotmail.com ;

3.Graduanda em Medicina Veterinária na Universidade Camilo Castelo Branco (UNICASTELO) - Campus de Descalvado/SP-Brasil.

PALAVRA-CHAVE: Hepatotxicidade, Aspartate Aminotransferase, Alanine Aminotransferase, Inseticidas.

ABSTRACT

This study aims to evaluate the topical treatment with fipronil 1%, administered via "pour on", in Wistar rats and young adult males by assessing liver biochemistry on the response of the animals. A total of 40 animals, 20 young rats and 20 adults rats. These were divided into eight groups of five animals each, constituting the treatments: T1 = control adults (0.1 ml mineral oil per 100g body weight) 24 hours post-treatment (HPT), T2 = adults treated (therapeutic dose of 0, 1 ml of fipronil 1% per 100g) sampled 24 (HPT), T3 = 1.0 mL adult (24 HPT), T4 = 1.0 mL adult (96 HPT) T5 = control youth (24 HPT); T7 = 1.0 mL young (24 HPT), T6 = 0.1 mL young (24 HPT) T8 = 1.0 mL young (96 HPT). The animals were anesthetized prior to blood sampling by caudal vena cava. To determine blood levels of Aspartate Aminotransferase, Alanine Aminotransferase, triglycerides, albumin. The results revealed toxic effects of topical administration of 1.0 mL of Fipronil to 1% of the liver tissue causing biochemical serum of the rats. These findings suggest the possibility of liver cytotoxicity, as well as the change in liver function, which are more significant effects in adult rats.

KEYWORDS: Hepatotxicity, Aspartate Aminotransferase, Alanine Aminotransferase, Insecticides.

INTRODUÇÃO

Os animais estão continuamente expostos a diferentes tipos de substâncias potencialmente tóxicas (NEVIN e VIJAYAMMAL, 2005). A maioria destes compostos químicos induz a peroxidação de lipídios mediada pela presença de radicais livres, resultando na lesão de biomembranas, conseqüentemente, promovendo disfunções celulares e teciduais (CHO et al., 2003).

Em medicina veterinária o fipronil, uma droga derivado fenilpirazol é amplamente utilizada no controle de pulgas, carrapatos, mosca do chifre, quando administrado topicamente em animais domésticos. (PENALIGGON, 1997; HUGNET et al., 1999; JENNINGS et al., 2002).

Com base na grande importância do tecido hepático no metabolismo, de toxicação e inativação de substâncias tóxicas, porém sabendo-se que pode sofrer lesão quando sobrecarregado por estas substâncias (HINTON; LAUREN, 1990; ROSS; PAWLINA, 2008; BELO et al., 2010), este estudo teve por objetivo avaliar o tratamento tópico com fipronil a 1%, administrado via “pour on”, em ratos Wistar machos adultos e jovens, através da avaliação hepática sobre a resposta bioquímica sérica dos animais.

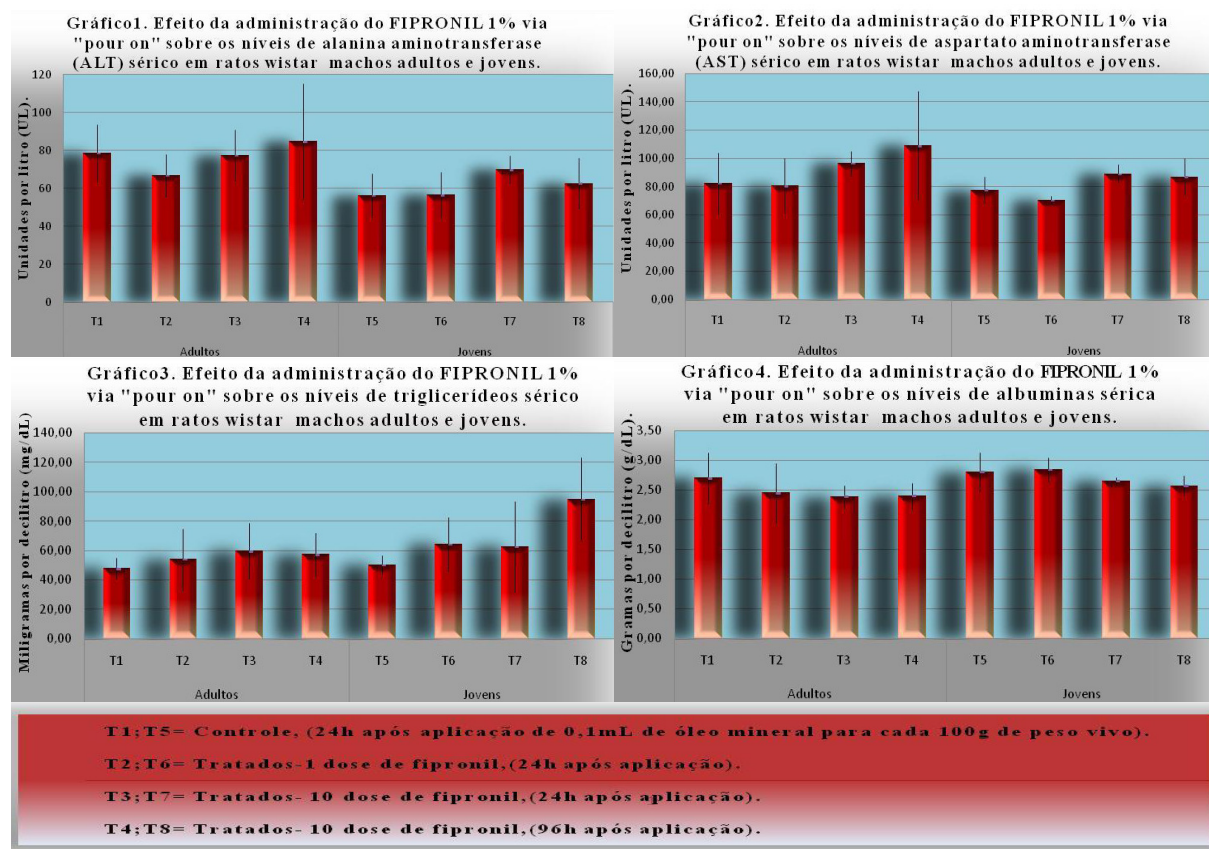
MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 40 animais, sendo 20 jovens com 4 meses e cerca de 120g e 20 adultos com 12 meses e em média pesando 300g, alimentados com ração comercial Labina® e água *ad libitum*. Estes foram divididos em oito grupos de cinco animais cada, constituindo os tratamentos: T1= adultos controle (0,1mL de óleo mineral para cada 100g p.v.) 24 horas pós-tratamento (HPT); T2= adultos tratados (dose terapêutica de 0,1mL de fipronil a 1% para cada 100g p.v.) amostrados 24 (HPT); T3= adultos 1,0 mL (24 HPT); T4= adultos 1,0 mL (96 HPT); T5= jovens controle (24 HPT); T7= jovens 1,0 mL (24 HPT); T6= jovens 0,1 mL (24 HPT); T8= jovens 1,0 mL (96 HPT). Os animais foram previamente anestesiados com associação quetamina e xilasina na proporção de 6:1, para colheita de sangue pela veia cava caudal. Para a determinação dos níveis sanguíneos de Aspartato Aminotransferase (AST), Alanina Aminotransferase (ALT), Triglicerídeos, Albumina, realizadas enzimática e colorimetricamente em analisador bioquímico semi-automático, modelo LabQuest®. Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância através de um delineamento inteiramente casualizado, pelo procedimento PROC MIXED, versão 8.2 Statistical Analysis

System (2001). As comparações múltiplas foram aferidas pelo teste Tukey-Kramer (nível de confiança de 95%).

RESULTADOS

A análise bioquímica sérica revelou um aumento ($P < 0,05$) nos níveis de ALT (Gráf.1) e AST (Gráf.2) nos animais dos grupos (T3;T4) e jovens (T7), na resposta aguda ao tratamento com 1,0 mL/ 100g de p.v., porém em animais jovens (T8) verificou-se recuperação nos níveis séricos de ALT quando avaliados 96 (HPT). Efeitos semelhantes foram observados na análise da funcionalidade hepática com aumento significativo nos níveis circulantes de triglicerídeos em animais de grupos tratados (Gráf.3), assim como, diminuição nos valores de albumina em ratos adultos submetidos à tratamento com fipronil, porém observado o mesmo em animais jovens tratados com 1,0 mL/ 100g de p.v., T7 e T8 (Gráf.4).



DISCUSSÃO

Todas as alterações observadas em ratos tratados com fipronil neste estudo demonstram um efeito clinicamente patológico ao tecido hepático, sendo este mais significante em ratos adultos, por revelarem aumento dos níveis séricos das enzimas encontrados nos hepatócitos. Fipronil conhecido por sofrer exaustivamente biotransformação

nos hepatócitos (U.S.EPA, 1996; TANG et al., 2004; ZHAO et al.; DAS et al., 2006), formando produtos, que apresenta elevada toxicidade e o mesmo ainda sofre intensa recirculação êntero-hepática, possuindo elevado tempo de meia-vida, tornando-se assim, um fator de acréscimo de sua toxicidade (DAS et al., 2006; MOHAMED et al., 2006).

Contudo também observado alterações da funcionalidade hepática, apresentada por aumento de triglicerídeos e diminuição de albumina. Visto que o fígado participa do transporte de triglicerídeos e produz a maioria das proteínas plasmáticas (ROSS; PAWLINA, 2008).

CONCLUSÕES

Os estudos de patologia clínica revelaram os efeitos tóxicos da administração tópica de 1,0 mL de Fipronil a 1% sobre o tecido hepático causando alterações bioquímicas sérica de ratos Wistar. Tais achados sugerem a possibilidade de citotoxicidade hepática, assim como, de alteração na funcionalidade hepática, sendo estes efeitos mais significativos em ratos adultos.

REFERÊNCIAS

- BELO, M.A.A.; SOARES, V. E.; SOUZA, L. M.; SOBREIRA, M. F. R.; CASSOL, D. M. S. AND TOMA, S. B. Hepatoprotective treatment attenuates oxidative damages induced by carbon tetrachloride in rats. **Experimental and Toxicologic Pathology**, 2010. (In Press).
- CHO, E. J.; YOKOZAWA, T.; RHYU, D. Y.; KIM, H. Y. AND SHIBAHARA, N. The inhibitory effects of 12 medicinal plants and their component compounds on lipid peroxidation. **American Journal of Chinese Medicine**, v.31, p.970, 2003.
- DAS, P.C.; CAO, Y.; CHERRINGTON, N.; HODGSON, E.; ROSE, R.L. Fipronil induces CYP isoforms and cytotoxicity in human hepatocytes. **Chem. Biol. Interact.**, v.164, p.200-214, 2006.
- JENNINGS, K.A.; KELLER, R.J.; ATIEH, B.H.; DOSS, R.B.; GUPTA, R.C. Human exposure to fipronil from dogs treated with Frontline. **Vet. Hum. Toxicol.**, v.44, p. 303-303, 2002.
- HUGNET, C.; CADORE, J.L.; BOURDOISEAU, G. Use of fipronil spray (0,25%) for the treatment of *Damalinia equi* (Wereckiella equi) infestation. **Prat. Vet. Equine**, v.31, p.65-68, 1999.
- PENALIGGON, J. Getting to grips with fleas on pet dogs and cats. **Pestic. Outl.**, v.8, p.19-23, 1997.
- MOHAMED, F.; SENARATHNA, L.; PERCY, A.; ABEYEWARDENE, M.; EAGLESHAM, G.; CHENG, R.; AZHER, S.; HITTARAGE, A.; DISSANAYAKE, W.; SHERIFF, M. H. R.; DAVIES, W.; BUCKLEY, N.; EDDLESTON, M. Acute human self-poisoning with the *N*-phenylpyrazole insecticide fipronil – a GABA_A- gated chloride channel blocker. **Journal of toxicology – Clinical Toxicology**, v. 42, n. 7, p. 955-963, 2006.
- NEVIN, K.G.; VIJAYAMMAL, P.L. Effect of *Aerva lanata* against hepatotoxicity of carbon tetrachloride in rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.20, p.471-477, 2005.
- SAS Institute Inc. SAS/STAT software changes Release 8.2. Cary: SAS Institute; 2001.
- TANG, J.; USMANI, K.A.; HODGSON, E.; ROSE, R.L. In vitro metabolism of fipronil by human and rat cytochrome P450 and its interactions with testosterone and diazepam. **Chem. Biol. Interact.**, v.147, n.3, p.319-329, 2004.
- U.S ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *EPA Reviews of: Fipronil (Frontline)*. U.S. EPA Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. 1994-1996.
- ZHAO, X.; YEH, J. Z.; SALGADO, D. L.; NARAHASHI, T. Sulfone metabolite of fipronil blocks γ -aminobutyric acid- and glutamate-activated chloride channels in mammalian end insect neurons. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.314, p.363-373, 2005.
- ROSS, M. H., PAWLINA, W. Histologia em correlação com biologia celular e molecular. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, pp.427-594, 2008.

**ERITROGRAMA DE RATOS WISTAR JOVENS E ADULTOS, TRATADOS
TOPICAMENTE (POUR-ON) COM FIPRONIL A 1%**

**ERYTHROGRAM OF YOUNG AND ADULTS WISTAR RATS, TOPIC TREATMENT
(POUR-ON) WITH FIPRONIL 1%**

Alessandra Cristina de Moraes¹, Ed Johnny da Rosa Prado³,

Marco Antonio de Andrade Belo²

1. Graduanda em Medicina Veterinária na Universidade Camilo Castelo Branco (UNICASTELO) - Campus de Descalvado/SP-Brasil.;

2. Professor da Pos-Graduação em Medicina Veterinária-FCAV/UNESP – Campus de Jaboticabal/SP-Brasil.

E-mail: maabelo@hotmail.com;

3. Mestrando no Departamento de Patologia Veterinária-FCAV/UNESP – Campus de Jaboticabal/SP-Brasil

PALAVRA-CHAVE: Toxicidade, Anemia, Inseticidas.

ABSTRACT

Evaluate the safety of the topical treatment of fipronil 1%, administered via "pour on" in adult male Wistar rats and young people, through the study of hematological parameters. Used 20 young rats and 20 adults rats. Divided into eight groups of five animals each, constituting the treatments: T1 = adults treated (therapeutic dose of 0.1 ml of fipronil 1% per 100g body weight) sampled 24 hours post-treatment (HPT), T2 = control adults (0.1 ml mineral oil per 100g body weight) sampled 24 HPT, T3 = adults treated with 10 times the therapeutic dose and sampled 24 HPT, T4 = adults treated with 10 times the therapeutic dose and sampled 96 HPT; treated young T5 = and sampled 24 HPT T6 = 24 young control sampled HPT, T7 = young treated with 10 times the therapeutic dose and sampled 24 HPT; T8 = young treated with 10 times the therapeutic dose and sampled 96 HPT. Animals were anesthetized and blood collected for the determination of erythrogram. The results suggest a greater susceptibility of adult rats to topical treatment with 10 times the dose of Fipronil, a framework characterized by macrocytic hypochromic anemia, transient, as observed hematological recovery in 96 HPT.

KEYWORDS: Toxicity, Anemia, Insecticides.

INTRODUÇÃO

Os animais estão continuamente expostos a diferentes tipos de substâncias potencialmente tóxicas (NEVIN e VIJAYAMMAL, 2005). Em medicina veterinária o fipronil, uma droga derivado fenilpirazol é amplamente utilizada no controle de pulgas,

carrapatos, mosca do chifre, quando administrado topicamente em animais domésticos. (PENALIGGON, 1997; HUGNET et al., 1999; JENNINGS et al., 2002).

Partindo-se da importância da avaliação eritrocitária para diagnóstico e prognóstico de condições mórbidas nos animais (KERR, 2003) e associado à escassa literatura para o manejo sanitário de biotérios, este ensaio objetivou avaliar a inocuidade do tratamento tópico de fipronil a 1%, administrado via “pour on” em ratos Wistar machos adultos e jovens, através do estudo de parâmetros hematimétricos.

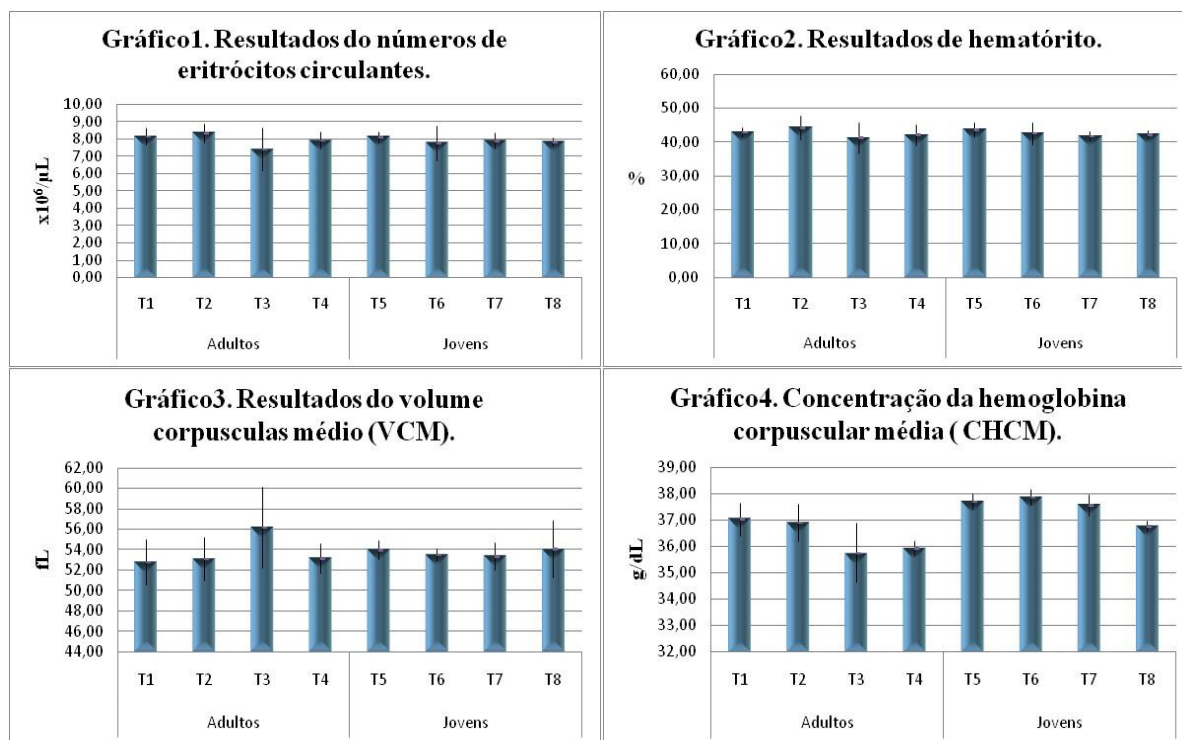
MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 40 animais, sendo 20 jovens com 4 meses e cerca de 120g e 20 adultos com 12 meses e em média pesando 300g, alimentados com ração comercial Labina® e água *ad libitum*. Estes foram divididos em oito grupos de cinco animais cada, constituindo os tratamentos: T1= adultos tratados (dose terapêutica de 0,1ml de fipronil a 1% para cada 100g p.v.) amostrados 24 horas pós-tratamento (HPT); T2= adultos controle (0,1ml de óleo mineral para cada 100g p.v.) amostrados 24 HPT; T3= adultos tratados com 10 vezes a dose terapêutica e amostrados 24 HPT; T4= adultos tratados com 10 vezes a dose terapêutica e amostrados 96 HPT; T5= jovens tratados e amostrados 24 HPT; T6= jovens controle amostrados 24 HPT; T7= jovens tratados com 10 vezes a dose terapêutica e amostrados 24 HPT; T8= jovens tratados com 10 vezes a dose terapêutica e amostrados 96 HPT. Os animais foram anestesiados com associação quetamina e xilasina na proporção de 6:1, para colheita de sangue da veia cava caudal e para a determinação do eritrograma foi utilizado contador automático de células sanguíneas (Modelo CC510, da Celm). Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância através de um delineamento inteiramente casualizado, pelo procedimento PROC MIXED, versão 8.2 Statistical Analysis System (2001). As comparações múltiplas foram aferidas pelo teste Tukey-Kramer (nível de confiança de 95%).

RESULTADOS

A análise da série vermelha revelou uma diminuição ($P < 0,05$) no número total de eritrócitos (Graf.1) e no hematócrito (Graf.2), associado a um aumento no VCM (Graf.3) e diminuição no CHCM (Graf.4), em animais adultos submetidos a dez vezes a dose terapêutica e amostrados 24 HPT (T3), caracterizando um quadro de anemia macrocítica hipocrômica, transitória, pois observou-se recuperação neste quadro hematológico 96 HPT (T4). Não se

constatou alterações hematológicas significativas ($P>0,05$) em animais jovens tratados com diferentes doses de Fipronil.



T1;T5= Controle, (24h após aplicação de 0,1mL de óleo mineral para cada 100g de peso vivo).
T2;T6= Tratados-1 dose de fipronil,(24h após aplicação).
T3;T7= Tratados- 10 dose de fipronil,(24h após aplicação).
T4;T8= Tratados- 10 dose de fipronil,(96h após aplicação).

DISCUSSÃO

Sabendo-se que o fipronil em mamíferos em valores alto no organismo provoca elevada toxicidade e o mesmo ainda sofre intensa re-circulação êntero-hepática, possuindo elevado tempo de meia-vida, tornando-se assim, um fator de acréscimo de sua toxicidade (DAS et al., 2006; MOHAMED et al., 2006). Todas as alterações hematiméricas observadas em ratos adulto tratados com fipronil neste estudo demonstram significativamente uma resposta anêmica transitória. Corroboram com estudos crônicos feitos em ratos que mostraram diminuição dos valores hematológicos e alterações de parâmetros sorológicos sanguíneos (U.S.EPA, 1996).

CONCLUSÃO

Tais achados sugerem uma maior susceptibilidade de ratos adultos ao tratamento tópico com elevadas doses de Fipronil, desde que a resposta hematológica observada pode

estar associada a quadros de intoxicação aguda, pois estas alterações transitórias ocorrerem na fase regenerativa após uma grande perda de hemácias.

REFERÊNCIAS

- DAS, P.C.; CAO, Y.; CHERRINGTON, N.; HODGSON, E.; ROSE, R.L. Fipronil induces CYP isoforms and cytotoxicity in human hepatocytes. **Chem. Biol. Interact.**, v.164, p.200-214, 2006.
- JENNINGS, K.A.; KELLER, R.J.; ATIEH, B.H.; DOSS, R.B.; GUPTA, R.C. Human exposure to fipronil from dogs treated with Frontline. **Vet. Hum. Toxicol.**, v.44, p. 303-303, 2002.
- HUGNET, C.; CADORE, J.L.; BOURDOISEAU, G. Use of fipronil spray (0,25%) for the treatment of Damalinia equi (Wereckiella equi) infestation. **Prat. Vet. Equine**, v.31, p.65-68, 1999.
- KERR, M.G. Glóbulos vermelhos (eritrócitos). In: _____. **Exames laboratoriais em Medicina Veterinária. Bioquímica clínica e hematologia**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2003. Cap.1, p.03-44.
- PENALIGGON, J. Getting to grips with fleas on pet dogs and cats. **Pestic. Outl.**, v.8, p.19-23, 1997.
- MOHAMED, F.; SENARATHNA, L.; PERCY, A.; ABEYWARDENE, M.; EAGLESHAM, G.; CHENG, R.; AZHER, S.; HITTARAGE, A.; DISSANAYAKE, W.; SHERIFF, M. H. R.; DAVIES, W.; BUCKLEY, N.; EDDLESTON, M. Acute human self-poisoning with the *N*-phenylpyrazole insecticide fipronil – a GABA_A- gated chloride channel blocker. **Journal of toxicology – Clinical Toxicology**, v. 42, n. 7, p. 955-963, 2006.
- NEVIN, K.G.; VIJAYAMMAL, P.L. Effect of *Aerva lanata* against hepatotoxicity of carbon tetrachloride in rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.20, p.471-477, 2005.
- SAS Institute Inc. SAS/STAT software changes Release 8.2. Cary: SAS Institute; 2001.
- U.S ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *EPA Reviews of: Fipronil (Frontline)*. U.S. EPA Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. 1994-1996.

**APLICAÇÃO DO PROCESSAMENTO EM MICRO-ONDAS DOMÉSTICO PARA
DIAGNÓSTICO IMUNO-HISTOQUÍMICO RÁPIDO DA RAIVA BOVINA**
APPLICATION OF DOMESTIC MICROWAVE PROCESSING FOR QUICK
IMMUNOHISTOCHEMICAL DIAGNOSTIC OF BOVINE RABIES

Camila Costa Abreu¹, Priscilla Akiko Nakayama², Clayton Israel Nogueira¹, Leonardo Pereira Mesquita¹, Priscila Faria Rosa Lopes¹, Josilene Nascimento Seixas³, Mary Suzan Varaschin³,
Pedro Soares Bezerra Júnior³

1. Mestrando(a), Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG. E-mail: camilacabreu@gmail.com

2. Graduanda, Bolsista Programa de Iniciação Científica Voluntária (PIVIC), Setor de Patologia Veterinária (SPV), Departamento de Medicina Veterinária (DMV), UFLA, Lavras, MG.

3. Professor, SPV, DMV, UFLA, Lavras, MG.

PALAVRAS-CHAVE: bovinos, histopatologia, processamento histológico em micro-ondas, fixação em micro-ondas, vírus rábico.

ABSTRACT

The present study demonstrates the employment of a protocol which uses processing in microwaves for histopathology and fast immunohistochemical diagnosis of rabies in cattle. Through this evaluated protocol, it was possible to reach a temporary diagnosis of rabies in about three hours and half after sample collecting. The immunohistochemical diagnosis was obtained in about six hours after the collect. The protocol demonstrated excellent correlation with direct immunofluorescence, becoming quite useful mainly in situations that only sample in formaline is available for diagnosis.

KEYWORDS: cattle, histopathology, microwave histoprocessing, microwave fixation, rabies virus.

INTRODUÇÃO

A imuno-histoquímica (IHQ) da raiva tem sido empregada como alternativa para a imunofluorescência direta (IFD) em casos de tecidos fixados em formalina em diversas espécies animais (STEIN et al., 2010). A aplicação, relativamente recente, da irradiação de tecidos com micro-ondas para o processamento histológico tem trazido avanços em termos de

redução do tempo para obtenção dos cortes, além de vantagens quanto à preservação de antígenos e ácidos nucleicos (HAFAJEE et al., 2004; SURI et al., 2006).

O objetivo do presente estudo é desenvolver um protocolo alternativo para diagnóstico rápido de raiva, destinado aos casos inadvertidamente remetidos em formalina. Nestas situações, torna-se inviável a realização da IFD para o diagnóstico de raiva, o que pode dificultar a adoção de medidas de controle e profilaxia da doença.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram acompanhados 13 casos de raiva em bovinos na região Sul de Minas Gerais no período de julho de 2010 a maio de 2011. Destes casos, 12 necropsias foram realizadas pela equipe do Setor de Patologia Veterinária da UFLA (SPV-UFLA) e uma foi realizada por um médico veterinário autônomo que encaminhou o material ao SPV-UFLA.

Fragments da medula espinhal, cerebelo, tronco cerebral, hipocampo e córtex cerebral dos bovinos foram congelados e enviados ao Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) para o exame de IFD e inoculação em camundongo nos casos negativos para a IFD.

Durante as necropsias, foram coletados, em solução de formalina 10% tamponada, fragmentos de cerebelo (13/13) e bulbo ao nível do óbex (8/13) de bovinos, com espessura aproximada de 3 mm. Os fragmentos permaneceram em formalina por no mínimo uma hora e no máximo duas horas, período compreendido entre a coleta e o início do processamento no micro-ondas. Dos 13 encéfalos, apenas um foi encaminhado ao SPV já fixado. Após esta fixação prévia, os fragmentos foram clivados em cortes de 1 mm de espessura e irradiados, na mesma solução fixadora, por um minuto na potência máxima (100%), seguido por um minuto e meio na potência mínima (10%) (KAHVECI et al, 1997), em micro-ondas doméstico (NN-S65B, 1000W, Panasonic®).

Após a fixação, os tecidos foram desidratados no micro-ondas, em álcool etílico absoluto na potência de 50%, por quatro minutos; diafanizados em álcool isopropílico na potência de 50%, por quatro minutos, seguidos pela imersão em parafina e irradiação por sete minutos na potência de 80% com outro vasilhame no interior do micro-ondas contendo 200 ml de água (SURI et al., 2006; BOON & KOK, 2008). Após a inclusão em parafina, foram realizados cortes de 5µm em lâminas com gelatina e Silane® (Sigma-Aldrich, USA) para coloração com hematoxilina e eosina (HE) e IHQ, respectivamente.

A técnica IHQ foi realizada segundo protocolo pré-estabelecido (STEIN et al., 2010). Como anticorpo primário foi empregado o anticorpo antirrábico policlonal de cabra (Millipore, 5199) na diluição de 1:500. A IHQ foi processada com e sem recuperação

antigênica. Como controle positivo foi utilizado fragmento de SNC de bovino com raiva, processado de maneira convencional para histopatologia e confirmado previamente pela IFD e IHQ. Como controle negativo foi utilizado fragmento de SNC de bovino submetido à eutanásia devido traumatismo, que apresentou negatividade para raiva na IFD, inoculação em camundongo e na IHQ.

RESULTADOS

O processamento dos tecidos em micro-ondas permitiu a avaliação histopatológica em torno de três horas e meia após a coleta e em uma hora e meia após o recebimento do material já fixado em formalina e enviado ao SPV-UFLA. A morfologia tecidual foi bem preservada, principalmente no cerebelo, permitindo a observação de corpúsculos de Negri em nove casos (69,2%). Destes, quatro no cerebelo, dois no bulbo ao nível do óbex e três em ambos. A inflamação mononuclear foi também visualizada em 11 casos (84,6%), sendo quatro no cerebelo, um ao nível do óbex e seis em ambos.

Para o diagnóstico IHQ foi necessário um tempo de processamento de seis horas desde a coleta e de quatro horas após o recebimento do material já fixado. Todos os 13 casos marcaram positivamente para raiva, havendo marcação em todos os oito fragmentos de bulbo ao nível do óbex (100%) e em 12 fragmentos de cerebelo (92,3%). O bovino sem marcação positiva no cerebelo tinha marcação fraca ao nível do óbex, e foi o único animal submetido à eutanásia. Foi possível obter marcação IHQ para raiva com e sem a recuperação antigênica nos 13 casos processados em micro-ondas. Os resultados obtidos com esta técnica, nos casos apresentados, tiveram 100% de correlação positiva com o exame de IFD realizado pelo IMA.

DISCUSSÃO

O protocolo utilizado para o processamento em micro-ondas mostrou-se eficiente. Foi possível a obtenção de cortes histológicos em torno de três horas e meia após a coleta, permitindo um diagnóstico provisório rápido em 84,6% dos casos. No entanto, a realização da IHQ, em seis horas de processamento, propiciou maior especificidade e sensibilidade. A rapidez no diagnóstico é crucial para adoção das medidas profiláticas no rebanho e principalmente em pessoas que mantiveram contato com os animais afetados.

Embora tenha sido utilizado em um número limitado de casos, o protocolo demonstra-se promissor especialmente para situações em que apenas o tecido em formalina esteja disponível para confirmação diagnóstica. Isto pode ser de grande valia também em regiões com limitações de transporte e evita problemas com o acondicionamento e remessa de

material biológico fresco. O processamento em micro-ondas doméstico e a IHQ requerem uma estrutura laboratorial mais simples e menos onerosa (SURI et al., 2006).

A IHQ foi essencial para o diagnóstico da raiva, principalmente nos casos em que não foram observadas lesões compatíveis na histopatologia. A pouca marcação obtida no bulbo e a ausência de marcação do cerebelo do bovino eutanasiado, provavelmente está relacionada à menor disseminação do vírus rábico no SNC (BARROS et al., 2006), pela abreviação do curso da doença.

A marcação IHQ foi obtida mesmo sem recuperação antigênica, o que permitiu uma redução de 15 minutos no processamento. No entanto, a recuperação pode ser importante em amostras com fixação prolongada (STEIN et al., 2010).

Os materiais que permaneceram em formalina à temperatura ambiente por duas horas apresentaram melhor morfologia em relação aos que ficaram conservados por menos tempo. A irradiação em micro-ondas favorece a fixação de tecidos em formaldeído (KAHVECI et al., 1997) e certamente contribuiu para a fixação mais rápida dos tecidos neste estudo.

CONCLUSÃO

O processamento de tecidos em micro-ondas doméstico para diagnóstico IHQ rápido da raiva mostrou-se eficiente em todos os casos apresentados.

AGRADECIMENTOS

Ao professor David Driemeier pela doação do anticorpo primário. Ao médico veterinário Denis Lucio Cardoso, IMA, por propiciar acesso aos casos de Perdões - MG. Ao Laboratório de Saúde Animal, IMA, Belo Horizonte - MG, pelos resultados de IFD de raiva dos materiais encaminhados. À Capes pela bolsa de mestrado. À Fapemig pelo auxílio na apresentação do trabalho.

REFERÊNCIAS

- BARROS, C. S. L.; DRIEMEIER, D.; DUTRA, I. S.; LEMOS, R. A. A. **Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil**. São Paulo: Coleção Vallée, 2006. cap. 5, p. 21-28.
- BOON, M. E.; KOOK, L. P. Theory and practice of combining coagulant fixation and microwave histoprocessing. **Biotechnic & Histochemistry**, v. 83, n. 6, p. 261-277, 2008.
- HAFAJEE, Z. A. M.; LEONG, A. S-Y. Ultra-rapid microwave-stimulated tissue processing with a modified protocol incorporating microwave fixation. **Pathology**, v. 36, n. 4, p. 325-329, ago. 2004.
- KAHVECI, Z.; ÇAVUSOGLU, I.; SIRMALI, S.A. Microwave Fixation of Whole Fetal Specimens. **Biotechnic & Histochemistry**, v. 72, n. 3, p. 144-147, 1997.
- STEIN, L. T.; RECH, R. R.; HARRISON, L.; BROWN, C. C. Immunohistochemical Study of Rabies Virus Within the Central Nervous System of Domestic and Wildlife Species. **Veterinary Pathology**, v. 47, n. 4, p. 1-7, mai. 2010.
- SURI, V.; CHATURVEDI, S.; PANT, I.; DUA, R.; DUA, S. Application of domestic microwave for urgent histopathology reporting: an evaluation. **Indian Journal of Pathology and Microbiology**. v. 49, n. 3, p. 348-351, jul. 2006.

HISTIOCIOMA CUTÂNEO EM UM FERRET (*Mustela putorius furo*) – RELATO DE CASO

CUTANEOUS HISTIOCYTOMA IN A FERRET (*Mustela putorius furo*) – CASE REPORT

Renata Furlan Pereira de Souza¹; José Eduardo dos Santos Silva¹; Hallyson Anastácio
Mariano²; Tiago Marolato Pacheco²; Fábio Luís Bonello³; Maria Cecília Rui Luvizotto⁴

1. Mestrando(a) do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária (FMVA), UNESP, Araçatuba, SP. E-mail: refurlan_08@hotmail.com
2. Graduando da Faculdade de Ciências Agrárias de Andradina (FCAA), Andradina, SP.
3. Professor Mestre da Faculdade de Ciências Agrárias de Andradina (FCAA), Andradina, SP.
4. Professora Assistente Doutora do Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal (DCCRA) da Faculdade de Medicina Veterinária (FMVA), UNESP, Araçatuba, SP.

PALAVRAS-CHAVE: células redondas, diagnóstico citológico, neoplasias cutâneas.

ABSTRACT

The cutaneous histiocytoma is a benign neoplasm of round cells, characterized by a solitary nodule, hairless, which can ulcerate and regress spontaneously. The aim of this paper is to describe a case of cutaneous histiocytoma in a ferret (*Mustela putorius furo*) based on cytology examination of a fine-needle aspirate (FNA). A nine-year-old castrated male ferret was clinically evaluated in the Veterinary Hospital of Andradina with a subcutaneous nodule in the right pelvic limb measuring 2,0cm in diameter, smooth and soft, well demarcated and with ulcer measuring 0,4cm in diameter. The cytology diagnostic by FNA was consistent with cutaneous histiocytoma, not describe in this species. It was brought to a conclusion that aspiration cytology is a fast technique, inexpensive and conclusive, of great importance for clinical routine.

KEYWORDS: cutaneous neoplastic, cytology diagnostic, round cells.

INTRODUÇÃO

Com a crescente popularidade do ferret (*Mustela putorius furo*) como animal de estimação e animais de laboratório, aumentou também o número de relatos de doenças neoplásicas (BEACH & GREENWOOD, 1993).

A primeira neoplasia descrita nesta espécie foi em 1950, e em 1979, aproximadamente 20 casos de diferentes tipos de neoplasias já tinham sido documentadas. Atualmente, são mais de 250 casos de diversas neoplasias relatadas (LI et al., 1998). Dentre

estas, a cutânea é o terceiro tipo de neoplasia que mais acomete esta espécie (TUNEV & WEELS, 2002).

O histiocitoma cutâneo é uma neoplasia de células redondas benigna, de etiologia desconhecida. É originada de células da linhagem monócito-macrófago, sendo mais provavelmente de origem das células de Langerhans epiteliais. Esse tumor surge rapidamente e aparece como um nódulo solitário, de localização dérmica, aparência arredondada, bem circunscrito, alopecico, indolor, que normalmente ulcera e regride espontaneamente. A fase de regressão é caracterizada pela presença de infiltrado linfocítico (HARGIS, 1998; O'BRIEN, 2007). Não ocorre metástase, contudo, pode haver linfadenopatia e morte por septicemia secundária decorrente de colonização bacteriana das lesões ulceradas (MOORE et al., 1996).

O objetivo deste trabalho é descrever um caso de histiocitoma cutâneo em um ferret (*Mustela putorius furo*) diagnosticado por citologia através de punção biopsia aspirativa (PBA).

DESCRIÇÃO DO CASO

Foi atendido no Hospital Veterinário de Andradina-SP, um ferret, macho, pelagem branca, castrado, com nove anos de idade, e queixa principal de nódulo em membro. Proprietária relatou que adquiriu o animal há um mês já com esse nódulo e caquético, e que observou melhoras nutricionais desde então. O animal vivia em ambiente fechado com mais outros quatro ferrets, alimentava-se de ração e vitaminas própria para a espécie, e tomava banho semanalmente com xampu infantil.

Ao exame físico o animal estava alerta, apresentou mucosas normocoradas, FC: 124bpm (200-400), FR: 32mpm (33-36), temperatura: 37,7°C (37,8-40), e estado nutricional magro, pesando 700 gramas. Observou-se um nódulo pendular em membro pélvico direito medindo 2,0cm de diâmetro, liso e macio, bem delimitado com úlcera medindo 0,4cm de diâmetro. Foi realizada uma PBA do nódulo para diagnóstico citológico.

RESULTADOS

Através da microscopia de luz, em aumento de 1000 vezes, pôde-se observar uma grande quantidade de células redondas predominantemente agrupadas, com discreto pleomorfismo, citoplasma abundante fracamente basofílico com discretos vacúolos, núcleo redondo de localização excêntrica, cromatina finamente granular, nucléolos proeminentes.

Notou-se também células binucleadas e multinucleadas. Os achados citológicos foram compatíveis com neoplasia de células redondas de caráter benigno característico de histiocitoma cutâneo.

Não foi indicada remoção cirúrgica imediata devido à idade e ao estado nutricional em que o animal se encontrava. Recomendou-se retorno após sete dias para uma nova avaliação, onde observou-se uma pequena redução no tamanho do nódulo medindo 1,5cm de diâmetro, macio e rugoso, com recuperação total da úlcera. Como o estado nutricional ainda era crítico, um novo retorno foi marcado para 15 dias. Durante este período o animal veio a óbito e a proprietária não autorizou a necropsia.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de histiocitoma cutâneo foi obtido através das características físicas e citológicas bem caracterizados da neoplasia, que incluíram os achados descritos por HARGIS (1998) e O'BRIEN (2007).

Acreditava-se que os ferrets eram geneticamente resistentes ao desenvolvimento de neoplasias (CHESTERMAN & POMERCANCE, 1965). Porém, DILLBERGER & ALTMAN (1989) avaliaram a ocorrência de neoplasias nesta espécie e constataram que a incidência estava aumentando de acordo com o aumento da utilização dos ferrets em laboratórios ou como animais de estimação. Dado confirmado em 1998 através da análise de 639 neoplasias em ferrets que comprovou que a incidência de doenças neoplásicas é semelhante à de outras espécies de mamíferos (LI et al., 1998).

Segundo LI et al. (1998), no período de 1968 a 1997, os sistemas mais acometidos por neoplasias em ferrets foram endócrino (39,7%), hemolinfático (15,2%), tegumentar (12,9%) e digestório (8,4%).

Em relação à origem das neoplasias cutâneas, as neoplasias epiteliais são as mais relatadas, sendo o carcinoma de células escamosas, epiteloma sebáceo e o tumor de células basais os de maior incidência, seguido do mastocitoma e lipoma, neoplasia de células redondas, e ocasionalmente observa-se neoplasia de origem mesenquimal como fibrossarcoma e hemangioma/hemangiossarcoma de baixo grau (TUNEV & WEELS, 2002).

PARKER & PICUT (1993), avaliaram 57 neoplasias cutâneas em ferrets das quais 33 correspondiam ao tumor de células basais, nove mastocitomas, seis fibromas, dois

fibrossarcomas, linfosarcomas, adenocarcinomas, e um hemangioma, hemangiossarcoma e pólipos cutâneos, respectivamente.

CONCLUSÃO

Até o momento, não foi descrito na literatura nenhum caso de histiocitoma cutâneo em ferret, tornando este, o primeiro relato nesta espécie animal diagnosticado por meio de citologia aspirativa. Cabe ressaltar a importância deste método diagnóstico, por ser uma técnica rápida, de baixo custo e conclusiva.

REFERÊNCIAS

- BEACH, J. E. GREENWOOD, B. Spontaneous neoplasia in the ferret (*Mustela putorius furo*). **Journal Comparative Pathology**, v. 108, p. 133-147, 1993.
- CHESTERMAN, F. C.; POMERCANCE, A. Spontaneous neoplasms in ferrets and polecats. **Journal Pathology Bacteriology**, v. 89, p. 529-533, 1965.
- DILLBERGER, J. E. A.; ALTMAN, N. H. Neoplasia in ferrets: eleven cases with a review. **Journal Comparative Pathology**, v. 100, n. 2, p. 161-176, 1989.
- HARGIS, A. M. Sistema tegumentar. In: CARLTON, W. W.; Mc GAVIN, M. D. **Patologia veterinária especial de Thomson**. Porto Alegre: Artmed, 1998. p. 486-540.
- LI, X.; FOX, J. G.; PADRID, P. A. Neoplastic diseases in ferrets: 574 cases (1968-1997). **Journal Veterinary Medical Association**, v. 212, p. 1402-1406, 1998.
- MOORE, P. F.; SCHRENZEL, M. D.; AFFOLTER, V. K. OLIVRY, T.; NAYDAN, D. Canine cutaneous histiocytoma is an epidermotropic Langerhans cell histiocytosis that express CD1 and specific beta 2-integrin molecule. **American Journal Pathology**, v. 148, n. 5, p. 1699-1708, 1996.
- O'BRIEN, M. G. Pele e tecido subcutâneo. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3. ed. São Paulo: Manole, 2007. v. 2, p. 2359-2367.
- PARKER, G. A.; PICUT, C. A. Histopathologic features and post-surgical sequelae of 57 cutaneous neoplasms in ferrets (*Mustela putorius furo* L.). **Veterinary Pathology**, v. 30, p. 499-504, 1993.
- TUNEV, S. S.; WELLS, M. G. Cutaneous melanoma in a ferret (*Mustela putorius furo*). **Veterinary Pathology**, v. 39, p. 141-143, 2002.

AVALIAÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL DE BOVINOS INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE COM O HERPESVÍRUS BOVINO 5

IMMUNOHISTOCHEMICAL EVALUATION OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM OF CATTLE EXPERIMENTALLY INFECTED WITH BOVINE HERPESVIRUS 5

Didier Quevedo Cagnini¹, Paulo Henrique Jorge da Cunha⁴, Peres Ramos Badial¹, José Paes
de Oliveira Filho², Ana Claudia Gorino³, Amauri Alcindo Alfieri⁵, Renée Laufer Amorim⁶,
Alexandre Secorun Borges⁶

1. Pós-graduando, Departamento de Clínica Veterinária, FMVZ, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Botucatu, São Paulo, Brasil. didiercagnini@yahoo.com.br (autor correspondente).
2. Pós-doutorando, Departamento de Clínica Veterinária, FMVZ, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Botucatu, São Paulo, Brasil.
3. Iniciação científica, Departamento de Clínica Veterinária, FMVZ, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Botucatu, São Paulo, Brasil.
4. Professor, Departamento de Medicina Veterinária, EVZ, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, Goiás, Brasil.
5. Professor, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Centro de Ciências Agrárias – Universidade Estadual de Londrina. Bolsista de Produtividade Nível 1A do CNPq.
6. Professor, Departamento de Clínica Veterinária, FMVZ, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Botucatu, São Paulo, Brasil. Bolsista de Produtividade Nível 2 do CNPq.

PALAVRAS-CHAVE: doenças de bovinos, meningoencefalite, neuropatologia

ABSTRACT

Bovine meningoencephalitis is a viral infection caused by bovine herpesvirus 5 (BoHV-5), an enveloped, double-stranded DNA virus that belongs to the *Herpesviridae* family, subfamily *Alphaherpesvirinae*. The diagnosis of this disease is based on gross, microscopic, and epidemiological aspects associated with virus isolation, monoclonal antibodies and polymerase chain reaction (PCR) tests in cell culture. However, when virus isolation is not possible, PCR and immunohistochemistry (IHC) techniques using formalin-fixed, paraffin-embedded brain tissue increase the chance of detection of BoHV-5. The aim of this study was to evaluate the CNS of calves experimentally infected with BoHV-5 using immunohistochemistry. For this purpose, formalin-fixed, paraffin-embedded CNS samples from calves previously inoculated with BoHV-5 were analyzed by IHC. From a total of 108 evaluated areas, 32.41% were positive to BoHV-5 using immunohistochemistry. In this way, at least two areas of each animal were identified BoHV-5 infected. These findings show that IHC is a useful technique for the diagnosis of BoHV-5 non-suppurative meningoencephalitis.

KEYWORDS: diseases of cattle, meningoencephalitis, neuropathology

INTRODUÇÃO

O BoHV-5 é um vírus DNA de fita dupla, envelopado, membro da família *Herpesviridae*, subfamília *Alphaherpesvirinae*, e do gênero *Varicellovirus* (Roizman et al,

1992). O diagnóstico *ante-mortem* é difícil de ser estabelecido, visto que não existem sinais patognomônicos da enfermidade, a qual pode ser confundida com outras encefalopatias. Os achados clínicos e epidemiológicos, associados à análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) podem auxiliar o diagnóstico de encefalite viral.

O diagnóstico *post-mortem*, com o auxílio de métodos laboratoriais, é fundamental. A epidemiologia, os achados macro e microscópicos são sugestivos do diagnóstico de meningoencefalite pelo BoHV-5, podendo ser definitivo na presença de corpúsculos de inclusão basofílicos intranucleares. No entanto, a ausência de corpúsculos de inclusão não exclui o diagnóstico do BoHV-5 (Cagnini, 2011). Portanto, o diagnóstico definitivo pode ser realizado pelo isolamento viral e identificação do vírus, imunistoquímica (IHQ) dos tecidos fixados em formalina e embebidos em parafina e por técnicas moleculares, como a PCR (Cagnini, 2011).

O objetivo deste trabalho foi realizar a avaliação imunistoquímica de 108 regiões do sistema nervoso central (SNC) de seis bovinos inoculados experimentalmente com o BoHV-5.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados blocos de parafina dos encéfalos de seis bezerros mestiços de leite (enumerados de 1 a 6), com aproximadamente 10 meses de idade, previamente inoculados com BoHV-5 (Cunha, 2010) pela via intranasal com instilação de 0,5 mL do inóculo em cada narina, totalizando uma dose viral de $10^{7,42}$ DICT₅₀. A estirpe viral utilizada foi a AA PAR cedida pelo Laboratório de Virologia Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina. Os animais utilizados no experimento apresentavam sorologia negativa para anticorpos séricos contra o BoHV-1 e -5 detectados por vírus neutralização. Foi realizado o acompanhamento clínico dos animais durante 30 dias. Neste período, o animal 1 apresentou sinais clínicos neurológicos no 12º dia pós-infecção (p.i.) e foi sacrificado *in extremis* e o animal 2 foi encontrado morto no piquete no início da manhã do 21º dia p.i.. Os demais animais não apresentaram sinais clínicos neurológicos e foram eutanasiados no final do período experimental. Os tecidos foram colhidos e fixados em solução de formalina tamponada a 4% durante 7 dias.

Para o exame imunistoquímico foram colhidos bilateralmente o bulbo olfatório direito, córtex frontal, córtex parietal, córtex occipital, núcleos da base e tálamo. Além disto, foram colhidos mesencéfalo na altura dos colículos rostrais, ponte, bulbo, cerebelo, medula cervical e monobloco contendo os gânglios de Gasser, *rete mirabile* e hipófise, totalizando 18 regiões do SNC. O exame imunistoquímico para o diagnóstico de infecção pelo BoHV-5 foi realizado utilizando-se dois anticorpos monoclonais (AcM): L6G anti-IgG da glicoproteína G

(VRMD), utilizado segundo descrito por d'Offay et al. (1995); e o 2F9 anti-IgG da glicoproteína C (gC) (Laboratório de Virologia Animal da Universidade Federal de Santa Maria), de acordo com Hübner et al. (2005). Como controle negativo o encéfalo de um bovino coletado em frigorífico, sendo que o mesmo não apresentou alterações histopatológicas nas 18 seções avaliadas e foi negativo na PCR para a detecção do DNA viral da gC do BoHV-5.

Os resultados foram submetidos à análise descritiva e a comparação dos resultados da IHQ (positivo/negativo) com a presença ou ausência de sinais neurológicos foi realizada com o teste exato de Fisher no programa GraphPad InStat 3 (CA, EUA).

RESULTADOS

A técnica de IHQ para o BoHV-5 teve sua eficiência máxima com relação à intensidade e especificidade de coloração e ausência de marcação de fundo incubando-se as lâminas com o AcM primário 2F9 por 1h a 37 °C, na diluição de 1:200. Os testes realizados com o AcM comercial L6G (VRMD) apresentaram marcação neuronal tanto nos controles positivos como nos controles negativos e marcação de fundo nas condições testadas. Com isto, optou-se pela utilização do AcM primário 2F9 para avaliar os animais deste estudo.

Todos os animais apresentaram pelo menos duas áreas positivas para a IHQ da gC do BoHV-5. A marcação IHQ para o BoHV-5 foi positiva em 35 (32,41%) das 108 áreas analisadas. Destas, 40% foram evidenciadas no animal 1, o qual teve 77,78% (14/18) de áreas positivas para a marcação com o anticorpo 2F9. Os demais animais (2 a 6) apresentaram 33,33% (6/18), 27,78% (5/18), 22,22% (4/18), 22,22% (4/18) e 11,11% (2/18) de áreas positivas para a IHQ com o AcM 2F9.

Ao comparar o número de áreas positivas do animal 1, que apresentou sinais neurológicos, com os demais animais, por indivíduo, verificou-se a presença de diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre o animal 1 e os demais animais. O animal utilizado como controle negativo não apresentou marcação imunoistoquímica para o AcM 2F9.

DISCUSSÃO

Marcação imunoistoquímica bem sucedida utilizando o AcM 2F9 foi descrita por Hübner et al. (2005). No presente estudo, 32,41% das áreas foram positivas na IHQ para o BoHV-5. No experimento realizado por Meyer et al. (2001) 54,1% das áreas analisadas foram positivas para o BoHV-5. Entretanto, o número de animais com sinais clínicos foi maior (7/8) no trabalho descrito por Meyer et al. (2001) do que neste estudo (1/6). Além disto, os anticorpos monoclonais utilizados, a estirpe viral e a idade dos animais inoculados no presente estudo foram diferentes do descrito por Meyer et al. (2001).

Foi verificada diferença significativa ($p < 0,05$) entre o número de áreas positivas na IHQ do animal 1 (com sinais clínicos) em relação aos demais animais. Deste modo, pode ser sugerido que a presença de sinais clínicos no animal 1 possa ter contribuído para a maior positividade na IHQ. Esta hipótese contraria os achados de Meyer et al. (2001) que ao inocularem oito bezerros com o BoHV-5, observaram sete animais com sinais neurológicos (87,5%), porém destes, apenas cinco foram positivos (5/7 ou 71,4%) na IHQ para o BoHV-5. No entanto, os animais negativos na IHQ no estudo de Meyer et al. (2001) apresentaram evolução clínica mais longa, de 21 dias, sendo sugerido que no dia 21 o vírus já poderia ter estabelecido latência no SNC. Além disso, os autores sugerem que durante a formação da imunidade celular e humoral, a ligação dos anticorpos específicos poderia mascarar os antígenos, impedindo a ligação dos AcMs usados na imunoistoquímica.

CONCLUSÃO

A utilização da IHQ em amostras do SNC fixadas em formalina e incluídas em parafina é uma alternativa importante para a caracterização de casos de meningoencefalite por BoHV-5. Além disto, a IHQ pode ser utilizada em material de arquivo para a confirmação de casos de infecção pelo BoHV-5 o que, por sua vez, contribui para o estudo epidemiológico da doença.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Virologia Animal da Universidade Federal de Santa Maria por ter cedido o AcM 2F9. A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela concessão de bolsa de mestrado ao primeiro autor.

REFERÊNCIAS

- CUNHA, P.H.J. **Polioencefalomalacia experimentalmente induzida pela ingestão de dieta com alto teor de enxofre ou pelo herpesvírus bovino 5 em bovinos**. Botucatu: Unesp, 2010. Tese (Doutorado) – Programa de pós-graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.
- CAGNINI, D.Q. **Avaliação histopatológica, imunoistoquímica e detecção molecular do DNA viral no sistema nervoso central de bovinos inoculados experimentalmente com o herpesvírus bovino 5**. Botucatu, 2011. 107p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.
- D'OFFAY, J.M.; ELY, R.W.; BALDWIN, C.A.; WHITENACK, D.L.; STAIR, E.L.; COLLINS, J.K. Diagnosis of encephalitic bovine herpesvirus type 5 (BHV-5) infection in cattle: virus isolation and immunohistochemical detection of antigen in formalin-fixed bovine brain tissues. **J. Vet. Diag. Invest.**, v.7, p.247-251, 1995.
- HÜBNER, S.O.; PESCADOR, C.; CORBELLINI, L.G.; DRIEMEIER, D.; SPILKI, F.R.; ROEHE, P.M. Otimização da imunoistoquímica para detecção de herpesvírus bovino tipo 5 (BHV-5) em tecidos do sistema nervoso central fixados com formaldeído. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.57, p.1-6, 2005.
- MEYER, G.; LEMAIRE, M.; ROS, C.; BELAK, K.; GABRIEL, A.; CASSART, D.; COIGNOUL, F.; BELAK, S. & THIRY, E. Comparative pathogenesis of acute and latent infections of calves with bovine herpesvirus types 1 and 5. **Arch. Virol.**, v.146, p.633-652, 2001.
- ROIZMAN B., DESROSIERS R.C., FLECKENSTEIN B., LOPEZ C., MINSON A.C. & STUDDERT M.J. The family herpesviridae: an update. **Arch. Virol.**, v.123, p.425-449, 1992.

UTILIZAÇÃO DO MÉTODO DE CITOINCLUSÃO NO DIAGNÓSTICO DE NEOPLASIAS EM MEDICINA VETERINÁRIA

USE OF CELLBLOCK METHOD FOR NEOPLASTIC DIAGNOSIS IN VETERINARY MEDICINE

Milla Bezerra Paiva¹, Gabriela Mayumi Gouveia¹, Hugo Henrique Orsini Beserra², Janete Madalena da Silva², Maria Cecília Rui Luvizotto³

1. Mestranda em Ciência Animal, UNESP, Araçatuba, São Paulo, Brasil. E-mail: millabpaiva@gmail.com
2. Residente em Patologia Veterinária, UNESP, Araçatuba, São Paulo, Brasil.
3. Professora Assistente Doutora, UNESP, Araçatuba, São Paulo, Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: Neoplasia, citoinclusão, citologia, imunohistoquímica

ABSTRACT

Cellblock technique is an effective diagnostic tool in cytology specimens, because it preserves the tissue architecture and can be used for complementary diagnosis, such as immunostain reaction. This study aims to compare the cytology, histopathology and cellblock of 12 neoplasms, and evaluate the effectiveness of immunohistochemistry for anti-cytokeratin and anti-vimentin. Cellblock method was effective by increasing the diagnostic accuracy, allowing the visualization of tissue architecture. The immunohistochemistry reaction showed good quality without excessive background, confirming the histology origin. The cellblock technique is an innovated diagnostic method in veterinary medicine that gives to the pathologist better quality samples and storage possibility.

INTRODUÇÃO

A punção aspirativa por agulha fina (PAAF) é uma ferramenta muito útil e amplamente utilizada no diagnóstico de doenças neoplásicas, por fornecer um material com boa celularidade e representatividade da neoplasia, sendo a citologia um método já consagrado e de grande auxílio no direcionamento e no esclarecimento do processo patológico principal. No entanto esse exame propicia somente a identificação de células ou grupos celulares, omitindo a arquitetura do tecido em análise (THAPAR et al. 2010; NATHAN et al. 2000).

No intuito de estabelecer diagnósticos definitivos, particularmente categorizar as lesões tumorais, a técnica da citoinclusão pode ser utilizada, a qual consiste em incluir o material coletado pela PAAF em blocos de parafina. Este método pode revelar melhores detalhes morfológicos e padrão arquitetural, e ainda a possibilidade de realizar colorações especiais e reações de imunohistoquímica (BRIFFOD et al. 2000; THAPAR et al. 2010).

Apesar dos grandes avanços na imunohistoquímica, ainda há poucos marcadores que podem ser utilizados na imunocitoquímica com sucesso. Porém com a citoinclusão se faz possível oferecer informações sobre prognóstico e provável resposta a terapia, bem como monitorar a progressão tumoral quando necessário, utilizando-se painéis de anticorpos já disponíveis no mercado, sem a necessidade de procedimentos mais invasivos como biópsias e excisões nodulares (PINDER et al. 1995; BRIFFOD et al. 2000).

O presente trabalho tem por objetivo comparar o exame citológico, a citoinclusão e a histopatologia (quando existente) de 12 amostras de neoplasia, e ainda analisar a efetividade da imunohistoquímica para os anticorpos anti-citoqueratina e anti-vimentina em cortes obtidos a partir das citoinclusões.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas para o presente estudo amostras de material citológico e de peças cirúrgicas coletados através de punção aspirativa por agulha fina (PAAF), ambos com suspeita de lesões neoplásicas, que foram encaminhadas ao Setor de Patologia Veterinária (UNESP-Araçatuba). O material foi fixado em álcool a 95% por 24 horas. Após a fixação, foi feita a transferência da citoinclusão em cassete histológico para processamento padrão. Dos blocos de parafina foram obtidos cortes de 3 µm de espessura, que foram corados para HE e reservados para as reações de imunohistoquímica para citoqueratina e vimentina, a fim de confirmar a origem da neoplasia. As secções das citoinclusões coradas pela HE foram analisadas e classificadas de acordo com os padrões morfológicos celulares, posteriormente comparadas com os esfregaços citológicos e a histopatologia das peças cirúrgicas. Para a reação de imunohistoquímica foi realizada a recuperação antigênica, bloqueio da peroxidase endógena e de ligações inespecíficas, incubação com anticorpo primário anti-citoqueratina e anti-vimentina (DAKO®), anticorpo secundário e de ligação (DAKO®), revelação com DAB e contra coloração com Hematoxilina de Harris. As reações de imunohistoquímica foram analisadas e classificadas como de origem mesenquimal (imunorreativa para vimentina) ou epitelial (imunorreativa para citoqueratina).

RESULTADOS

À microscopia, os cortes histológicos das citoinclusões coradas por HE apresentaram como diagnósticos sugestivos: carcinoma de células escamosas, neoplasia mesenquimal a esclarecer, carcinomas indiferenciados, lipossarcoma, cisto folicular, fibrossarcoma, adenoma e carcinoma cribriforme. A avaliação comparativa entre os métodos de diagnóstico está representada na tabela a seguir:

Amostra	Cito inclusão	Citologia	Histopatologia	Citoqueratina	Vimentina
1	Carcinoma de células escamosas pouco diferenciado	Carcinoma de alto grau	Carcinoma	(+)	Não realizado
2	Carcinoma de células escamosas	Carcinoma de células escamosas	Não realizado	(+)	Não realizado
3	Sarcoma indiferenciado	Sarcoma indiferenciado	Não realizado	Não realizado	(+)
4	Material escasso	Adenocarcinoma	Não realizado	(-)	(+)
5	Carcinoma	Carcinoma indiferenciado	Não realizado	(-)	(+)
6	Lipossarcoma	Material escasso	Não realizado	(-)	(+)
7	Material escasso	Osteossarcoma	Não realizado	(-)	(+)
8	Carcinoma	Carcinoma	Não realizado	(+)	Não realizado
9	Carcinoma de células escamosas	Carcinoma de células escamosas	Não realizado	(+)	Não realizado
10	Cisto folicular	Carcinoma	Não realizado	(+)	Não realizado
11	Adenoma	Inconclusivo	Não realizado	(+)	(+)
12	Cacrinoma mamário cribriforme	Não realizado	Cacrinoma mamário cribriforme	(+)	(-)

Do total de amostras analisadas, apenas duas (4 e 5) apresentaram insucesso na classificação da origem histológica, confirmada pela imunohistoquímica. Em duas amostras (4 e 7) não foi possível obter material suficiente para a visualização do tecido ou do tipo histológico. Em 7/12 amostras (58,3%), houve concordância em ambos os métodos diagnósticos, no que diz respeito à origem e malignidade das neoplasias.

DISCUSSÃO

Para análise de neoplasias o método da citoinclusão se mostrou eficaz, aumentando a acurácia do diagnóstico e possibilitando melhor visualização da arquitetura tecidual, como citado por Thapar e colaboradores (2010).

No presente estudo foi constatado que em 58,3% das amostras analisadas foi possível desvendar a origem histológica da neoplasia, contrariando os achados de Thapar et al. (2010), que obteve 83,3% de acurácia da histogênese. Esta afirmação pode ser explicada pelo número reduzido de amostras analisadas neste estudo.

As imunomarcações mostraram boa qualidade, nitidez e possibilitaram a confirmação da origem histológica das neoformações estudadas, ainda que a amostragem seja reduzida, achado este já descrito por Pinder et al. (1995) em espécimes humanos.

CONCLUSÃO

A utilização da citoinclusão como método de diagnóstico complementar proporciona ao patologista uma análise mais detalhada do material e preservação de parte da arquitetura original do tecido, complementando a citologia diagnóstica e fornecendo meios para a realização de outras técnicas como a imunohistoquímica.

REFERÊNCIAS

- BRIFFOD, M.; HACÈNE, K.; DOUSSAL, V. Immunohistochemistry on cell blocks from fine needle cytopunctures of primary breast carcinomas and lymph nodes metastases. **Modern Pathology**, v. 13, n. 8, p. 841-850, 2000.
- NATHAN, N.A.; NARAYAN, E.; SMITH, M.M.; HORN, M.J. Cell block cytology. Improved preparation and its efficacy in diagnostic cytology. **American Journal of Clinical Pathology**, Australia, v. 114, n. 4, p. 599-606, 2000.
- PINDER, S.E.; WENCYK, P.M.; NAYLOR, H.E.; BELL, J.A., ELSTON, C.W.; ROBERTSON, J.F.R.; BLAMEY, R.W.; ELLIS, I.O. The assessment of multiple variables on breast carcinoma fine needle aspiration (FNA) cytology specimens: method, preliminary results and prognostic associations. **Cytophatology**, v. 6, n. 5, p. 316-324, 1995.
- THAPAR, M.; MJSHRA, R.K.; SHARMA, A.; GOYAL, V.; GOYAL, V. Critical analysis of cell block versus smear examination in effusions. **Journal of Cytology**, v. 26, n. 2, p. 60-64, 2010.

PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*LEISHMANIA MAJOR* E *L. CHAGASI* EM GATOS DOMÉSTICOS DE BRASÍLIA-DF

PREVALENCE OF ANTIBODIES ANTI-*LEISHMANIA MAJOR* E *L. CHAGASI* IN DOMESTIC CATS FROM BRASÍLIA-DF

Michelle Cruz Costa¹, Fernanda Mulinari², Mariana Kikuti³, Carla Janeiro Coiro³,
Hélio Langoni⁴, Denise Salgado⁵

1. Aluna do Mestrado em Ciência Animal, Departamento de Medicina Veterinária, UPIS - União Pioneira de Integração Social, Campus II. Fazenda Lagoa Bonita BR 020 km 12, DF 335, km 4,8 Planaltina Brasília, DF. E-mail: michellelife21@hotmail.com
2. Professora do Curso de Medicina Veterinária, UPIS - União Pioneira de Integração Social, Campus II. Fazenda Lagoa Bonita BR 020 km 12, DF 335, km 4,8 Planaltina Brasília, DF.
3. Residentes do Núcleo de Pesquisas em Zoonoses - DHVSP - FMVZ – Univ Estadual Paulista, Botucatu, SP, 18618-970.
4. Professor Titular do Curso de Medicina Veterinária Núcleo de Pesquisas em Zoonoses - DHVSP - FMVZ – Univ Estadual Paulista, Botucatu, SP, 18618-970.
5. Médica Veterinária do Centro Integrado de Diagnóstico Veterinário Brasília, DF, 70767-520.

PALAVRAS-CHAVE: leishmaniose, felinos, RIFI.

ABSTRACT

Leishmaniasis is a zoonosis with importance in public health that occurs in many continents, mainly in tropical and subtropical regions, considered endemic in Brazil. Intracellular protozoans from *Leishmania* gender are the etiological agent and transmission occurs by the bite of infected vectors, *Lutzomyia* gender flies. Dogs are considered the most important reservoir, but due to the proximity of humans and cats, these are assuming importance in zoonosis transmission. The aim of the present study was to evaluate 174 serum samples of domestic cats from Brasília-DF by the immunofluorescence technique (IFAT) to *L. major* and *L. chagasi* antigens. Besides no cat had shown seropositive, more studies must be conducted to understand the real role of cats in the epidemiology of leishmaniasis, once they are a new and growing pet population.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma zoonose de grande importância na saúde pública que ocorre em vários continentes, considerada endêmica no Brasil. A leishmaniose tem como agente etiológico protozoários intracelulares do gênero *Leishmania*, sendo a espécie *L. chagasi* de ocorrência nas Américas, incluindo o Brasil (BRASIL, 2003; SANTOS et al., 2008). A

transmissão ocorre pela picada de fêmeas infectadas do gênero *Lutzomyia*, com a *Lutzomyia longipalpis* sendo o mais importante vetor do parasita no Brasil (BRASIL, 2003).

Preconiza-se o diagnóstico imunológico pelo ensaio imunoenzimático (ELISA) para a triagem e a imunofluorescência indireta (RIFI) para a confirmação; além da associação de exame parasitológico pela busca das formas amastigotas em esfregaços de punções de medula óssea e linfonodos e pesquisa do DNA do parasita por técnicas moleculares (BRASIL, 2003).

Apesar de os principais reservatórios mamíferos de *Leishmania* spp. nas Américas serem roedores, gambás, endentados, equinos, caninos e os primatas, o gato doméstico tem sido reconhecido como um habitante cada vez mais presente em lares e na vida das pessoas (DABRITZ & CONRAD, 2010).

Os gatos domésticos merecem atenção especial e sua participação na transmissão da leishmaniose em áreas endêmicas precisa de mais estudos para se entender tanto as manifestações da enfermidade, como o papel destes animais na epidemiologia da leishmaniose visceral (SILVA et al., 2010). Desta forma, o presente estudo objetivou investigar sorologicamente a presença de anticorpos anti-*L. chagasi* e *L. major* em felinos domésticos de área endêmica, Brasília-DF.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas 174 amostras de sangue total de felinos de ambos os sexos, jovens e adultos, SRD, sendo 4 provenientes do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) de Brasília-DF, 97 de gatis e 73 de proprietários.

Os animais foram contidos fisicamente para venopunção da jugular, colhendo-se aproximadamente 4 mL de sangue, acondicionados em tubos sem anticoagulante. Para a obtenção do soro, as amostras foram centrifugadas a 1600 g por 10 minutos, acondicionadas em microtubos de 1,5 mL e armazenadas a -20°C até a realização da imunofluorescência indireta.

A prova sorológica foi realizada no Laboratório do Núcleo de Pesquisa em Zoonoses (NUPEZO), FMVZ, UNESP, Botucatu-SP, de acordo com BRASIL (2003). A RIFI foi realizada a partir da diluição inicial do soro a 1:20 (10 µL de soro para 190 µL de PBS pH 7,2). As amostras foram diluídas seriadamente até a diluição final 640. Como antígeno, utilizou-se promastigotas de *L. chagasi* e *L. major*, mantidas em meio NNN e LIT no Laboratório do NUPEZO. Foram incluídos controle positivo e negativo em todas as lâminas.

RESULTADOS

Das 174 amostras analisadas, todas foram negativas sorologicamente para leishmaniose. Alguns dos animais apresentaram-se com problemas respiratórios, diarreia e algumas lesões de pele. A população analisada compreendia 57 fêmeas e 117 machos.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo fazem parte de um estudo epidemiológico que deve ser realizado no Brasil, pois atualmente há grande trânsito de animais em todo o país, e animais de áreas consideradas endêmicas podem ser introduzidos em locais onde não há casos de leishmaniose.

O fato dos 174 animais analisados provenientes de situações diferentes de hábitat (CCZ, gatil e proprietários) terem sido negativos para anticorpos anti-*L. major* e *L. chagasi*, não exclui a participação desses na epidemiologia da leishmaniose em Brasília, já que segundo COSTA et al. (2010) verificou a importância da utilização de mais de uma técnica para o diagnóstico definitivo da leishmaniose, principalmente em gatos, dos quais há poucos estudos, aliando-se sempre os resultados encontrados com a epidemiologia da leishmaniose na área onde vive o animal e aos dados clínicos.

Na Espanha foram avaliados 183 gatos de área endêmica e 28 de área não endêmica para leishmaniose pela técnica parasitológica, sorológica (RIFI) e molecular (PCR). Nenhuma cultura foi positiva, 60% dos animais foram positivos sorologicamente com títulos variáveis, e 25,7% foi positivo na PCR (MARTÍN-SÁNCHEZ et al., 2007).

Em estudo realizado com 40 gatos capturados em área endêmica do Iran, quatro (10%) tiveram diagnóstico parasitológico e molecular positivo. Os autores sugerem que os gatos participam na epidemiologia da leishmaniose em áreas endêmicas do país (HATAM et al., 2010).

Apesar dos resultados negativos encontrados no presente estudo, a investigação da leishmaniose em felinos deve ser uma atividade de vigilância, uma vez que gatos assintomáticos podem ser positivos (SILVA et al., 2010), servindo de fonte de infecção para os vetores, tornando-se importante problema de saúde pública.

Como os gatos estão cada vez mais próximos do homem, sendo muitas vezes considerados membros da família, é importante que além da realização de inquéritos sorológicos sejam desenvolvidas atividades em saúde para a população em relação à

possibilidade dos gatos participarem da cadeia epidemiológica da transmissão de leishmaniose para o homem.

CONCLUSÕES

Os 174 felinos avaliados mostraram-se negativos para a presença de anticorpos anti-*L. major* e *L. chagasi*, agentes etiológicos de uma importante zoonose considerada endêmica no Brasil. Os resultados obtidos servem para reforçar a importância do estudo da epidemiologia da leishmaniose nos felinos, que parece ser diferente dos cães.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Ministério da Saúde do Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília, DF, 2003.
- COSTA, T.A.C.; ROSSI, C.N.; LAURENTI, M.D.; GOMES, A.A.D.; VIDES, J.P., SOBRINHO, L.S.V., MARCONDES, M. 2010. Ocorrência de leishmaniose em gatos de área endêmica para leishmaniose visceral. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** v. 47, n. 3, p. 212-217, 2010.
- HATAM, G.R.; ADNANI, S.J.; ASGARI, Q.; FALLA, H.E.; MOTAZEDIAN, M.H.; SADJADI, S.M. First report of natural infection in cats with *Leishmania infantum* in Iran. **Vector-Borne Zoonot Dis**, v. 10, n. 3, p. 313-316, 2010.
- MARTÍN-SÁNCHEZ, J.; ACEDO, C.; MUÑOS-PÉREZ, M.; PESSON, B.; MARCHAL, O.; MORILLAS-MÁRQUEZ, F. Infection by *Leishmania infantum* in cats: epidemiological study in Spain. **Veterinary Parasitology**, v. 30, n. 145, p. 267-273, 2007.
- SANTOS, T.A.B.; YOSHIOKA, M.K.; MIYAGUI, M.L.; MODENESE, T.D.; QUEIROZ, V.C. Leishmaniose visceral. **PUBVET**, v. 2, n. 25, art. 260, 2008.
- SILVA, S.M.; RABELO, P.F-B.; GONTIJO, N.F.; MELO, M.N.; RIBEIRO, V.M.; MICHALICK, M.S.M. First report of infection of *Lutzomyia longipalpis* by *Leishmania (Leishmania) infantum* from a naturally infected cat of Brazil. **Veterinary Parasitology**, 2010 (in press).

BACTERIOLOGIA E IMUNOISTOQUÍMICA NO DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO POR *ACTINOBACILLUS SEMINIS* EM CARNEIROS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS

BACTERIOLOGY AND IMUNOHISTOCHEMISTRY FOR DIAGNOSIS OF *ACTINOBACILLUS SEMINIS* IN EXPERIMENTALLY INFECTED RAMS
Mayara Campos Lombardi¹, Valéria Spyridion Moustacas², Teane Milagres Augusto Silva²,
Laura Ribeiro Vargas¹, Fernanda Guimarães Miranda¹, Valquíria Bull¹, Tatiane Alves da Paixão³, Renato de Lima Santos⁴

1. Graduandos da Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

2. Doutorandos da Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

3. Professora do Instituto de Ciências Biológicas, UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

4. Professor da Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. E-mail: rsantos.ufmg@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: actinobacilose, epididimite, vesiculite, histopatologia, ovinos

ABSTRACT

Actinobacillus seminis is the second most frequent cause of epididymitis in sheep flocks worldwide. The aim of this study was to describe the histopathological lesions of the epididymis and seminal vesicles of rams experimentally infected with *A. seminis* and compare bacteriology and immunohistochemistry to detect the agent in these tissues. Ten 18 to 24 month-old rams were intra-epididymally inoculated with 2×10^9 CFU of *A. seminis*. At 45 days post infection, rams were euthanized and necropsied. Fragments were collected from the head, body and tail of the left and right epididymis and left and right seminal vesicle from all rams for bacteriology, histopathology, and immunohistochemistry. Inflammatory lesions were observed in 21% of the tissue samples, and 30% and 22% of which were positive bacteriology and immunohistochemistry, respectively. Frequency of positive samples were similar between bacteriology and immunohistochemistry. The agent was confirmed by both techniques in tissues that had significant inflammatory lesions, whereas immunohistochemistry located the organisms within lesions. Alternatively, the agent was detected by bacteriology even in tissues that there were no significant inflammatory lesions. Epididymitis associated with pyogranulomas and vesiculitis were consistent with infection by *A. seminis*.

KEYWORDS: actinobacilosis, epididymitis, vesiculitis, histopathology, sheep

INTRODUÇÃO

As patologias do trato reprodutivo, especialmente as infecto-contagiosas, são de grande importância na criação de ovinos, causando consideráveis perdas econômicas devido à

redução da fertilidade dos rebanhos. *A. seminis* é considerado o segundo maior causador de epididimite em ovinos nos rebanhos de várias partes do mundo. É um habitante natural da mucosa do prepúcio ovino e, geralmente, condições estressantes predis põem o desenvolvimento de orquite e epididimite por este agente em carneiros jovens (CARVALHO JUNIOR et al., 2010).

A doença pode apresentar curso agudo ou crônico com manifestação uni ou bilateral e com lesões macro e microscópicas muito semelhantes das causadas por *B. ovis*. (BURGUESS, 1982). Desta forma, é importante o uso de métodos diagnósticos que auxiliem a histopatologia no diagnóstico etiológico definitivo. O objetivo deste estudo é descrever as lesões histopatológicas de epidídimo e vesícula seminal de carneiros infectados experimentalmente com *A. seminis* e comparar a bacteriologia e imunoistoquímica para o diagnóstico do agente nestes tecidos.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em um grupo de 10 carneiros saudáveis, entre 18 e 24 meses de idade. O procedimento envolvendo animais foi aprovado pelo comitê de ética (CETEA - UFMG, protocolo 285/2008). Os animais foram inoculados por via intra-epididimária com suspensão contendo $2,3 \times 10^{10}$ UFC de *A. seminis* na cauda do epidídimo esquerdo, segundo a metodologia descrita por AL-KATIB & DENNIS (2007). Após 45 dias de inoculação, os carneiros foram eutanasiados e necropsiados. Foram coletados fragmentos cabeça, corpo e cauda do epidídimo e vesícula seminal de todos os carneiros.

Para bacteriologia, tecidos foram coletados em 2 mL de PBS estéril, macerados e plaqueados em meio GC (Bectron Dickinson, CA, EUA) contendo 1% de hemoglobina e incubados em estufa a 37°C por 48h. Para o exame histopatológico, os tecidos coletados em formalina tamponada a 10% foram processados pela técnica rotineira de inclusão em parafina e corados em Hematoxilina e Eosina (HE). Foi feita a descrição morfológica das lesões e as lesões inflamatórias classificadas conforme intensidade. Cortes de tecido em parafina foram processados para imunoistoquímica pela técnica estreptoavidina-biotina-peroxidase (Dako cytometry, Carpinteria, CA). Foi utilizado um anticorpo policlonal anti-*A. seminis* de coelho (diluição 1:1000) como anticorpo primário. A imunomarcagem foi revelada com cromógeno diaminobenzidina (DAB, Dako) e os cortes contracorados com hematoxilina Harris.

A frequência de positividade dos tecidos avaliados (n=77) foi comparada entre bacteriologia e imunoistoquímica e analisada pelo teste exato de Fischer, e a ocorrência de lesões inflamatórias observadas no exame histopatológico foi correlacionada com detecção do

agente pelas duas técnicas.

RESULTADOS

O epidídimo e vesícula seminal foram os órgãos do sistema reprodutor que apresentaram maior frequência de alterações macroscópicas durante a necropsia, e por esta razão foram selecionados para este estudo. Lesões histopatológicas foram observadas em 21% (27/77) dos tecidos avaliados. As lesões na cabeça dos epidídimos foram caracterizadas por infiltrado inflamatório linfo-histio-plasmocitário intersticial multifocal a difuso. No corpo, além do infiltrado mononuclear no interstício, também foi observado pequenos granulomas espermáticos em dois animais e infiltrado linfo-histiocitário multifocal perivascular. Macrófagos repletos de material ceróide focalmente extenso na cápsula foram observados em um carneiro. As lesões observadas na cauda do epidídimo foram: infiltrado linfo-histio-plasmocitário intersticial multifocal a difuso crônico, hiperplasia ductal, cistos intra-epiteliais, infiltrado neutrofílico (microabscessos) ou misto intra-epitelial e/ou intra-luminal. Piogranulomas extensos formados por neutrófilos, macrófagos, macrófagos epitelióides e/ou células gigantes multinucleadas, área central de necrose contendo espermatozóides e/ou bactérias, foram observados em sete carneiros. Na vesícula seminal, observou-se infiltrado inflamatório linfo-histio-plasmocitário multifocal, infiltrado neutrofílico intra-epitelial e infiltrado neutrofílico e histiocitário intra-luminal. A distribuição, frequência e intensidade das alterações inflamatórias estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1: Distribuição, frequência e intensidade de lesões inflamatórias no epidídimo e vesícula seminal de carneiros experimentalmente infectados com *A. seminis*

Tecido	Cb E	Cb D	Co E	Co D	Cd E	Cd D	VS E	VS D
Animais	2/10	2/10	4/9	1/10	10/10	2/10	6/8	0/10
Média do Score *	0,2	0,2	0,7	0,1	2,3	0,2	1,3	0

*Score da lesão inflamatória 0=ausente, 1=discreto, 2=moderado, 3=intenso. Cb= Cabeça epidídimo, Co= Corpo do epidídimo, Cd= Cauda do epidídimo, VS= Vesícula seminal, E= esquerdo, D=direito.

Não foi possível detectar o agente em todas as lesões inflamatórias descritas, sendo que 30% (8/27) dos tecidos com lesões foram positivos bacteriologia e 22% (6/27) positivos para imunoistoquímica. A frequência de resultados positivos na bacteriologia, 10% (13/77), foi estatisticamente semelhante à imunoistoquímica com 5% (6/77). Cabe ressaltar que 100% das amostras positivas na imunoistoquímica apresentavam lesões inflamatórias intensa a moderada. A imunomarcagem foi observada dentro de piogranulomas na cauda do epidídimo esquerdo de quatro animais e na vesícula seminal de dois animais, as bactérias foram detectadas no citoplasma de macrófagos no lume glandular. Por outro lado, somente 61,5% (8/13) das amostras positivas para bacteriologia apresentaram lesões inflamatórias na histopatologia.

DISCUSSÃO

Os carneiros experimentalmente infectados com *A. seminis* apresentaram lesões compatíveis com infecção. A infecção por *A. seminis* resulta em edema, inflamação crônica e fibrose intersticial do epidídimo, que pode levar a oclusão dos ductos epididimários. Carneiros afetados podem apresentar abscessos e granulomas espermáticos em diferentes porções do epidídimo. Como consequência do processo inflamatório, pode ocorrer degeneração testicular com redução ou mesmo ausência completa de espermatozoides nos ductos epididimários. (CARVALHO JUNIOR et al., 2010).

Como esperado, as lesões foram mais frequentes e mais intensas na cauda do epididímo esquerdo, local de inoculação. Entretanto, a vesícula seminal foi outro tecido com maior frequência e intensidade de lesão, demonstrando que o agente pode disseminar e causar lesões em outros órgãos do trato genital. O *A. seminis* já foi isolado na vesícula seminal e glândula bulbo uretral, além dos epidídimos em animais infectados experimentalmente por via intra-epididimária (BAYNES & SIMMONS, 1960).

O agente foi confirmado por bacteriologia ou imunoistoquímica em tecidos que apresentaram lesões inflamatórias mais significativas, sendo que a imunoistoquímica foi capaz de determinar a localização da bactéria nas lesões e confirmar o papel da infecção na gênese dos granulomas espermáticos. Por outro lado, a bacteriologia detectou o agente mesmo em tecidos que não havia lesões inflamatórias significativas, sugerindo que a infecção por *A. seminis* no trato genital dos carneiros pode ocorrer sem que haja lesões e, conseqüentemente, sem sinais clínicos da doença.

CONCLUSÃO

Epididimite associada à piogranulomas e vesiculite observada em casos de infecção por *A. seminis* estão associados à presença no agente na lesão. A imunoistoquímica é útil no diagnóstico da infecção por *A. seminis*, particularmente nos casos em que se observam lesões microscópicas compatíveis com a infecção.

AGRADECIMENTOS

Apoio: FAPEMIG e CNPq.

REFERÊNCIAS

- AL-KATIB, W.A., DENNIS, S.M. Epididymal and testicular lesions in rams following experimental infection with *Actinobacillus seminis*. [New Zealand Veterinary Journal](#), v.55, p. 125-129, 2007.
- BAYNES, I.D., SIMMONS, G.C. Ovine epididymitis caused by *Actinobacillus seminis* n sp. **Australian Veterinary Journal**, v.36, p.454-9, 1960.
- BURGESS, G.W. Ovine contagious epididymitis: a review. **Veterinary Microbiology**, v.7, p.551-575, 1982.
- CARVALHO JUNIOR, C.A. XAVIER, M.N.; COSTA, L.F.; SILVEIRA, S.S.; SANT'ANNA, F.M. BORGES, A.M.; GOUVEIA, A.M.G.; SANTOS, R.L. Agentes infecciosos que podem promover infertilidade em machos da espécie ovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.34, p.160-167, 2010.

EXPRESSÃO DE MMP-2 E MMP-9 EM PRÓSTATAS CANINAS NORMAIS E COM LESÕES PROLIFERATIVAS

MMP-2 AND MMP-9 IN CANINE PROSTATE: EXPRESSION IN NORMAL AND WITH PROLIFERATIVE DISORDERS

Mariana Batista Rodrigues Faleiro¹, Denise Caroline Toledo¹, Giuliana. Brasil Croce²,
Marcela Marcondes Pinto Rodrigues², Adilson Donizetti Damasceno⁴, Renée Laufer
Amorim³, Veridiana Maria Brianezi Dignani De Moura⁴

1. Pós-graduando em Ciência Animal, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás (EVZ-UFG), Goiânia, GO, Brasil. E-mail: marianafavet@hotmail.com

2. Pós-graduanda em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (FMVZ-UNESP), Botucatu, SP, Brasil.

3. Professor Adjunto, Serviço de Patologia Veterinária, FMVZ-UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

4. Professor Adjunto, EVZ-UFG, Goiânia, GO, Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: carcinoma prostático, gelatinases, PIA, PIN, TMA.

ABSTRACT

The expression of MMP-2 and MMP-9 in normal canine prostates and with prostatic proliferative disorders was evaluated to establish the role of these enzymes in ECM remodeling and in the tumor invasion processes. A total of 363 diagnoses were obtained from 57 prostates of uncastrated adult dogs with or without prostatic diseases. The diagnoses were 36 (9.9%) normal prostates, 49 (13.5%) BPH, 132 (36.4%) PIA, 75 (20.7%) PIN and 71 (19.6%) carcinoma. Differences in cytoplasmatic immunohistochemical staining of MMP-2 and MMP-9 antibodies were found regarding the different diagnosis. The correlation between MMP-2 and MMP-9 occurred just in canine prostates with PIA. There was lower expression of MMP-2 and MMP-9 in canine normal prostates and with BPH, whereas in prostates with PIA, PIN and carcinoma it is higher.

KEYWORDS: gelatinases, PIA, PIN, prostatic carcinoma, TMA.

INTRODUÇÃO

A invasão tumoral consiste em etapas que incluem a interação das células tumorais com a matriz extracelular (MEC), com degradação e migração pela mesma. Dentre as enzimas proteolíticas envolvidas na invasão tumoral estão as metaloproteinases de matriz 2 e 9 (MMP-2 e MMP-9), que clivam o subproduto do colágeno (EGEBLAD & WERB, 2002).

O envolvimento de MMP-2 e MMP-9 nos tumores caninos e a relação com o grau tumoral foram demonstrados pela primeira vez por LOUKOPOULOS et al. (2003), mas não há registros até o momento sobre a participação das MMP nos processos proliferativos da

próstata canina. Assim, este estudo teve por objetivo verificar a expressão de MMP-2 e MMP-9, bem como a correlação entre as mesmas no tecido prostático canino normal e com alterações proliferativas, buscando avaliar o papel dessas enzimas no remodelamento da MEC e no processo de invasão tumoral.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 57 próstatas de cães acima de quatro anos, não castrados e que apresentassem ou não histórico de afecção prostática, provenientes da rotina necroscópica. As próstatas foram colhidas, identificadas, fixadas em formol tamponado a 10%, processadas e incluídas em parafina. Para a avaliação histomorfológica foram confeccionados cortes de 3µm, corados em HE e classificados em normal e com HPB, PIA, PIN e carcinoma. Das 57 próstatas foram obtidas 149 amostras, utilizadas para a confecção do bloco de TMA e realização da imunohistoquímica com o anticorpo monoclonal anti-MMP-2 (clone A-Gel VC2-DBS - Mob 312), na diluição de 1:25 e recuperação antigênica em banho-maria a 96°C, por 30 minutos, com tampão citrato 10mM, pH 6,0, e com o anticorpo policlonal anti-MMP-9 (Dako A0150), na diluição de 1:200 e recuperação antigênica em banho-maria a 96°C, por 20 minutos, com tampão TRIS-EDTA pH 9,0. A incubação de ambos os anticorpos se deu em câmara úmida, durante 18 horas, a 4°C. Os bloqueios da peroxidase endógena e de fundo foram realizados em H₂O₂ a 8% e em solução de leite em pó a 10% (Molico® - 10g/100 ml H₂O destilada), respectivamente. Utilizou-se o sistema de amplificação de sinais Advance HRP (Dako K4068) e DAB (Dako K3468-1). Como controles positivo e negativo foram utilizados placenta humana/MMP-2 e 9 e próstata canina/tampão TRIS pH7,4, respectivamente. Foram avaliados de forma semi-quantitativa a intensidade de marcação e o número de células marcadas, ambos nas células epiteliais e estromais periacinares, utilizando-se os escores zero a três para as marcações negativa, discreta, moderada e acentuada, respectivamente, e os escores zero a quatro para negativo, 1 a 25%, 26 a 50%, 51 a 75% e 76 a 100%, para o número de células marcadas, respectivamente. Utilizaram-se dados descritivos e os testes Kruskal-Wallis e Mann Whitney para a comparação das variáveis intensidade de marcação e número de células marcadas entre os diagnósticos e teste correlação de Spearman para correlacionar a expressão dos anticorpos em próstatas normais e com lesões proliferativas, com significado para p<0,05.

RESULTADOS

Para obter o maior número de lesões por amostra e maior representatividade foram utilizados dois níveis de corte do bloco de TMA. Assim, de duas lâminas de TMA com 149

cores cada, avaliaram-se 298 cores, sendo obtidos 363 diagnósticos, já que um core eventualmente apresentou mais de um diagnóstico. Dos 363 diagnósticos, 36 (9,9%) eram normais, 49 (13,5%) HPB, 132 (36,3%) PIA, 75 (20,7%) PIN e 71 (19,6%) carcinomas. Foi obtida marcação para MMP-2 e MMP-9 com a expressão variando dentro dos escores considerados, a depender do tipo de diagnóstico. Em relação às variáveis número de células marcadas e intensidade de marcação para MMP-2 nas células epiteliais e estromais verificou-se diferença entre normais e HPB, PIA, PIN e carcinoma e entre HPB e PIA, PIN e carcinoma, respectivamente. Em relação às mesmas variáveis para MMP-9 verificou-se diferença entre tecido prostático normal e PIA, PIN e carcinoma. Entre tecido prostático normal e hiperplásico houve diferença em relação a ambas as variáveis para células estromais. Com relação aos diagnósticos HPB e PIA, assim como entre HPB e PIN, a diferença foi apenas quanto à variável número de células marcadas no epitélio acinar. Entre HPB e carcinoma foi observada diferença no número de células marcadas e na intensidade de marcação das células epiteliais. Ainda, houve diferença entre PIN e carcinoma quanto à intensidade de marcação das células epiteliais. Observou-se correlação entre os anticorpos MMP-2 e MMP-9 apenas em próstatas com PIA quanto ao número de células epiteliais e estromais periacinares marcadas e intensidade de marcação nas estromais periacinares.

DISCUSSÃO

Constatou-se maior expressão epitelial e estromal de MMP-2 nas glândulas com PIA, PIN e carcinoma em relação às normais e com HPB. Da mesma forma, ZHONG et al. (2008) observaram maior expressão de MMP-2 e MMP-9 em próstatas humanas neoplásicas do que nas normais ou com HPB, respectivamente. Na comparação de expressão de MMP-2 entre as lesões displásicas (PIA e PIN) e o carcinoma, não houve variação na marcação, sendo acentuada em todos. De acordo com BÖHLE & KALTHOFF (1999), a superexpressão das MMP é mediada por fatores de crescimento e citocinas secretados pelas células neoplásicas, estromais e inflamatórias. Assim, é provável que a maior expressão de MMP-2 e MMP-9 na PIA da próstata canina seja, em parte, mediada pelas células inflamatórias do estroma periacinar, característica que reforça a ideia do potencial pré-maligno da lesão, visto que quanto maior a concentração de MMP maior a atividade de proteólise da MEC. Assim, as células epiteliais displásicas da PIA e as inflamatórias do estroma estariam envolvidas nos processos transformação neoplásica e invasão tumoral. Acerca disso, MOOK et al. (2004) também sugerem que o aumento na expressão de MMP-9 em tumores acompanhados de inflamação resulta em proteólise localizada e contribui para a invasão tumoral.

A expressão da MMP-9 é maior em próstatas caninas com lesões pré-malignas e com carcinoma em relação às normais e com HPB. Ainda, a intensidade de marcação da MMP-9 nas células epiteliais dos carcinomas é maior do que nas da PIN, sugerindo maior atividade proteolítica e, portanto, maior potencial de invasão do tecido prostático maligno em relação ao pré-maligno não acompanhado de inflamação, sendo que esta hipótese corrobora a descrição de que a MMP-9 é expressa principalmente por células malignas (NAGAOKA & HIROTA, 2000). Como não houve diferença nas variáveis de expressão da MMP-9 entre a PIA e o carcinoma, conclui-se que estas lesões apresentam o mesmo perfil de expressão para MMP-9, sendo provável que as células tumorais sejam as responsáveis pelo aumento na expressão da mesma, como descreve ZHONG et al. (2008), ao passo que na PIA o aumento parece ter maior relação a inflamação do estroma. Na correlação de expressão entre as MMPs na próstata canina normal e com lesões proliferativas, foi verificada correspondência entre essas enzimas apenas em próstatas com PIA, ou seja, em um microambiente inflamatório as MMP-2 e 9 apresentam aumento de expressão concomitante e equivalente, particularmente nas células estromais, o que inicialmente sugere maior potencial de proteólise da MEC e da membrana basal, facilitando a incursão por células epiteliais com capacidade invasiva.

CONCLUSÕES

Há variação na expressão das MMP-2 e MMP-9 na próstata canina de acordo com a lesão, com menor expressão nas normais e com HPB e maior naquelas com PIA, PIN e carcinoma. Ainda, a correlação entre MMP-2 e MMP-9 em próstatas caninas com PIA indica que a inflamação influencia a atividade dessas enzimas, com aumento simultâneo na expressão de ambas no microambiente inflamatório.

REFERÊNCIAS

- BÖHLE, A.S.; KALTHOFF, H. Molecular mechanisms of tumor metastasis and angiogenesis. **Langenbeck's archives of surgery**, Berlin, v. 384, n. 2, p. 133-140, 1999.
- EGEBLAD, M.; WERB, Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression, **Nature Reviews Cancer**, London, v. 2, n. 1, p. 161-174, 2002.
- LOUKOPOULOS, P.; MUNGALL, B.A.; STRAW, R.C.; THORNTON, J.R.; ROBINSON, W.F. Matrix Metalloproteinase-2 and -9 Involvement in Canine Tumors. **Veterinary Pathology**. Lawrence, v. 40, n. 4, p. 382-394, 2003.
- MOOK, O. R. F.; FREDERIKS, W. M.; VAN NOORDEN, C. J. F. The role of gelatinases in colorectal cancer progression and metastasis. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1705, n. 2, p. 69-89, 2004.
- NAGAOKA, I.; HIROTA, S. Increased expression of matrix metalloproteinase-9 in neutrophils in glycogen-induced peritoneal inflammation of guinea pigs. **Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society**, Basel, v.49, n.2, p.55-62, 2000.
- ZHONG, W.; HAN, Z.D.; HE, H.C.; BI, X.C.; DAÍ, Q.S.; ZHU, G.; YE, Y.K.; LIANG, Y.X.; QIN, W.J.; ZHANG, Z.; ZENG, G.H.; CHEN, Z.N. CD147, MMP-1, MMP-2 and MMP-9 Protein Expression as Significant Prognostic Factors in Human Prostate Cancer. **Oncology, International Journal of Cancer Research and Treatment**, Basel, n.75, p.230-236, 2008.

AVALIAÇÃO DE MEDULA ÓSSEA EM CÃES DOENTES

EVALUATION OF BONE MARROW IN SICK DOGS

Nicole Hlavac^{1*}, Viviane Guyoti¹, Luciele Teixeira¹, Ana Elize D'ávila², Francisco Conrado³,
Tatiana Guerra³, Luciana de Almeida Lacerda⁴, Félix González⁴

1. Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.
 2. Médica veterinária autônoma, especialista em Patologia Clínica Veterinária
 3. Residente de Patologia Clínica Veterinária, Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias, Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, UFRGS
 4. Professor, Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, UFRGS
- * Autor para correspondência: nicole.hlavac@unoesc.edu.br

PALAVRAS-CHAVE: diagnóstico, doenças hematológicas, pequenos animais

ABSTRACT

The bone marrow examination is considered a valuable tool to the diagnosis and study of hemopoietic diseases. The patients were classified into a number of hematological and cytological diseases. Aspiration of bone marrow was done in 32 dogs; in all cases this procedure was clinically relevant to support the definitive diagnosis. Differential cell counts on bone marrow smears were examined in relation to the blood variables in all animals. The objective of this work was to evaluate the relevance of the bone marrow findings in various diseases. In this retrospective study we can observe that in 81,25% of the cases the bone marrow evaluation was necessary for the diagnosis.

KEYWORDS: Diagnostic, hematologic diseases, small animals

INTRODUÇÃO

A avaliação de medula óssea (MO) é considerada uma ferramenta importante no estudo das doenças hematopoiéticas. Existem muitos estudos sobre o uso de biópsia aspirativa e incisional de MO em cães e gatos, mas existem poucos estudos clínicos detalhados sobre as alterações deste órgão em enfermidades específicas. A avaliação de medula óssea (MO) é indicada para detectar anormalidades que não podem ser identificadas durante uma avaliação rotineira de sangue periférico (HOFF, 1985; HARVEY, 2001). Este trabalho tem como objetivo avaliar a relevância dos achados de MO em diferentes doenças que acometem cães.

MATERIAL E MÉTODOS

Os mielogramas e respectivos hemogramas foram realizados entre março de 2008 e junho de 2011, pela equipe do Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e foram avaliados juntamente com a suspeita clínica de cada paciente.

As colheitas de MO foram realizadas mediante anestesia geral do paciente seguida de tricotomia e antissepsia do local a ser puncionado. Foram utilizadas agulhas do tipo *Rosenthal* e *Jamishidi* (16 a 18 G). Os esfregaços obtidos através das espículas ósseas coletadas foram fixados e corados com Wright (corante tipo *Romanowsky*), também foi realizada coloração de *Perls* para ferro. O sangue periférico foi colhido logo após a punção da MO em tubos contendo EDTA-K₃ para realização de hemograma. A avaliação dos mielogramas foi realizada por um patologista clínico experiente.

Todos os procedimentos foram realizados com acompanhamento do clínico responsável pelo caso e supervisionado por um anestesista. As colheitas foram realizadas somente com consentimento do proprietário. A análise dos dados foi realizada através de estatística descritiva.

RESULTADOS

Trinta e dois mielogramas de cães foram realizados no período deste estudo. Os pacientes foram divididos de acordo com a indicação de coleta de MO (Tabela 1).

Tabela 1: Classificação dos cães submetidos à coleta de medula óssea de acordo com grupo de doença.

GRUPOS DE DOENÇAS	CASUÍSTICA	%
Anemia arregenerativa	2	6,25
Anemia semi-regenerativa	2	6,25
Anemia regenerativa	2	6,25
Linfocitose persistente	2	6,25
Linfoma	15	46,88
Neutrofilia persistente	1	3,13
Outra neoplasia	1	3,13
Pancitopenia	2	6,25
Policitemia	1	3,13
Trombocitopenia persistente	4	12,50
TOTAL	32	100

Nos casos de anemia arregenerativa, e um dos pacientes com anemia semi-regenerativa apresentavam anemia normocítica hipocrômica, e no mielograma diminuição da relação mielóide:eritróide (M:E), hiper celularidade, hiperplasia eritróide e estoque de ferro normal. Achados compatíveis com doença inflamatória crônica. Anemias semi-regenerativas não são indicações de coleta MO, entretanto em um cão deste grupo foi possível identificar ausência de estoque de ferro na MO. Com auxílio de outros exames complementares diagnosticou-se anemia por deficiência de ferro. Um dos pacientes com anemia regenerativa

tratava-se de um canino com deficiência eritrocitária de piruvato quinase, em que o mielograma é utilizado com a finalidade de identificar depósito de ferro neste órgão, que neste caso estava normal.

O estadiamento de linfoma representa 46,8% (15/32) do total das colheitas realizadas no período. Todavia não foram observadas alterações relevantes na hematopoiese medular nos animais avaliados. Em apenas 6% (1/15) diagnosticou-se leucemia linfóide. A outra neoplasia a ser avaliada quanto a infiltração na MO foi um lipossarcoma, neste caso a MO estava normocelular e não foram observadas células neoplásicas. No grupo de linfocitose persistente em ambos os casos observou-se mais de 90% ($< 50.000/\mu\text{L}$) de linfócitos em sangue periférico. A MO apresentou-se hiperclular com aumento da linhagem linfóide, e predomínio de linfócitos maduros ($< 50\%$), compatível com leucemia linfóide.

No caso de policitemia não foi observada nenhuma alteração na MO, descartando a presença de leucemia eritróide. No grupo de trombocitopenia persistente se identificou hiperplasia megacariocítica, celularidade de normal a elevada, e relação M:E normal, confirmando a suspeita diagnóstica de trombocitopenia imunomediada. No paciente com neutrofilia persistente observou-se alteração no hemograma compatíveis com reação leucemóide, no mielograma observou-se aumento da relação M:E e da celularidade. Todas as linhagens apresentavam maturação ordenada e completa; corroborando com a suspeita de reação leucemóide e descartando processo neoplásico. Em ambos os casos de pancitopenia diagnosticou-se aplasia de MO. No mielograma observou-se pouca quantidade de espículas ósseas e celularidade entre 5 a 10%; não havendo células hematopoiéticas suficientes para contagem diferencial.

Em 81,25% (26/32) dos casos foi necessária a realização do mielograma a fim de direcionar o diagnóstico definitivo. Para elaboração destes resultados consideram-se as situações em que as alterações clínicas e laboratoriais sustentam a necessidade de punção de MO. Pode-se observar que em alguns casos onde o mielograma não foi relevante para identificar a etiologia ou para fundamentar o diagnóstico definitivo, também não era totalmente indicado. Assim, mais investigações clínicas para identificação da origem do processo poderiam ser realizadas previamente ao mielograma.

DISCUSSÃO

A avaliação dos estoques de ferro no cão é fundamental para diferenciar doença inflamatória crônica de deficiência nutricional de ferro ou perda crônica de sangue, quando os estoques de ferro estarão ausentes, como detectado em um dos casos de anemia semi-

regenerativa (GRIDEM, et al, 2008). Nos casos de deficiência eritrocitária de piruvato quinase o paciente evolui com anemia intensamente regenerativa e hemossiderose, portanto a avaliação da MO a fim de avaliar se há aumento do estoque de ferro é indicada (HARVEY, 2008).

Neste estudo foram identificados três casos de leucemia linfocítica crônica em caninos. Em apenas dois casos observou-se linfocitose persistente, o outro caso tratava-se de um estadiamento de linfoma com valores periféricos normais, apenas com discreta anemia. Todas as situações eram indicações de coleta de MO, e as alterações encontradas foram compatíveis com as possibilidades de diagnóstico diferencial (AVERY & AVERY, 2007).

No grupo de pancitopenia, dois casos foram diagnosticados como aplasia medular. A aplasia medular pode estar associada a uma série de fatores como agentes infecciosos, intoxicação por estrógeno, administração de alguns medicamentos ou exposição crônica a compostos tóxicos. Entretanto em ambos os casos não foi possível identificar a causa primária do processo (HARVEY, 2001; CONRADO et al, 2009).

Nos pacientes com trombocitopenia persistente observou-se hiperplasia megacariocítica, indicando destruição ou utilização periférica de plaquetas, sustentando o diagnóstico de trombocitopenia imunomediada. Da mesma forma, nos casos de policitemia, neutrofilia persistente os achados estão de acordo com a descrição da literatura (HARVEY, 2001; GRIDEM, 2008).

CONCLUSÕES

Neste estudo, a técnica se mostrou eficaz para direcionar e estabelecer o diagnóstico clínico dos pacientes. Com isso espera-se que os dados encorajem o uso mais efetivo da biópsia aspirativa ou incisional de MO no auxílio ao diagnóstico clínico.

REFERÊNCIAS

- AVERY, A.C.; AVERY, P.R. Determining the significance of persistent lymphocytosis. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**. v. 37, p. 267-282, 2007
- CONRADO, F.O. ; RODRIGUES, B.A. ; LACERDA, L.A. ; LASTA, C.S. ; ESTEVES, V.S.; GONZÁLEZ, F.H.D. . Use of lithium carbonate in the treatment of a suspected case of oestrogen-induced bone marrow aplasia in a bitch. *Veterinary Record*, v. 164, p. 274-275, 2009.
- GRIDEM, C.B.; TYLER, R.D.; COWEL, R.L. A medula óssea. In: COWEL, R.L.; TYLER, R.P.; MEINKOTH, J.H., DeNICOLA, D. **Diagnóstico Citológico e Hematologia de Cães e Gatos**. 3^oed. São Paulo:MedVet. p. 423 - 451. 2008
- HARVEY, J.W. Bone marrow examination. In: _____. **Atlas of Veterinary Hematology**. Philadelphia: Saunders. p. 93 – 161. 2001
- HARVEY, J. Pathogenesis, laboratory diagnosis, and clinical implications of erythrocyte enzyme deficiencies in dogs, cats, and horses. **Veterinary Clinical Pathology**. v. 35 (2), p. 144 – 156, 2008
- HOFF, B.; LUMSDEN, J.H.; VALLI, V.E.O. An appraisal of bone marrow in assessment of sick dogs. **Canadian Journal of Comparative Medicine**. v. 49, p.34-42, 1985

AValiação Imunoistoquímica de Receptores de Estrógeno Alfa, Beta e Progesterona em Mastocitomas Cutâneos Caninos
IMMUNOHISTOCHEMICAL EVALUATION OF ESTROGEN ALFA, BETA AND PROGESTERONE RECEPTORS IN CANINE CUTANEOUS MAST CELL TUMORS

Raquel Beneton Ferioli ¹, Rafael Torres Neto ², Juliana Werner ³, Renée Laufer Amorim ⁴

1. Aluna de mestrado, FMVZ-UNESP, Botucatu, SP, Brasil. Email: raquel.ferioli@fmvz.unesp.br

2. Pós-doutorando, FMVZ-UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

3. Laboratório de Patologia Veterinária Werner & Werner, Curitiba, PR, Brasil.

4. Profa. Adjunto Renée Laufer Amorim, FMVZ-UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: imunoistoquímica, micro-arranjo de tecidos, receptores de hormônios sexuais.

ABSTRACT

Cutaneous mast cell tumors are among the most common tumors in dogs and are the most common type of skin cancer found in dogs. With the use of immunohistochemistry, estrogen and progesterone receptors has been identified in several human and animal tumors. Compared with estrogen receptor alfa, there are few studies in the veterinary literature about validation of the IHC assays for progesterone receptor. The aim of this study was to evaluate the presence of estrogen (alfa and beta) and progesterone receptors in canine cutaneous mast cell tumors. The estrogen receptor beta (RE β) expression correlated with the worse prognostic tumors and the animal gender considering the RE β score.

KEYWORDS: immunohistochemistry, hormones receptors, tissue microarray.

INTRODUÇÃO

O mastocitoma cutâneo canino (MTC) é a neoplasia maligna que mais acomete a pele dos cães (KIUPEL et al., 2011). Não há predileção sexual, porém, há uma forte evidência de predisposição racial, (KIUPEL et al., 2011). Estrógenos fazem parte de uma família de hormônios esteróides que desempenham um papel importante em reprodução e regulam muitos processos biológicos, suas ações são mediadas por ligações aos receptores de estrógeno (REs) (LO & MATTHEWS, 2010). O receptor de estrógeno alfa (RE α) regula a expressão de receptores de progesterona (RpGs), portanto a presença de RpGs geralmente indica que a via do RE α está intacta e funcional (ALLRED, 2010). Uma vez expresso os RpGs são ativados pelo hormônio progesterona que regula diversas funções celulares normais importantes, incluindo proliferação celular (ALLRED, 2010).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a expressão de RE α , RE β e RpGs, pela técnica de imunistoquímica em MTCs e correlacioná-los com o grau de malignidade do tumor (KIUPEL et al., 2011) e a expressão da proteína KIT (WEBSTER et al., 2004).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram selecionadas 49 amostras de MTCs, provenientes do Serviço de Patologia Veterinária da FMVZ/Unesp, Botucatu diagnosticados no período de 2000 a 2010 e 61 amostras do Laboratório Veterinário Werner e Werner, de Curitiba-PR, diagnosticados no período de 2007 a 2009, sendo 54 tumores de cães fêmeas e 46 tumores de machos. Os mastocitomas foram graduados de acordo com o sistema proposto por KIUPEL et al. (2011). Seguiu-se, então, a montagem da lâmina de micro-arranjo de tecido (TMA), com o uso do equipamento Tissue Microarray (Beencher Instruments[®], Silver Spring, USA) com *cores* de 1,0 mm². Estas lâminas foram utilizadas para técnica de imunistoquímica (RE α , RE β e RpGs) e coloração de HE. Para a quantificação dos núcleos positivos para RE α , RE β e RpGs, cada *core* do TMA foi avaliado em objetiva de 20X e a área de maior número de células positivas para RE α , RE β e RpGs foi escolhida. Para avaliação da intensidade de marcação das células em cada *core* utilizou-se escores de um a três, sendo (1): fraca, (2): moderada; (3): forte. Os dados foram analisados de acordo com o padrão de marcação de cada anticorpo (nuclear). Um sistema computadorizado (Leica QWin V3) foi utilizado para auxiliar na contagem dos núcleos dos mastócitos neoplásicos positivos e negativos para RE α , RE β e RpGs em um campo de 0,7mm², em objetiva de 40x. Os dados da expressão da proteína KIT (c-kit/CD117) foram obtidos de uma segunda lâmina do mesmo TMA de trabalho anterior desenvolvido pela mesma equipe de pesquisa. Os padrões de expressão da proteína KIT dos MTCs foram correlacionados com a porcentagem de células positivas para os receptores hormonais (RE α , RE β e RpGs).

As análises estatísticas foram realizadas pelos testes *t de Student*, de Qui-quadrado (grau de liberdade 1) e o teste exato de *Fisher*. O nível de significância de 5% e o *software* de análise utilizado foi o *GraphpadPrism* versão 3.0.

RESULTADOS

Dos MTCs de baixo grau de malignidade, 41,6% apresentaram escore 1 de intensidade e 58,4% escore 2 para RE α . MTCs de alto grau de malignidade, 50% apresentaram escore 1 e 50% escore 2 de intensidade para RE α . MTCs de baixo grau de

malignidade, 18,4% apresentaram escore 1 de intensidade, 36,7% escore 2 e 44,9% escore 3 para RE β . MTCs de alto grau de malignidade, 15,4% apresentaram escore 1, 38,5% escore 2 e 46,1% escore 3 para RE β . MTCs de baixo grau de malignidade, 17,8% apresentaram escore 1 de intensidade, 41,1% escore 2 e 41,1% escore 3 para RpGs. MTCs de alto grau de malignidade, 25% apresentaram escore 1, 50% escore 2 e 25% escore 3 para RpGs. Das fêmeas 50% apresentaram escore 1 e 50% escore 2 para RE α , 25,9% apresentaram escore 1 de intensidade, 22,2% escore 2 e 51,9% escore 3 para RE β e 9% apresentaram escore 1 de intensidade, 54,5% escore 2 e 37,5% escore 3 para RpGs. Dos machos 20% apresentaram escore 1 e 80% escore 2 para RE α , 5% apresentaram escore 1 de intensidade, 60% escore 2 e 35% escore 3 para RE β e 33% apresentaram escore 1 de intensidade, 67% escore 3 para RpGs.

A análise por escore de intensidade do RE β foi estatisticamente significativa em relação ao sexo dos animais ($p=0,0186$), sendo que, fêmeas (14) apresentaram mais amostras positivas com maior intensidade de marcação (escore 3) do que os machos (7 animais com escore 3). E quando comparada a porcentagem de células com marcação positiva entre os tumores de baixo e alto grau de malignidade, foram observados os valores ($p=0,97$) para o RE α e RPGs ($p=0,155$) houve diferença estatística ($p=0,012$) em relação ao RE β . A diferença na média de porcentagem de células positivas no total de células contadas para o anticorpo RE β entre os tumores com padrão membranoso e citoplasmático para o anticorpo CD117 foi significativa ($p=0,01$).

DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que estatisticamente a expressão do RE β correlacionou-se com tumores de pior prognóstico (alto grau de malignidade e proteína KIT padrão citoplasmático). Nas fêmeas foi observada expressão do RE β mais intensa do que em machos ($p=0,0186$). CARRIE et al. (2011), demonstraram que há um aumento no risco em desenvolver MTCs em fêmeas castradas comparado com fêmeas não castradas, sendo que o mesmo ocorreu com machos, porém com menor frequência. Todavia o trabalho de CARRIE et al. (2011), não cita qual hormônio exerceria este papel protetor em relação ao desenvolvimento de MTC, os achados do nosso trabalho sugerem que o estrógeno não seria este hormônio protetor, o que justificaria a oposição de dados. No entanto não foi possível obter os dados clínicos em relação ao estado reprodutivo de castração, dos animais do nosso trabalho, que podem complementar e justificar os nossos achados. A avaliação da presença de

receptores de estrógeno e progesterona em MTCs foi realizada em dois estudos, no primeiro (ELLING & UNGEMACH, 1982) pela primeira vez foi observada a presença destes receptores neste tipo de tumor, no entanto o outro estudo (LARSEN & GRIER, 1989) falhou em documentar a presença destas proteínas. Estes dados conflitantes podem advir do fato de que estes trabalhos utilizaram um número de amostras pequeno, valores de corte diferentes para a concentração de receptores hormonais e a técnica utilizada para ambos detecta REs e RpGs no citoplasma dos mastócitos.

CONCLUSÃO

A expressão do RE β nos MTCs correlacionou-se com os tumores de pior prognóstico, sendo que as fêmeas apresentaram um maior número de casos com intensidade de marcação moderado e forte.

AGRADECIMENTO

CAPES, Fapesp proc. 07-52520-7 e 08-53462-3, Serviço de Patologia Veterinária – FMVZ- Unesp Botucatu e Laboratório Werner & Werner, Curitiba, PR.

REFERÊNCIAS

- ALLRED, D. C. Issues and updates: evaluating estrogen receptor- α , progesterone receptor, and HER2 in breast cancer. **Modern Pathology**, v.23, p. S52-S59, 2010.
- CARRIE, R.W.; HOHENHAUS, A.E.; KELSEY, J.; PROCTER-GRAY, E. Cutaneous mast cell tumors: Associations with spay/neuter status, breed, body size, and phylogenetic cluster. **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 47, n. 3, p.1-7, 2011.
- ELLING, H.; UNGEMACH, F.R. Sexual hormone receptors in canine mast cell tumour cytosol. **Journal of Comparative Pathology**, v. 92, p. 629-630, 1982.
- LARSEN, A. E.; GRIER, R. L. Evaluation of canine mast cell tumors for presence of estrogen receptors. **American Journal of Veterinary Research**, v. 50, n. 10, p. 1779-1780, 1989.
- KIUPEL, M., WEBSTER, J. D., BAILEY, K. L., BEST, S., DELAY, J., DETRISAC, C. J., FITZGERALD, S. D., GAMBLE, D., GINN, P. E., GOLDSCHMIDT, M. H., HENDRICK, M. J., HOWERTH, E. W., JANOVITZ, E. B., LANGOHR, I., LENZ, S. D., LIPSCOMB, T. P., MILLER, M. A., MISDORP, W., MOROFF, S., MULLANEY, T. P., NEYENS, I., O'TOOLE, D., RAMOS-VARA, J., SCASE, T. J., SCHULMAN, F. Y., SLEDGE, D., SMEDLEY, R. C., SMITH, K., SNYDER, P. W., SOUTHORN, E., STEDMAN, N. L., STEFICEK, B. A., STROMBERG, P. C., VALLI, V. E., WEISBRODE, S. E., YAGER, J., HELLER, J., MILLER R. Proposal of a two-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. **Veterinary Pathology**, v. 48, p. 147-155, 2011.
- LO, R; MATTHEWS, J. A new class of estrogen receptor beta-selective activators. **Molecular Interventions**, v. 10, n. 3, p. 133-136, 2010.
- WEBSTER, J. D.; KIUPEL, M.; KANEENE, J. B.; MILLER, R.; YUZBASLIYAN-GURKAN, V. The use of KIT and tryptase expression patterns as prognostic tools for canine cutaneous mast cell tumors. **Veterinary Pathology**. v. 41, p. 371-377, 2004.
- YOUNES, M.; HONMA, N. Estrogen receptor β . **Archives of Pathology Laboratory Medicine**, v. 135, p. 63-66, 2011.

FATORES ASSOCIADOS À SEROPREVALÊNCIA DE *Neospora caninum* EM CÃES DO SUL DE MINAS GERAIS, BRASIL

FACTORS ASSOCIATED TO SEROPREVALENCE OF *Neospora caninum* IN DOGS IN SOUTHERN MINAS GERAIS, BRAZIL

Clayton Israel Nogueira¹, Camila Costa Abreu¹, Leonardo Pereira Mesquita¹, Christiane Maria Barcellos M. da Rocha², Josilene Nascimento Seixas², Pedro Soares Bezerra Jr.², Antônio Marcos Guimarães², Mary Suzan Varaschin^{2*}

1. Mestrando (a), Área Patologia, Clínica e Cirurgia, Depto. Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil.

2. Professor (a), Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil.

*e-mail: msvaraschin@dmv.ufla.br (autor para correspondência)

PALAVRAS-CHAVE: neosporose, canino, seroepidemiologia.

ABSTRACT

This study was conducted to determine the seroprevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies and to investigate the risk factors related to antibodies against *N. caninum* in dogs of southern Minas Gerais, Brazil. For this purpose, 703 blood samples were collected from dogs and on this occasion, questionnaires addressing epidemiological aspects were given to each dog owner. The sera were analyzed for anti-*N. caninum* antibodies by indirect fluorescent antibody tests. Of the 703 dogs, 80 (11,4%) were positive for *N. caninum* (titer 50). Dogs which don't receive industrial food, from rural areas, used for hunting, with history of reproductive disorders, from dairy farms, mainly with history of bovine abortion, had higher odds of seropositivity ($p < 0,05$).

KEYWORDS: neosporosis, canine, seroepidemiology.

INTRODUÇÃO

A neosporose é uma doença parasitária causada pelo protozoário *Neospora caninum*. Os cães são considerados hospedeiros definitivos (COLLANTES-FERNÁNDEZ et al., 2008), no entanto, quando são hospedeiros intermediários ou infectados congenitamente, podem apresentar sintomatologia neuromuscular (PARADIES et al., 2007), miocardite, dermatite e pneumonia (PLONECZKA & MAZURKIEWICZ, 2008). No Brasil, há uma variação na prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães de diferentes estados, variando de 8,3 a

21,6% (VALADAS et al., 2010). Quando se analisa diferentes populações caninas mundiais, esta soroprevalência pode atingir quase 100% (CRUZ-VÁZQUEZ et al., 2008).

Até a presente data, não havia informações a respeito dos fatores associados à soroprevalência de *N. caninum* em cães de diferentes tipos populacionais na região sul de Minas Gerais. Assim, o objetivo deste trabalho é estabelecer a soroprevalência de *N. caninum* em cães da região sul de Minas Gerais, Brasil, e correlacionar com possíveis fatores para mostrar se há associação entre estas variáveis e a sorologia dos animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Um questionário relacionado aos fatores de risco para neosporose, contendo dados do animal e da propriedade, foi fornecido a cada proprietário do animal selecionado. Buscaram-se informações sobre o gênero, idade, raça, local em que o cão vivia (zona urbana, rural ou urbana com acesso à zona rural), tipo de alimentação (comida caseira, ração industrial ou carne crua/restos de placenta/fetos abortados), manejo dos cães (criados sempre presos, sempre soltos ou temporariamente soltos), utilidade do cão (companhia, guarda, caça ou pastoreio), se o cão já havia apresentado ou apresentava doença neuromuscular, se o cão já havia apresentado ou apresentava doença reprodutiva, a finalidade da propriedade rural (gado de leite, de corte, plantio, criação de outra espécie animal), se havia histórico de aborto em bovinos na propriedade e qual o destino de fetos abortados e placenta na propriedade (incinerados, deixados a pasto, jogados em lixo ou em rio).

Um total de 703 soros obtidos de cães da zona urbana e rural (de duas microrregiões economicamente distintas: uma produtora de leite e outra de café) ou atendidos em clínicas e hospitais veterinários (HV) do sul de Minas Gerais, foram submetidos à Reação de Imunofluorescência Indireta. As análises estatísticas foram conduzidas conforme descrito por Varaschin et al. (2011).

RESULTADOS

Dos 703 cães testados, 57,0% era composto por cães machos, 25,9% pertencia à zona urbana (ZU), 59,9% à zona rural (ZR), 2,7% à zona urbana com acesso à rural (ZUR) e 11,5% dos cães eram errantes e foram atendidos nos HV; 22,5% apresentavam de 0 a 1 ano de idade, 45,4% apresentavam idade entre 1 a 4 anos, 23,5% idade entre 4 e 8 anos e 8,6% dos cães idade superior a 8 anos. Um total de 80 cães (11,4%) foi soropositivo para *N. caninum*. Para algumas variáveis, não foi possível obter informações ou histórico dos cães (cães errantes atendidos nos HV) e estes animais foram excluídos da análise da variável.

Dentre os animais soropositivos, machos foram mais prevalentes (60,0%) que fêmeas (40,0%). Cães com raça pura apresentaram risco semelhante de infecção por *N. caninum* que cães sem raça definida ($p>0,05$). Cães que não se alimentavam de ração ($p=0,000$; OR:2,534; IC95%:1,543-4,161) apresentaram maior risco à neosporose que aqueles que consumiam ração. Cães usados para guarda ($p=0,000$; OR:2,905; IC95%:1,768-4,773) ou para caça ($p=0,000$; OR:4,902; IC95%:2,230-10,779) foram mais susceptíveis do que quando comparados aos cães que não eram usados para estas utilidades, e cães utilizados como companhia ($p=0,012$; OR:0,495; IC95%:0,286-0,866) foram considerados fatores de proteção à neosporose. Cães que possuíam contato, ou havia a possibilidade de contato/ingestão de fetos abortados ou placentas, apresentaram 3,2 vezes mais chance de se infectarem por *N. caninum* ($p=0,000$; OR:3,218; IC95%:1,865-5,551). Os cães com histórico de disfunções reprodutivas foram considerados fatores de risco ($p=0,015$; OR:2,607; IC95%:1,177-5,775). Cães de propriedades rurais de gado de leite ($p=0,016$; OR:3,460; IC95%:1,189-10,069) ou das que apresentavam histórico de aborto bovino ($p=0,002$; OR:3,087; IC95%:1,468-6,491) mostraram maiores riscos de infecção por *N. caninum*, enquanto cães de propriedade de corte ou de cultivo agrícola (café) não mostraram associação com a sorologia ($p>0,05$). A mediana de idade dos cães soronegativos foi de três anos ($Q1/4=1$; MED=3; $Q3/4=5$) e de cinco anos ($Q1/4=3$; MED=5; $Q3/4=7$) para os soropositivos ($p=0,000$; Kruskal-Wallis:3,98). De acordo com o local, cães de ZR apresentaram maior risco do que cães de ZU ($p<0,05$), porém ambos não foram estatisticamente significativos, quando comparados com os cães de ZUR ($p>0,05$). Cães criados sempre presos, sempre soltos ou temporariamente soltos apresentaram riscos semelhantes de se infectarem por *N. caninum* ($p>0,05$), embora cães criados sempre soltos tenham apresentado soroprevalência superior. Outras variáveis não apresentaram associação significativa com a sorologia para *N. caninum* ($p>0,05$).

DISCUSSÃO

Foi encontrada uma prevalência de 11,4% para neosporose, a qual é inferior à reportada por outros autores, como a de 32,0% encontrada no México, 27,0% no Irã, 16,36% na Polônia, 28,3% em Pernambuco e 12,4% no Pará (CRUZ-VÁZQUEZ et al., 2008; FIGUEREDO et al., 2008; PLONECZKA & MAZURKIEWICZ, 2008; VALADAS et al., 2010; YAKHCHALI et al., 2010). Os animais positivos tenderam a ser mais velhos de idade, quando comparado ao grupo soronegativo. O papel da idade na soropositividade sugere que a

maioria dos cães adquire a infecção no período pós-natal, ou seja, a transmissão horizontal é mais importante que a vertical entre a população canina (YAKHCHALI et al., 2010).

Cães de zona rural, utilizados para caça, de propriedades leiteiras e de propriedades que têm histórico de aborto apresentaram maiores riscos de infecção por *N. caninum*. A possibilidade de ingestão de tecidos bovinos (carne crua, placenta, fetos abortados) ou o hábito carnívoro de ingestão de pequenos mamíferos, os quais possam conter cistos de *N. caninum*, podem explicar porque a soroprevalência nestes grupos é, geralmente, maior (PARADIES et al., 2007; YAKHCHALI et al., 2010). As soroprevalências maiores vistas em propriedades de gado de leite sugerem uma maior associação epidemiológica entre bovinos e caninos (COLLANTES-FERNÁNDEZ et al., 2008).

CONCLUSÕES

A frequência de cães com anticorpos anti-*N. caninum* é significativa na região sul de Minas Gerais, e este agente pode ocorrer, principalmente, em cães que não usados para companhia, de idade mais avançada, que possuem histórico de doenças reprodutivas, de zona rural, de propriedades leiteiras e que apresentam histórico de aborto bovino.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela ajuda financeira.

REFERÊNCIAS

- COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; GÓMEZ-BAUTISTA, M.; MIRÓ, G.; ÁLVAREZ-GARCÍA, G.; PEREIRA-BUENO, J.; FRISUELOS, C.; ORTEGA-MORA, L.M. Seroprevalence and risk factors associated with *N. caninum* infection in different dog populations in Spain. **Veterinary Parasitology**, v.152, p.148-51, 2008.
- CRUZ-VÁZQUEZ, C.; MEDINA-ESPARZA, L.; MARENTES, A.; MORALES-SALINAS, E.; GARCIA-VÁZQUEZ, Z. Seroepidemiological study of *Neospora caninum* infection in dogs found in dairy farms and urban areas of Aguascalientes, Mexico. **Veterinary Parasitology**, v.157, p.139-43, 2008.
- FIGUEREDO, L.A.; DANTAS-TORRES, F.; FARIA, E.B.; GONDIM, L.F.P.; SIMÕES-MATTOS, L.; BRANDÃO-FILHO, S.P.; MOTA, R.A. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Pernambuco, Northeast Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.157, p.9-13, 2008.
- PARADIES, P.; CAPELLI, G.; TESTINI, G.; CANTACESSI, C.; TREES, A.J.; OTRANTO, D. Risk factors for canine neosporosis in farm and kennel dogs in southern Italy. **Veterinary Parasitology**, v.145, p.240-4, 2007.
- PLONECZKA, K. & MAZURKIEWICZ, M. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dogs in south-western Poland. **Veterinary Parasitology**, v.153, p.168-171, 2008.
- VALADAS, S.; MINERVINO, A.H.H.; LIMA, V.M.F.; SOARES, R.M.; ORTOLANI, E.L.; GENNARI, S.M. Occurrence of antibodies anti-*Neospora caninum*, anti-*Toxoplasma gondii*, and anti-*Leishmania chagasi* in serum of dogs from Pará State, Amazon, Brazil. **Parasitology Research**, v.107, p.453-457, 2010.
- VARASCHIN, M.S.; MESQUITA, L.P.; GUIMARÃES, A.M.; HIRSCH, C.; ABREU, C.C.; ROCHA, C.M.B.M.; WOUTERS, F.; MOREIRA, M.C. Fatores associados à soroprevalência de *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em rebanhos caprinos na região sul de Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.1, p.53-58, 2011.
- YAKHCHALI, M.; JAVADI, S.; MORSHEDI, A. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in stray dogs of Urmia, Iran. **Parasitology Research**, v.106, p.1455-58, 2010.

FATORES ASSOCIADOS À SOROPREVALÊNCIA DE *Toxoplasma gondii* EM CÃES DO SUL DE MINAS GERAIS, BRASIL

FACTORS ASSOCIATED TO SEROPREVALENCE OF *Toxoplasma gondii* IN DOGS IN SOUTHERN MINAS GERAIS, BRAZIL

Clayton Israel Nogueira¹, Camila Costa Abreu¹, Leonardo Pereira Mesquita¹, Christiane
Maria Barcellos M. da Rocha², Josilene Nascimento Seixas², Pedro Soares Bezerra Jr.²,
Antônio Marcos Guimarães², Mary Suzan Varaschin^{2*}

1. Mestrando (a), Área Patologia, Clínica e Cirurgia, Depto. Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil.

2. Professor (a), Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil.

*e-mail: msvaraschin@dmv.ufla.br (autor para correspondência)

PALAVRAS-CHAVE: toxoplasmose, canino, seroepidemiologia.

ABSTRACT

This study was conducted to determine the seroprevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies and to investigate the risk factors related to *T. gondii* in dogs of southern Minas Gerais, Brazil. For this purpose, 703 blood samples were collected from dogs and questionnaires addressing epidemiological aspects of the infections were given to each dog owner. The sera were analyzed for anti-*T. gondii* antibodies by indirect fluorescent antibody tests. Of the total of 703 dogs, 253 (36,0%) were positive for *T. gondii* (titer 64). Risk factors associated with seroprevalence were gender, age, breed, locality, management and utility of dog. Male dogs, without defined breed, from rural areas, which had street contact, used for hunt and guard purposes, had higher odds of seropositivity ($p < 0,05$) than the other one and, although not significant statically, older dogs had high levels of antibodies.

KEYWORDS: toxoplasmosis, canine, seroepidemiology.

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, que possui felídeos domésticos e silvestres como hospedeiros definitivos, e seres humanos e diversas espécies animais, incluindo cães, como hospedeiros intermediários (ALI et al., 2003; AZEVEDO et al., 2005). Recentes estudos mostram que há variação na prevalência de

anticorpos anti-*T.gondii* em cães de diferentes regiões brasileiras, variando de 21,3% a 76,4% (VALADAS et al., 2010) e de 0 a 100% entre diferentes países (ALI et al., 2003).

Nenhum estudo foi conduzido para mostrar os fatores associados à soroprevalência de *T. gondii* em cães de zona urbana, periurbana e rural da região sul de MG. Assim, o objetivo deste trabalho é estabelecer a soroprevalência de *T. gondii* em cães da região sul de Minas Gerais, Brasil, e correlacionar com possíveis fatores para mostrar se há associação entre estas variáveis e a sorologia dos animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Um questionário, contendo dados do animal e da propriedade, foi fornecido a cada proprietário cujo animal foi selecionado. Buscaram-se informações sobre o sexo, idade, raça, local em que o animal vivia (zona urbana, rural ou urbana com acesso à zona rural), tipo de alimentação (comida caseira, ração industrial ou carne crua/restos de placenta/fetos abortados), manejo dos cães (criados sempre presos, sempre soltos ou temporariamente soltos), utilidade do cão (companhia, guarda, caça ou pastoreio), se o cão já havia apresentado ou apresentava doença neuromuscular no momento da coleta, se o cão já havia apresentado ou apresentava doença reprodutiva, a finalidade da propriedade (gado de leite, de corte, plantio, criação de outra espécie animal), se havia histórico de aborto em bovinos na propriedade e qual o destino de fetos abortados e placenta da propriedade (incinerados, deixados a pasto, jogados em lixo ou em rio).

Um total de 703 soros obtidos de cães da zona urbana e rural (das microrregiões de Lavras e Varginha), ou de cães atendidos em clínicas e hospitais veterinários (HV) do sul de Minas Gerais, foram submetidos à Reação de Imunofluorescência Indireta. As análises estatísticas foram conduzidas conforme descrito por Varaschin et al. (2011).

RESULTADOS

Dos 703 cães testados, 57,0% era composto por cães machos, 25,9% pertencia à zona urbana, 59,9% à zona rural, 2,7% à zona urbana com acesso à rural e 11,5% dos cães eram errantes e haviam sido adotados por um centro de abrigo de animais; 22,5% apresentavam de 0 a 1 ano de idade, 45,4% apresentavam idade entre 1 a 4 anos, 23,5% idade entre 4 e 8 anos e 8,6% dos cães idade superior a 8 anos. Um total de 253 cães (36,0%) foi soropositivo para *T. gondii*. Para algumas variáveis, não foi possível obter informações ou histórico dos cães (cães errantes atendidos nos HV) e estes foram excluídos da análise da variável.

Dentre os animais soropositivos, os cães machos foram mais soroprevalentes (62,1%) que fêmeas (37,9%) e aqueles apresentam 1,38 vezes mais chances de se infectarem

do que fêmeas ($p=0,044$; OR:1,381; IC95%:1,008-1,891). Cães com raça pura apresentaram menor risco à infecção por *T. gondii* que cães sem raça definida ($p=0,000$; OR:0,448; IC95%: 0,311-0,647). Cães que não se alimentavam de ração ($p=0,000$; OR:2,195; IC95%:1,542-3,126), que se alimentavam de comida caseira ($p=0,000$; OR:2,893; IC95%: 1,850-4,524) ou se alimentavam de carcaça e carne crua ($p=0,000$; OR:2,365; IC95%: 1,494-3,745) apresentaram maior risco à toxoplasmose. Cães usados para guarda ($p=0,030$; OR:1,475; IC95%:1,038-2,096) ou para caça ($p=0,002$; OR:3,101; IC95%:1,448-6,640) foram mais susceptíveis do que quando comparados aos cães que não eram usados para estas utilidades. Propriedades rurais de gado de corte ($p=0,011$; OR:0,469; IC95%: 0,260-0,844) ou que apresentam histórico de aborto bovino ($p=0,041$; OR:0,405; IC95%: 0,166-0,987) foram consideradas fatores de proteção. Embora tenha se observado uma tendência crescente de infecção à medida que aumenta a idade do cão, com picos maiores de soroprevalências em cães entre 4-8 anos de idade, não houve associação significativa entre os diferentes grupos de idade ($p>0,05$). De acordo com o local, cães de zona rural apresentaram maior risco do que cães de zona urbana ($p<0,05$), porém ambos não foram estatisticamente significativos, quando comparados aos cães de zona urbana que possuíam acesso à zona rural ($p>0,05$). Cães criados sempre soltos ou temporariamente soltos apresentaram maior risco de se infectarem por *T. gondii*, quando comparados com cães que sempre ficam presos ($p<0,05$). Outras variáveis não apresentaram associação significativa com a sorologia para *T. gondii* ($p>0,05$).

DISCUSSÃO

A prevalência encontrada de 36,0% para toxoplasmose é próxima da encontrada em outros países, como a de 32,0% encontrada em Trinidad e Tobago (ALI et al., 2003), porém é menor que a reportada em outras partes do Brasil, como a prevalência de 57,6% apontada por Figueredo et al. (2008) em Pernambuco e a de 45,1% reportada por Azevedo et al. (2005) na Paraíba. Figueredo et al. (2008) explicam que a prevalência pode variar entre regiões e dentro duma mesma região, já que as diferentes populações podem estar expostas a diferentes fatores de risco.

Cães de zona rural apresentaram maiores riscos, quando comparados a cães de zona urbana. O hábito mais errante, as maiores chances de exposição a oocistos ambientais e aos hábitos de caça de roedores infectados explicam o fato de cães de zona rural serem grupo mais de risco à toxoplasmose. A soroprevalência para *T. gondii* aumentou com a idade dos cães, atingindo seu pico entre os cães com idade entre 4-8 anos de idade. Ali et al. (2003) encontraram títulos mais altos entre cães de 3 anos de idade, os quais declinaram suavemente

em cães mais velhos. Embora Jittapalapong et al. (2007) não tenham encontrado diferenças significativas quanto ao sexo do animal, no presente relato houve maior prevalência entre os machos, o que poderia ser explicado pelo hábito mais errante, quando comparado às fêmeas.

Diferente dos achados de Azevedo et al. (2005), foi observada uma frequência de animais soropositivos maior em cães que tem acesso à rua. Isso ocorre, pois há maiores chances de exposição às fezes contaminadas de gatos ou de ingestão de roedores infectados (ALI et al., 2003). O mesmo raciocínio vale para os cães de caça que, no presente estudo, também apresentaram maior risco de infecção do que aqueles utilizados para outros fins.

Alguns autores (ALI et al., 2003) afirmam que o consumo de carne crua ou restos de comida podem aumentar os riscos de infecção de *T. gondii*, por aumentar a exposição ao parasito. Este achado corrobora com os encontrados no presente estudo, em que o consumo de comida caseira ou a ingestão de carcaças foram considerados fatores de risco para a doença.

CONCLUSÕES

A frequência de cães com anticorpos anti-*T. gondii* é grande na região sul de Minas Gerais, e este agente pode ocorrer, principalmente, em cães machos, SRD, que têm acesso à rua ou são de zona rural e que se alimentam de restos de carcaça e carnes cruas.

AGRADECIMENTOS

À Capes, pela concessão da bolsa de estudos. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela ajuda financeira.

REFERÊNCIAS

- ALI, C.N.; HARRIS, J.A.; WATKINS, J.D.; ADESIYUN, A.A. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* in dogs in Trinidad and Tobago. **Veterinary Parasitology**, v.113, p.179-87, 2003.
- AZEVEDO, S.S.; BATISTA, C.S.A.; VASCONCELLOS, S.A.; AGUIAR, D.M.; RAGOZO, A.M.A.; RODRIGUES, A.A.R.; ALVES, C.J.; GENNARI, S.M. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, Northeast region of Brazil. **Research in Veterinary Science**, v.79, p.51-56, 2005.
- FIGUEREDO, L.A.; DANTAS-TORRES, F.; FARIA, E.B.; GONDIM, L.F.P.; SIMÕES-MATTOS, L.; BRANDÃO-FILHO, S.P.; MOTA, R.A. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Pernambuco, Northeast Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.157, p.9-13, 2008.
- JITTAPALAPONG, S.; NIMSUPAN, B.; PINYOPANUWAT, N.; CHIMNOI, W.; KABEYA, H.; MARUYAMA, S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in stray cats and dogs in the Bangkok metropolitan area, Thailand. **Veterinary Parasitology**, v. 145, p.138-141, 2007.
- VALADAS, S.; MINERVINO, A.H.H.; LIMA, V.M.F.; SOARES, R.M.; ORTOLANI, E.L.; GENNARI, S.M. Occurrence of antibodies anti-*Neospora caninum*, anti-*Toxoplasma gondii*, and anti-*Leishmania chagasi* in serum of dogs from Pará State, Amazon, Brazil. **Parasitology Research**, v.107, p.453-457, 2010.
- VARASCHIN, M.S.; MESQUITA, L.P.; GUIMARÃES, A.M.; HIRSCH, C.; ABREU, C.C.; ROCHA, C.M.B.M.; WOUTERS, F.; MOREIRA, M.C. Fatores associados à soroprevalência de *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em rebanhos caprinos na região sul de Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.1, p.53-58, 2011.

TESTE INTRADÉRMICO DE HIPERSENSIBILIDADE PARA DIAGNÓSTICO DA LINFADENITE CASEOSA SUBCLÍNICA EM CAPRINOS
SKIN TEST FOR DIAGNOSIS OF SUBCLINICAL CASEOUS LYMPHADENITIS IN GOATS

Camila Azevedo Antunes¹, Alessandro de Sá Guimarães², Dayana Ribeiro³, Fernanda Alves Dorella⁴, Aurora Maria Guimarães Gouveia⁵, Marcos Xavier Silva⁵, Vasco Azevedo⁶, Núbia Seyffert⁴

1. Mestranda. Depto. de Biologia Geral, ICB, UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais. E-mail: azevedoantunes.camila@gmail.com
2. Pesquisador. Sanidade Animal e Qualidade do Leite, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, Minas Gerais.
3. Doutoranda. Depto de Microbiologia, ICB, UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais.
4. Pós-Doutoranda, Depto. de Biologia Geral, ICB, UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais.
5. Professor(a), Depto. de Medicina Veterinária e Preventiva, EV, UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais.
6. Professor, Depto. de Biologia Geral, ICB, UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais.

PALAVRAS - CHAVE: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, pequenos ruminantes, Técnica de fracionamento em três fases.

ABSTRACT

Caseous lymphadenitis (CLA) is a disease caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis* that affects small ruminants, decreasing the production in infected animals. Several methods for detection of subclinical CLA have been developed but without success. The present study has developed a Skin Test using secreted proteins of *C. pseudotuberculosis* for subclinical CLA diagnostic in small ruminants. The tested animals were divided into two different groups: 10 positives (A) and 10 negative goats (B) for CLA. The fraction of secreted proteins was obtained through Three-Phase Partitioning (TPP), diluted in PBS solution and then inoculated in the left cervical region, via intra-dermal. Inoculation of PBS solution without proteins was performed in the same tested animals at the right side. Group A showed higher hypersensitivity compared to group B during 6 days of evaluation, with a peak response after 24 hours. The standardized Skin Test showed promising results and might improve CLA control in herds.

KEYWORDS: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, small ruminants, Three-Phase Partitioning.

INTRODUÇÃO

A Linfadenite caseosa (LC) é causada por *Corynebacterium pseudotuberculosis* e acomete principalmente pequenos ruminantes. Essa doença de importante relevância econômica é caracterizada pela formação de abscessos em nódulos linfáticos superficiais e/ou órgãos internos, reduzindo a produtividade dos animais infectados (DORELLA *et al.*, 2006; SEYFFERT *et al.*, 2010). O tratamento com antibióticos é uma estratégia inviável, uma vez que eles não são capazes de penetrar na cápsula dos abscessos. Quanto à imunoprofilaxia, a elaboração de vacinas mais eficazes torna-se necessária (DORELLA *et al.*, 2006). Vários métodos diagnósticos subclínicos para a LC foram desenvolvidos, mas nenhum deles com resultados promissores e praticidade necessária. Recentemente, proteínas secretadas de *C. pseudotuberculosis* foram identificadas e caracterizadas por espectrometria de massa e análises *in silico* (PACHECO *et al.*, 2011). Essas mesmas proteínas já haviam demonstrado reatividade com anticorpos de caprinos infectados com *C. pseudotuberculosis* através de ELISA e Western Blot, além de induzirem elevada produção de interferon-gama por células sanguíneas de caprinos com LC (REBOUÇAS *et al.*, 2011). Este trabalho tem por objetivo padronizar e avaliar um Teste Intradérmico de Hipersensibilidade (TIH) com proteínas secretadas de *C. pseudotuberculosis* para o diagnóstico subclínico da LC em caprinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Cento e vinte e oito cabras de leite da raça Saanen foram avaliadas através de exames clínicos e sorológicos, e selecionadas em dois grupos constituídos de 10 animais positivos (grupo A) e 10 negativos (grupo B) para a LC. Paralelamente, para a preparação do reagente do TIH, a linhagem de *C. pseudotuberculosis* MIC6 foi cultivada em meio Infusão de cérebro e coração (BHI), as proteínas secretadas foram extraídas através da Técnica de Fracionamento em Três Fases (TPF) e quantificadas pelo método de Bradford. Posteriormente, o TIH foi padronizado e aplicado nos caprinos por via intradérmica na dose de 0,1mL na região cervical esquerda em uma área tricotomizada de 4cm². Nos mesmos animais foi aplicado 0,1mL de Tris-HCl (pH 8) sem as proteínas secretadas, na região cervical direita para controle do experimento. As mensurações do TIH foram realizadas com cutímetro Hauptner, antes da inoculação e a cada 24h, nos seis dias subsequentes.

RESULTADOS

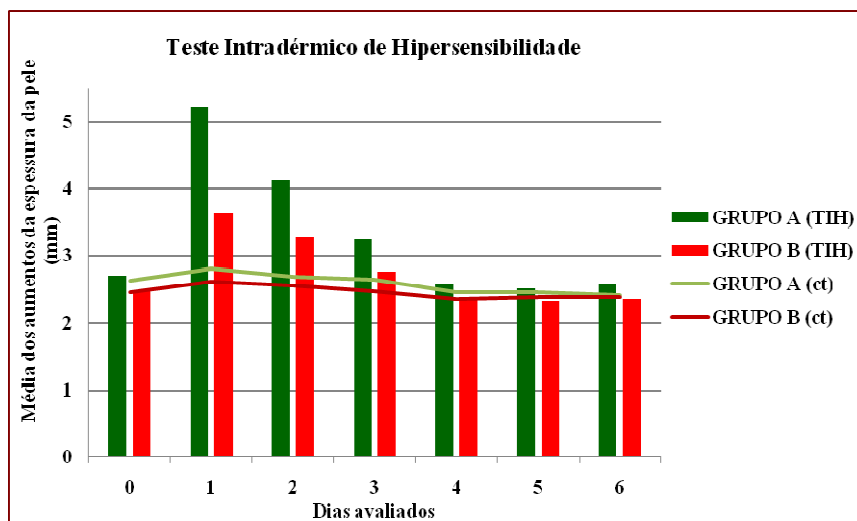


Gráfico 1 - Médias da espessura da dobra de pele antes (Dia 0) e após aplicação (Dias 1-6) do TIH nos Grupo A (ELISA positivo) e Grupo B (ELISA negativo), apresentado em barras verdes e vermelhas, respectivamente. As linhas verdes e vermelhas correspondem às médias do aumento da espessura da dobra de pele antes (Dia 0) e após aplicação (Dias 1-6) da solução controle nos dois grupos.

Os animais do grupo A apresentaram valores do TIH significativamente superiores aos do grupo B em todos os dias avaliados. Nas primeiras 24h houve um pico de reação, com maior evidência do grupo A, declinando até as 72h, com retorno à normalidade após 96h da aplicação do TIH. Todos os controles mantiveram seus valores semelhantes em ambos os grupos e ao decorrer dos dias avaliados.

DISCUSSÃO

O Teste Intradérmico de Hipersensibilidade (TIH) é um método de diagnóstico utilizado para verificar infecções causadas por microrganismos intracelulares facultativos com imunidade mediada por células. Esse teste tem vantagens relacionadas a facilidade de aplicação nos animais, a simplicidade de manuseio e um custo final relativamente reduzido comparando com o interferon gama (DE LA RUA-DOMENECH *et al.*, 2006). Neste trabalho padronizamos um TIH de proteínas secretadas antigênicas de *C. pseudotuberculosis* que obteve resultados significativos no grupo de animais positivos para a LC. Constatada a necessidade de purificação do antígeno de *C. pseudotuberculosis* para o TIH, com a remoção de componentes citoplasmáticos (BROWN *et al.*, 1986; ALVES & ORLANDER, 1999), a extração de proteínas secretadas para o TIH permitiu a obtenção de resultados mais eficientes. Além disso, todos os animais apresentaram exame clínico com estado geral e funções vitais normais antes e após a aplicação do teste. O THI estimula uma reação de hipersensibilidade

tardia (Tipo IV), geralmente sem manifestações sistêmicas, caracterizada por uma resposta inflamatória no local da aplicação do reagente (TIZARD, 2000). A reação do TIH medida pelo aumento da espessura da dobra de pele atingiu mensuração máxima em 24h após a inoculação, mostrando-se concordante com o indicado por Tizard (2000), caracterizado por uma resposta inflamatória que poderia atingir a sua maior intensidade entre 24 e 72 h. Em estudos anteriores, o menor tempo de mensuração máxima foi de 72h (ALVES & OLANDER, 1999). Assim, o presente estudo atingiu a mensuração significativa em apenas 1 dia. As mensurações referentes aos testes controles aplicados mantiveram seus valores semelhantes em ambos os grupos e no decorrer dos dias avaliados, apresentando somente uma reação à inoculação mecânica e ao tampão, as quais não foram significativas.

CONCLUSÃO

As proteínas secretadas e sua concentração para a utilização no TIH foram determinadas, bem como aplicação padronizada em caprinos. O TIH apresentou mensuração máxima em 24h, não apresentando reatividade significativa dos animais ao teste aplicado sem as proteínas secretadas. O TIH padronizado para diagnóstico subclínico da LC em caprinos, demonstrou resultados promissores e será aprimorado para utilização no controle da LC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, F. S. F.; OLANDER, H. Uso de Vacina Toxóide no Controle da Linfadenite Caseosa em Caprinos. **Journal of Veterinary Sciencen**, v.5, n.1, p. 69-74, 1999.
- DE LA RUA-DOMENECH, R.; GOODCHILD, A. T.; VORDERMEIER, H. M.; HEWINSON, R. G.; CHRISTIANSEN, K. H.; CLIFTON-HADLEY, R. S. Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: A review of the tuberculin tests, γ -interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 81, p. 190-210, 2006.
- DORELLA, F.A.; PACHECO, L.G.C.; OLIVEIRA, S.C; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. *Corynebacterium pseudotuberculosis*: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. **Veterinary Research**, v. 37, p. 201–218, 2006.
- PACHECO, L.G.C.; SLADE, S.E.; SEYFFERT, N.; SANTOS, A.R.; CASTRO, T.L.P.; SILVA, W.M.; SANTOS, A.V, SANTOS, S.G.; FARIAS, L.M.; CARVALHO, M.A.R.; PIMENTA, A.M.C.; MEYER, R.; SILVA, A.; SCRIVENS, J.H.; OLIVEIRA, S.C.; MIYOSHI, A.; DOWSON, C.G.; AZEVEDO, V. A combined approach for comparative exoproteome analysis of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **BMC Microbiology**, v. 1, p. 1-14, 2011.
- REBOUÇAS, M.F.; PORTELA, R.W.; LIMA, D.D.; LOUREIRO, D.; BASTOS, B.L.; MOURA-COSTA, L.F.; VALE, V.L.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V.; MEYER, R.. *Corynebacterium pseudotuberculosis* secreted antigen-induced specific interferon-gamma production by peripheral blood leukocytes: potential diagnostic marker for caseous lymphadenitis in sheep and goats. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 23, p. 1-6, 2011.
- SEYFFERT, N.; GUIMARÃES, A.S.; PACHECO, L.G.C.; PORTELA, R.W.; BASTOS, B.L.; DORELLA, F.A.; HEINEMANN, M.B.; LAGE, A.P.; GOUVEIA, A.M.G.; MEYER, R.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. High seroprevalence of caseous lymphadenitis in Brazilian goat herds revealed by *Corynebacterium pseudotuberculosis* secreted proteins-based ELISA. **Research in Veterinary Science**, v. 88, 50–55, 2010.
- TIZARD, I.R. **Veterinary immunology**. 6.ed. Philadelphia: Saunders, 2000. 482p.

**EXPRESSÃO DE C-KIT NO SANGUE PERIFÉRICO EM MASTOCITOMA CANINO:
UM ESTUDO MOLECULAR**

**PERIPHERAL BLOOD EXPRESSION OF C-KIT IN CANINE MAST CELL TUMOR: A
MOLECULAR STUDY**

José Guilherme Xavier^{1,2}; Lucia Maria Guedes Silveira¹; Silvia Regina Kleeb²; Flavio Canellas
Canavez³; Juliana Moreira Sousa-Canavez³

1. professores do curso de Medicina Veterinária do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Paulista, São Paulo, SP, Brazil, E-mail: jgxavier@uol.com.br

2. professores da Faculdade da Saúde da Universidade Metodista de São Paulo, São Bernardo do Campo, SP, Brasil

3. pesquisadores da Genoa Biotecnologia, São Paulo, SP, Brasil

PALAVRAS-CHAVE: mastócitos, oncologia veterinária, PCR em tempo real

ABSTRACT

The proto-oncogene c-kit encodes a transmembrane receptor, considered important for tumor growth and progression in several cancers. C-kit overexpression associated with a variety of mutations has been described in canine mast cell tumors (MCT). The present work was carried out to study the potential of blood expression of c-kit mRNA as a tumoral marker in MCT, using reverse transcription and quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR). This study was performed with 38 dogs, 28 with MCT, with or without chemotherapeutic treatment. Blood was obtained by venopuncture, and preserved in tubes containing EDTA. The total mRNA was extracted, reverse transcribed in cDNA and submitted to qPCR. The diagnosis of MCT was confirmed by cytological and histological techniques. The level of c-kit transcript was standardized using the expression of beta2-microglobulin, and the relative expression calculated by $\Delta\Delta CT$ method. The expression of c-kit was detected in 26 samples. In a comparative analysis, in 5 dogs with non-treated MCT the blood c-kit levels was overexpressed. In contrast, in all animals submitted to chemotherapy the c-kit was absent or underexpressed in peripheral blood. The peripheral blood c-kit expression quantification is inadequate in order to identify MCT in animals submitted to chemotherapy.

KEYWORDS: mast cells; veterinary oncology; real-time PCR

INTRODUÇÃO

Mastocitomas são tumores de mastócitos potencialmente malignos frequentes em cães, diagnosticados citológica e histologicamente (NEWMAN et al., 2007), apresentando expressão do proto-oncogene c-kit. Este codifica para uma molécula transmembranar, o receptor do fator de célula tronco, relacionado a múltiplas vias de sinalização, envolvendo proliferação, migração e diferenciação celulares (LINNEKIN, 1999). Em mastocitomas são frequentes mutações na região justamembranal de c-kit, determinando sua ativação constitutiva (DOWNING et al., 2002). Turin et al., 2006, evidenciaram a expressão de c-kit no sangue periférico de animais portadores de mastocitomas. Este trabalho objetiva caracterizar a expressão de c-kit no sangue periférico de animais hígidos e de portadores de mastocitomas, tratados ou não, avaliando seu potencial como marcador tumoral nesses pacientes.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras de sangue de cães hígidos e de portadores de mastocitomas. O diagnóstico da neoplasia foi realizado por avaliação citológica e histopatológica. Procedeu-se a extração com o Kit QIAamp[®] RNA Blood Mini kit (QIAGEN). O RNA obtido foi quantificado em espectrofotômetro e imediatamente utilizado na confecção do cDNA, efetuando-se a transcrição reversa com a enzima M-MLV transcriptase reversa e oligonucleotídeos randômicos (Invitrogen Life Technologies). A quantificação da expressão do gene c-KIT foi realizada em experimentos de PCR em tempo real, em plataforma 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems). Para quantificação relativa do gene c-kit normalizou-se a expressão deste em relação à expressão do gene controle β 2-microglobulina, realizando-se ensaios em duplicata. O nível de expressão de c-kit foi obtido pela quantificação relativa através do método $\Delta\Delta CT$. Para tanto, utilizou-se a equação $\Delta\Delta C_T = (C_T \text{ gene alvo, mastocitoma} - C_T \text{ controle endógeno, mastocitoma}) - (C_T \text{ gene alvo, normal} - C_T \text{ controle endógeno, normal})$. Os níveis de expressão em vezes foram determinados por $2^{-\Delta\Delta CT}$.

RESULTADOS

Foram avaliadas 38 amostras de sangue, sendo 10 de animais hígidos e 28 de portadores de mastocitomas. Evidenciou-se um padrão de expressão semelhante do marcador endógeno em

amostras de sangue de animais controle em relação a cães com tumor que expressaram c-kit. Todos os animais do grupo controle expressaram c-kit no sangue periférico, utilizando-se esse nível basal como parâmetro para interpretação da expressão em cães portadores de mastocitomas. A ausência de expressão de c-kit no sangue periférico de animais portadores de mastocitomas ocorreu em 42,9% dos casos (12/28). A população negativa para c-kit dentro do grupo de animais submetidos à quimioterapia foi superior a dos animais sem tratamento, correspondendo respectivamente, a 45,5% e 35,3% dos casos. Considerando-se os cães portadores de tumor em geral, o gene c-KIT se mostrou superexpresso no sangue de 29,4% dos animais (5/17) e subexpresso nas amostras de 70,6% (12/17). Se incluirmos nesse grupo os animais com tumor que não expressaram c-kit no sangue, temos um percentual de 82,1% dos animais com tumor apresentando redução na expressão de c-kit (23/28). Os cães portadores de tumor submetidos à quimioterapia apresentaram expressão de c-kit no sangue em 54,5% dos casos, todos com subexpressão. Já dentre os animais não tratados identificou-se c-kit no sangue em 64,7% das amostras, com superexpressão em 45,4% dos casos.

DISCUSSÃO

Estudos em Medicina Veterinária utilizando o PCR para quantificar a expressão de c-kit são escassos. Turin et al., 2006, evidenciaram a ausência de expressão de c-kit no sangue periférico de cães hígidos, em contraste com os achados deste estudo, no qual foi identificada expressão em todos os animais do grupo controle. Em oposição, enquanto Turin et al., 2006, não identificaram expressão de c-kit em 8 cães portadores de mastocitomas, dentro de uma amostragem de 41 animais com o neoplasma, em nossa avaliação a ausência de expressão de c-kit no sangue periférico de animais portadores de mastocitomas ocorreu em 12 casos numa amostragem de 28. Teoricamente, em condições que determinem um incremento acentuado de populações que expressam c-kit, seria esperada a elevação dos níveis séricos de KIT, como em portadores de leucemia mielóide crônica e pacientes com GIST, nos quais é relatada uma discreta elevação nos níveis séricos de KIT em comparação com homens hígidos (BONO et al., 2004). Akin et al., 2000, identificaram uma correlação direta entre a elevação dos níveis plasmáticos de sKIT e a severidade do quadro em pacientes com mastocitose. Tais achados suportam a hipótese de uma potencial elevação nos níveis de c-kit no sangue de portadores de mastocitomas, evento

não demonstrado na maioria de nossas amostras. Esse fato possivelmente relaciona-se à restrição da população de células neoplásicas ao sítio de crescimento tumoral, com eventual clivagem do KIT membranal e ingresso de sua fração extracelular para o plasma, porém sem a liberação das células ou de seu genoma íntegro para o sangue periférico. A redução de expressão de c-kit sérico particularmente acentuada em animais submetidos à quimioterapia está de acordo com os relatos da literatura, que indicam a queda nos níveis de KIT solúvel durante terapia com imatinib, sendo a hipotética explicação para esse evento a redução no volume tumoral (BONO et al., 2004).

CONCLUSÕES

Apesar do número restrito de casos estudados e do padrão heterogêneo de expressão, foi possível observar uma hegemônica queda na expressão de c-kit no sangue de cães portadores de mastocitoma submetidos à quimioterapia. Em portadores não tratados identificou-se uma importante parcela de animais com superexpressão do oncogene no sangue periférico validando a ampliação da amostragem visando a obtenção de resultados conclusivos.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP, pelo apoio financeiro, processo 2008/58679-0

REFERÊNCIAS

- AKIN, C.; SCHWARTZ, L.B.; KITO, T.; OBAYASHI, H.; WOROBEK, A.S.; SCOTT, L.M.; METCALFE, D.D. Soluble stem cell factor receptor (CD117) and IL-2 alpha chain (CD25) levels in the plasma of patients with mastocytosis: relationships to disease severity and bone marrow pathology. **Blood**, v. 96, p. 1267-1273, 2000.
- BONO, P.; KRAUSE, A.; VON MEHREN, M.; HEINRICH, M.C.; BLANKE, C.D.; DIMITRIJEVIC, S.; DEMETRI, G.D.; JOENSUU, H. Serum KIT and KIT ligand levels in patients with gastrointestinal stromal tumors treated with imatinib. **Blood**, v. 103, p. 2929-2935, 2004.
- DOWNING, S.; CHIEN, M.B.; KASS, P.H.; MOORE, P.E.; LONDON, C.A. Prevalence and importance of internal tandem duplications in exons 11 and 12 of c-kit in mast cell tumors of dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 63, p. 1257-1261, 2002.
- LINNEKIN, D. Early signalling pathways activated by c-kit in hematopoietic cells. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 31, p. 1053-1074, 1999.
- NEWMAN, S.J.; MRKONJICH, L.; WALKER, K.K.; ROHRBACH, W. Canine subcutaneous mast cell tumour: diagnosis and prognosis. **Journal of Comparative Pathology**, v. 136, p. 231-239, 2007.
- TURIN, L.; ACOCELLA, F.; STEFANELLO, D.; OSELIERO, A.; FONDRINI, D.; BRIZZOLA, S.; RIVA, F. Expression of c-kit proto-oncogene in canine mastocytoma: a kinetic study using real-time polymerase chain reaction. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.18, p. 343-349, 2006.

PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-TOXOPLASMA GONDII EM GATOS DOMÉSTICOS DE BRASÍLIA-DF

PREVALENCE OF ANTIBODIES ANTI-TOXOPLASMA GONDII IN DOMESTIC CATS FROM BRASÍLIA-DF

Michelle Cruz Costa¹, Fernanda Mulinari², Mariana Kikuti³, Carla Janeiro Coiro³,
Hélio Langoni⁴, Denise Salgado⁵

1. Aluna do Mestrado em Ciência Animal, Departamento de Medicina Veterinária, UPIS - União Pioneira de Integração Social, Campus II. Fazenda Lagoa Bonita BR 020 km 12, DF 335, km 4,8 Planaltina Brasília, DF. E-mail: michellelife21@hotmail.com
2. Professora do Curso de Medicina Veterinária, UPIS - União Pioneira de Integração Social, Campus II. Fazenda Lagoa Bonita BR 020 km 12, DF 335, km 4,8 Planaltina Brasília, DF.
3. Residentes do Núcleo de Pesquisas em Zoonoses - DHVSP - FMVZ – Univ Estadual Paulista, Botucatu, SP, 18618-970.
4. Professor Titular do Curso de Medicina Veterinária Núcleo de Pesquisas em Zoonoses - DHVSP - FMVZ – Univ Estadual Paulista, Botucatu, SP, 18618-970.
5. Médica Veterinária do Centro Integrado de Diagnóstico Veterinário Brasília, DF, 70767-520.

PALAVRAS-CHAVE: toxoplasmose, felinos, RIFI.

ABSTRACT

Toxoplasmosis is a worldwide zoonosis with importance in public health, caused by the intracellular protozoan *Toxoplasma gondii*. Transmission occurs by the ingestion of oocysts in contaminated water and food, and ingestion of cysts in raw or under cooked meat from intermediary hosts. Cats are the only domestic animals considered definitive hosts of the agent, responsible by environment contamination. The aim of the present study was to evaluate 174 serum samples of domestic cats from Brasília-DF by the imunofluorescence technique (IFAT) to *Toxoplasma gondii* antigen. Cats were considered healthy during sampling. Only nine (5,17%) cats had shown seropositive, with titers varying from 16 in one, 64 in six, 256 in one and 1024 in one cat. This is the lowest seroprevalence to toxoplasmosis reported in Brazil. As cats eliminate oocysts in their feces for a short period of time, usually during primo-infection, seronegative cats from the present study might be infected or they can still be. Prophylactic measures to cat and human infection must be disseminated mainly due to the lack of knowledge of health professionals that can not know the real epidemiology of felines in this important zoonosis.

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma doença infecciosa de distribuição mundial causada pelo parasita intracelular obrigatório, *Toxoplasma gondii*, que afeta todos os animais homeotérmicos, inclusive o homem (DUBEY, 2004). O agente pode ser transmitido ocasionalmente pela ingestão de oocistos excretados nas fezes de felídeos, considerados como os hospedeiros definitivos do agente ou mais comumente pela ingestão de cistos na musculatura de hospedeiros intermediários (DUBEY, 2008).

Além do papel dos gatos no ciclo da toxoplasmose, estes tem sido encontrado mais comumente como um habitante não-humano nos lares brasileiros nas áreas urbanas (SERAFINI et al., 2008). Antigamente, os gatos eram mais encontrados na área rural devido à sua habilidade de caça aos roedores, porém atualmente são considerados membros da família (DABRITZ e CONRAD, 2010), intensificando o contato com o homem e sua importância na saúde pública.

A prevalência de toxoplasmose relatada no Brasil varia de acordo com as diferentes regiões: 27,8% (LUCAS et al., 1998) e 23,6% (LUCAS et al., 1999) em São Paulo, 19,4% em estudo realizado com amostras de três cidades do estado de São Paulo e uma do Paraná (LANGONI et al., 2001), 19,5% no Rio de Janeiro (GONÇALVES NETTO et al., 2003) e 17,2% em gatos ferais (VARGAS et al., 2006) e 16,3% em gatos domiciliados (CRUZ et al., 2011) em Curitiba. Desta forma, o presente estudo objetiva investigar sorologicamente a presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em felinos domésticos de diversas áreas de Brasília-DF.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas 174 amostras de sangue total de felinos de ambos os sexos, jovens e adultos, SRD, provenientes do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) de Brasília-DF, de gatis, proprietários e felinos errantes.

Os animais foram contidos fisicamente para venopunção da jugular, colhendo-se aproximadamente 4 mL de sangue, acondicionados em tubos sem anticoagulante. Para a obtenção do soro, as amostras foram centrifugadas a 1600 g por 10 minutos, acondicionadas em microtubos de 1,5 mL e armazenadas a -20°C até a realização da imunofluorescência indireta.

A prova sorológica foi realizada no Laboratório do Núcleo de Pesquisa em Zoonoses (NUPEZO), FMVZ, UNESP, Botucatu-SP, de acordo com Camargo (1974). A RIFI foi realizada a partir da diluição inicial do soro a 1:16 (10 µL de soro para 150 µL de PBS pH

7,2). As amostras foram diluídas seriadamente até a diluição final 4.096. Como antígeno, utilizou-se taquizoítos de *Toxoplasma gondii*, mantidos por passagens semanais em camundongos de 30 dias, no Laboratório do NUPEZO. Foram incluídos controle positivo e negativo em todas as lâminas.

RESULTADOS

Das 174 amostras analisadas, 9 (5,17%) foram soropositivas para toxoplasmose, tendo-se sete com título 64, uma com título 256 e uma com título 1024. Os animais positivos eram provenientes do gatil de Luziânia (1), L. Sul (1), Planaltina (2) e L. Norte (1), zoonoses (1), residência do Incra (1) e errantes de Sobradinho (1) e L. Norte (1).

Apenas o gato oriundo da Zoonoses era filhote, enquanto os outros oito positivos são adultos. Dois animais apresentaram-se com problemas respiratórios, diarreia e algumas lesões de pele, sinais clínicos não relacionados à toxoplasmose. A população total analisada compreendia 57 fêmeas e 117 machos.

DISCUSSÃO

A prevalência encontrada no presente estudo foi a mais baixa relatada no Brasil (dados supracitados). A baixa prevalência encontrada pode ser devido à dieta baseada em ração comercial, acesso restrito à rua e exposição ambiental (CRUZ et al., 2011).

Deve-se ressaltar que o fato dos felinos serem soronegativos indica que provavelmente estes não tiveram contato com o agente ou o tiveram recentemente, não apresentando ainda títulos de anticorpos detectáveis. Devido a este fato, os animais poderiam estar em fase de eliminação de oocistos, aumentando a contaminação ambiental. Ainda, os felinos geralmente se infectam quando jovens o que corrobora com os achados do presente estudo (8/9 gatos positivos adultos) (DUBEY, 2008).

Sabe-se que a aglomeração dos animais pode facilitar a transmissão da toxoplasmose entre os animais (DUBEY, 2008). Assim sendo, no presente estudo foram encontrados 5/9 animais positivos em gatis, o que reforça a importância da limpeza da ladeira diariamente para se evitar a esporulação dos oocistos (DUBEY, 2008).

Porém, o período de eliminação de oocistos nas fezes é de cerca de uma a duas semanas, e necessitam de aproximadamente três dias no ambiente em condições de umidade e temperatura adequadas para se tornarem infectantes (LUCAS et al., 1999). Portanto, as medidas de prevenção da toxoplasmose nos felinos tornam-se de extrema importância e incluem: não fornecer carne crua, vísceras ou ossos para os gatos, evitar acesso a caixas de

areia em praças públicas, fornecer leite cru ou água de procedência desconhecida, além da limpeza da liteira diariamente, evitando a esporulação do agente e possível transmissão para outros gatos que co-habitam, assim como do ser humano (MONTAÑO et al., 2010).

Como os gatos estão cada vez mais próximos do homem, sendo muitas vezes considerados membros da família, é importante que além da realização de inquéritos sorológicos seja incentivada a educação da população em relação à possibilidade dos gatos transmitirem a toxoplasmose aos proprietários, principalmente gestantes; mas também da educação em relação às outras formas de transmissão, como a ingestão de oocistos em saladas ou água contaminada, cistos presentes na carne crua ou mal passada, muitas vezes mais importantes que o próprio animal de estimação, fato muitas vezes ignorado pelos profissionais da saúde (MONTAÑO et al., 2010).

CONCLUSÕES

A prevalência de 5,17% encontrada pode ser considerada a mais baixa no Estado, mas sabe-se que o *T. gondii* é um agente ubíquo, causador de uma zoonose com distribuição mundial. Desta forma, a educação em saúde deve ser difundida pelos meios de comunicação, principalmente em relação às formas de transmissão e prevenção desta importante zoonose.

REFERÊNCIAS

- CAMARGO, M.E. Introdução às técnicas de imunofluorescência. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, v.10, p.87-107, 1974.
- CRUZ, M.A.; ULLMANN, L.S.; MONTAÑO, P.Y.; HOFFMANN, J.L.; LANGONI, H.; BIONDO, A.W. Soroprevalência de anti-*Toxoplasma gondii* e fatores de risco em gatos domésticos de Curitiba, Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 2011 (no prelo).
- DABRITZ, H.A.; CONRAD, P.A. Cats and *Toxoplasma*: implications for public health. **Zoonoses and Public Health**, v.57, p.34-52, 2010.
- DUBEY, J.P. The history of *Toxoplasma gondii*: the first 100 years. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v.55, n.6, p.467-475, 2008.
- DUBEY, J.P. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, v.126, p.57-72, 2004.
- GONÇALVES NETTO, E.; MUNHOZ, A.D.; ALBUQUERQUE, G.R.; LOPES, C.W.G.; FERREIRA, A.M.R. Ocorrência de gatos soropositivos para *Toxoplasma gondii* Nicolle e Manceaux, 1909 (Apicomplexa *Toxoplasmatinae*) na cidade de Niterói, Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.12, n.4, p.145-149, 2003.
- LANGONI, H.; SILVA, A.; CABRAL, K.; CUNHA, E.; CUTOLO, A. Prevalência de toxoplasmose em gatos dos Estados de São Paulo e Paraná. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.38, p. 243-244, 2001.
- LUCAS, S.R.R.; HAGIWARA, M.K.; RECHE Jr., A.; GERMANO, P.M.L. Ocorrência de anticorpos antitoxoplasma em gatos infectados naturalmente pelo vírus da imunodeficiência dos felinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.35, n.1, p.41-45, 1998.
- LUCAS, S.R.R.; HAGIWARA, M.K.; LOUREIRO, V.S.; IKESAKI, J.Y.H.; BIRGEL, E.H. *Toxoplasma gondii* infection in brazilian domestic outpatient cats. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.41, n.4, p.221-224, 1999.
- MONTAÑO, P.Y.; CRUZ, M.A.; ULLMANN, L.S.; LANGONI, H.; BIONDO, A.W. Contato com gatos: um fator de risco para a toxoplasmose congênita? **Clínica Veterinária**, n.86, p.78-84, 2010.
- SERAFINI, C.A.; ROSA, G.A.; GUIMARAES, A.M.; DE MORAIS, H.A.; BIONDO, A.W. Survey of owned feline and canine populations in apartments from a neighbourhood in Curitiba, Brazil. **Zoonoses Public Health**, v.55, n.8-10, p.402-405, 2008.

**MÉTODO DE AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE COLÁGENO TOTAL DA PAREDE
ABDOMINAL DE RATOS WISTAR POR SOFTWARE**
EVALUATION METHOD OF COLLAGEN TOTAL PRESENCE IN THE ABDOMINAL
WALL IN RATS WISTAR BY SOFTWARE

Danilo Ferreira Rodrigues¹, Fernanda Figueiredo Mendes², Ashbel Schneider da Silva³,
Lorena Lima Barbosa Guimarães³, Daniel Barbosa da Silva⁴, Liliana Borges de Menezes⁵,
Renato Miranda de Melo⁶, Neusa Margarida Paulo⁷

1. Doutorando em Ciência Animal, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, Goiás, Brasil. E-mail: dan_rodrigues2@yahoo.com.br
2. Mestranda em Ciência Animal, EVZ, UFG, Goiânia, Goiás, Brasil.
3. Graduando em Medicina Veterinária, EVZ, UFG, Goiânia, Goiás, Brasil.
4. Professor de Anatomia, Instituto de Ciências Biológicas, UFG, Goiânia, Goiás, Brasil.
5. Professora de Patologia, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, UFG, Goiânia, Goiás, Brasil.
6. Professor de Cirurgia, Faculdade de Medicina, UFG, Goiânia, Goiás, Brasil.
7. Professora de Cirurgia, EVZ, UFG, Goiânia, Goiás, Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: abdome, analisador de imagem, sistema de cor, telas cirúrgicas.

ABSTRACT

The methods of analysis of collagen may be quantitative and qualitative, and quantitative analysis of both the most interesting statistical point of view, as the reliability of results. The aim of this study was to assess the efficiency of the software ImageJ quantification of collagen in the total sample of the abdominal wall of rats, when compared to the subjective method of analysis scores. We used six samples from the abdominal wall of Wistar rats that received implants surgical meshes for the repair of abdominal defects. The samples were stained with picrosirius and examined by polarized light microscope by a pathologist (control group) and ImageJ software (experimental group). There was no statistical difference between the methods. However, analysis by ImageJ software provided values closer to reality.

KEYWORDS: abdomen, color system, image analyzer, surgical meshes.

INTRODUÇÃO

O colágeno corresponde a 30% da proteína total do organismo, e fornece integridade, estrutura e força ao tecido. Dentre os vários tipos de colágeno, os tipos I e III são os de maior importância (BALBINO et al., 2005).

A morfometria computacional de amostras histológicas é uma importante ferramenta que proporciona avaliações quantitativas que conferem valores independentes da subjetividade (OBERHOLZER et al., 1996). O colágeno tecidual pode ser avaliado por métodos quantitativos e qualitativos, sendo neste último, a avaliação subjetiva da presença de colágeno de amostras teciduais coradas em picrossírius, em que são atribuídos escores para esta variável é bastante utilizada. Porém, a subjetividade que esta técnica confere pode gerar resultados muito distantes dos valores reais.

O objetivo com este trabalho foi verificar se o programa ImageJ é eficiente na avaliação da presença de colágeno total, utilizando amostras histológicas da parede abdominal de ratos na coloração de picrossírius, quando comparados ao método de avaliação subjetiva.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas seis amostras da parede abdominal de ratas *wistar*, provenientes do experimento de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia/UFG: “*Telas de polipropileno revestidas por quitosana/polietilenoglicol na ocorrência de aderências peritoniais. Estudo experimental em ratas*”, aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa/UFG sob o nº de protocolo 375/2010. As amostras foram fixadas em formol tamponado a 10% durante 24 horas, seguido do processamento para a coloração de picrossírius. Em seguida as lâminas foram visualizadas em microscópio de luz polarizada no aumento de 40x, sendo escolhidos cinco campos aleatórios de cada amostra para serem analisados por um avaliador patologista com experiência na avaliação de colágeno da parede abdominal (grupo controle) e posteriormente fotografado com câmera digital para ser analisado no programa ImageJ (grupo experimental).

A área ocupada por fibras colágenas de cada campo foi mensurada em pixels² no programa ImageJ por meio do *plugin* de cor *Threshold Color* no sistema de cores RGB. Em seguida a área mensurada foi convertida em porcentagem, para representar a área de colágeno ocupada no campo microscópico e posteriormente em escores para comparação com os resultados do grupo controle: 0=ausência de colágeno; 1=presente em até de 25% do campo; 2=Presença acima de 25% a até 50% do campo; 3=presença acima de 50% a até 75% do campo; 4=presente em mais de 75% do campo. No grupo controle, o avaliador visualizou as lâminas quanto à porcentagem da área ocupada por fibras colágenas no campo microscópico de acordo com o critério anterior.

RESULTADOS

Foi observado que o processo de análise de colágeno no programa ImageJ é simples, porém requer treinamento prévio, pois durante a utilização do recurso *Threshold Color* no sistema de cores RGB, a marcação das fibras colágenas é determinada pelo operador, que deve ficar atento para não incluir áreas que não correspondem as fibras colágenas, como o fundo da lâmina e tecidos adjacentes.

Os resultados deste estudo encontram-se descritos na tabela 1.

TABELA 1 – Resultados das áreas mensuradas e estimadas pelo programa ImageJ e avaliador respectivamente, e escores obtidos para a análise estatística com teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

Lâmina	Grupo ImageJ			Grupo Avaliador (controle)	
	Área mensurada (Pixels ²)	Área mensurada (%)	Escore	Área estimada (%)	Escore
1	475056	38,66	2	25<X≤50	2
2	541758	44,09	2	25<X≤50	2
3	926260	75,38	4	75<X	4
4	572169	46,56	2	50<X≤75	3
5	634305	51,62	3	50<X≤75	3
6	802069	65,27	3	75<X	4
7	720301	58,62	3	50<X≤75	3
8	1015822	82,67	4	75<X	4
9	532910	43,37	2	25<X≤50	2
10	761119	61,94	3	50<X≤75	3
11	181013	14,73	1	X≤25	1
12	287846	23,42	1	X≤25	1
13	330972	26,93	2	X≤25	1
14	151672	12,34	1	X≤25	1
15	193092	15,71	1	X≤25	1
16	498874	40,6	2	25<X≤50	2
17	574241	46,73	2	25<X≤50	2
18	751082	61,12	3	75<X	4
19	576330	46,9	2	75<X	4
20	457634	37,24	2	25<X≤50	2
21	321853	26,19	2	25<X≤50	2
22	294262	23,95	1	X≤25	1
23	319459	26	2	X≤25	1
24	596630	48,55	2	50<X≤75	3
25	386166	31,43	2	25<X≤50	2
26	226690	18,45	1	25<X≤50	2
27	277799	22,61	1	X≤25	1
28	255294	20,78	1	X≤25	1
29	235598	19,17	1	X≤25	1
30	374025	30,44	2	50<X≤75	3
Total	475743,4	38,71567			
P				0,570	

Neste estudo, 30% das lâminas apresentaram escore 1 no Grupo ImageJ e 33,33% escore 1 no Grupo Avaliador. O escore 2 foi observado em 46,67% das amostras no grupo ImageJ e 30% no grupo controle. O escore 3 esteve presente em 16,66% e 20% no grupo ImageJ e grupo Avaliador respectivamente. Quanto ao escore 4, o mesmo apresentou-se em 6,67% das amostras no grupo ImageJ e 16,67% no grupo controle. Apesar dos valores divergentes não houve diferença estatística entre os tratamentos.

DISCUSSÃO

A avaliação subjetiva da quantidade de colágeno ainda é muito utilizada. Contudo, os resultados obtidos por essa análise dependerá muito da precisão do patologista em determinar a área ocupada por fibras colágenas, a qual muitas vezes pode acarretar em resultados não fidedignos.

Apesar de não haver diferença estatística entre os métodos de avaliação da quantidade colágeno neste estudo, não podemos excluir a utilização de recursos que apresentem resultados mais próximos ao valor real. Em estudos anteriores, como os desenvolvidos FACHINELLI (2005), MELO JUNIOR (2009) e MIOT & BRIANEZI (2010), o emprego de *softwares* de análise de imagens foi eficaz na mensuração da área ocupada por colágeno em diferentes tecidos. Contudo, nem todos os *softwares* de análise de imagens utilizados nesses experimentos são gratuitos, diferente do ImageJ que está disponível gratuitamente na internet.

CONCLUSÃO

O programa ImageJ mostrou-se uma ferramenta eficaz para a avaliação da presença de colágeno total de amostras teciduais da parede abdominal de ratos wistar.

REFERÊNCIAS

- BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURTI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.41, n.1, p.27-51, 2005.
- FACHINELLI, A. **Avaliação qualitativa e quantitativa do colágeno total, tipo I e III da linha alba em pacientes portadores de hérnia da parede abdominal anterior**. 2005. 93 f. Dissertação (Mestrado em Medicina) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- MELO JUNIOR, M. R.; ARAÚJO FILHO, J. L.; TELLES, A. M. S.; PONTES FILHO, N. T. P. Avaliação histomorfométrica de micronúcleos e colágeno com métodos adicionais no diagnóstico diferencial de neoplasias cutâneas. **Arquivos de Ciências da Saúde**, São José do Rio Preto, v. 16, n. 1, p.48-50, 2009.
- MIOT, H. A.; BRIANEZI, G. Análise morfométrica do colágeno dérmico a partir da segmentação por conglomerados (*clusters*) de cor. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 85, n. 3, p. 361-364, 2010.
- OBERHOLZER, M.; ÖSTREICHER, M.; CHRISTEN, H.; BRÜHLMANN, M. Methods in quantitative image analysis. *Histochemistry and Cell Biology*, Berlin, v. 105, p. 333-355, 1996.

USO DO GLUCARATO ^{99m}Tc COMO MARCADOR CONTROLE NO ESTADIAMENTO DO TUMOR DE MAMA CANINO

THE USE ^{99m}Tc GLUCARATE AS A STAGING MARKER CONTROL IN CANINE MAMMARY TUMOR

Debora Aparecida Pires de Campos Zuccari¹, Lívia Carvalho Ferreira², Kleber Roberto
Sant'Anna², Bruna Victorasso Jardim³, Juliana Garcia Oliveira⁴, Jorge Mejia¹, Adriana Iozzi
Joaquim⁵, Cibelli Soares Frade²

1. Professor Doutor, Departamento de Biologia Molecular – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP /SP, Brasil. Email: Débora.zuccari@famerp.br
2. Centro de Estudos e Pesquisa do Câncer – CEPC, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP /SP, Brasil.
3. Doutoranda no Programa de Genética, Universidade Estadual Paulista - UNESP, São José do Rio Preto /SP, Brasil.
4. Pós Doutoranda, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP /SP, Brasil.
5. Médica responsável pelo Serviço de Medicina Nuclear do Hospital de Base de SJRP/SP, Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: Neoplasia mamária, radiofármaco, SPECT, cadela.

ABSTRACT

Mammary tumors in female dogs are suitable models to study the biology of cancer, because they have a biological behavior and histopathological presentation similar to those that affect human beings. With the increased incidence of breast cancer and advances in diagnostic imaging, researchers have sought new methods to identify and monitor the development of tumors. The use of tomographic technique (SPECT) scintigraphic studies can provide information for small lesions, compared with planar imaging. It is known that the vast majority of malignant mammary tumors has regions of hypoxia, which progress to tissue necrosis. The radiopharmaceutical ^{99m}Tc-Glucarate has been studied as a potential marker of ischemic areas and necrosis. Thus, it is expected the accumulation of ^{99m}Tc-Glucarate in tumor cells, specially in epithelial mammary cancer. In the search for diagnostic and prognostic markers for this tumor type, this study evaluated the use of the radiopharmaceutical ^{99m}Tc-Glucarate and its potential use in female dogs with mammary neoplasia. There was a slight concentration of radiotracer in the region affected by mammary tumor which was not observed in dog control. It is concluded that ^{99m}Tc-Glucarate can be a potential radiopharmaceutical for diagnosis of recidive and metastasis, confirming the real tumor prognosis.

KEYWORDS: mammary neoplasia, radiopharmaco, SPECT, dog.

INTRODUÇÃO

As neoplasias mamárias são os tumores mais comuns na fêmea canina, sendo responsáveis por aproximadamente 52% de todas as neoplasias nesta população animal, e, portanto prestam-se como modelos válidos ao estudo da biologia do câncer (SORENMO, 1998; QUEIROGA & LOPES, 2002).

Com o aumento do número de casos de câncer de mama na população, pesquisadores têm buscado novos meios na identificação de tumores (INCA, 2010). Tem-se destacado o diagnóstico por imagem como o Raio X, Tomografia Computadorizada, Ressonância Magnética e Cintilografia.

A Emissão de fóton único por tomografia computadorizada (SPECT) consiste em uma imagem tomográfica através da emissão de um único fóton, emitidos por isótopos emissores de raios gama (FINUCANE et al., 2011). É muito semelhante à imagem planar convencional adquirida em Gama Câmara em serviços de Medicina Nuclear, no entanto, é capaz de fornecer informações adicionais tridimensionais. A geração de imagens *in vivo* através da captação dos radiofármacos na técnica de SPECT em modelos animais de laboratório pode contribuir para o desenvolvimento de novos radiofármacos e no aperfeiçoamento do diagnóstico, acompanhamento e terapêutica tumoral.

Dentre os diversos radiofármacos utilizados atualmente, ainda não existe um radiofármaco específico para a identificação do câncer de mama. Com o surgimento de estudos a cerca do Glucarato ^{99m}Tc (GLA - ^{99m}Tc), sugere-se que este radiofármaco pode ser uma forma de identificação tumoral eficaz e não invasiva. O GLA - ^{99m}Tc é estruturalmente similar a frutose e penetra na célula através do sistema de transporte D-frutose, quando esta passa ao metabolismo anaeróbico (IPEN, 2010).

Assim, visando viabilizar novos métodos de avaliação diagnóstica no câncer de mama, o objetivo desse estudo foi avaliar a capacidade do radiofármaco GLA - ^{99m}Tc em identificar o câncer de mama primário e suas possíveis metástases.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas neste estudo duas cadelas de médio porte, com peso aproximado de 30kg que já tiveram cria. Uma apresentava múltiplos nódulos tumorais em ambas as cadeias mamárias e a outra, sem histórico de tumor mamário, foi utilizada como controle. O exame

cintilográfico foi realizado com o radiofármaco GLA - ^{99m}Tc liofilizado proveniente do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/SP). Foi administrado 0,74 GBq de GLA - ^{99m}Tc na veia cefálica da pata esquerda da cadela.

As imagens foram obtidas numa câmara de cintilação computadorizada da marca Elscint, modelo APEX SPX4, equipada com colimador de baixa energia e de alta resolução. Para as imagens estáticas foi utilizado a matrix 256X256, aumento de 1,5 vezes e 10 minutos por projeção. Após a administração do radiofármaco foram realizadas imagens de varredura de corpo inteiro nas projeções anterior e posterior aos 10 minutos. Imagens estáticas adicionais na projeção lateral direita do abdômem foram obtidas após 15 e 30 minutos; e imagem do tórax e abdômem anterior aos 60 minutos da administração do traçador.

RESULTADOS

As imagens de corpo inteiro da cadela com tumor mamário revelaram acentuada concentração do GLA - ^{99m}Tc nos rins e na bexiga, e discreta/moderada concentração no miocárdio e no fígado. Nas imagens estáticas da região lateral direita do abdômen observou-se discreta concentração do radiotraçador na região mamária onde estava presente a tumoração. A imagem estática da região torácica e abdominal mostrou discreta concentração no coração.

As imagens de corpo inteiro da cadela controle revelaram o mesmo padrão cintilográfico das vísceras observadas na cadela com neoplasia. No entanto, as imagens estáticas da região lateral direita do abdômen não demonstraram a concentração do radiotraçador na região mamária.

DISCUSSÃO

O primeiro relato de aplicação clínica do GLA- ^{99m}Tc , descreve-o como um marcador de áreas de necrose (NUNN, 1990). Desde então, este radiotraçador vem sendo utilizado na clínica médica para detecção de infarto de miocárdio (BORTOLETI et al., 2008). No entanto, sugere-se sua utilização para outros diagnósticos, inclusive do câncer.

PETROV et al. (1997) implantaram células tumorais de mama em animais de laboratório e demonstraram que houve alta concentração do GLA- ^{99m}Tc nas células implantadas. Segundo esses autores, a marcação das células tumorais foi viável devido às áreas de necrose que coexistem nas áreas tumorais (PETROV et al. 1997).

Nossos resultados estão de acordo com esse estudo, sugerindo que a utilização de radiotraçadores e técnicas cintilográficas tornariam possível o controle do estadiamento e acompanhamento da evolução clínica do câncer de mama (GAMBINI et al., 2011).

CONCLUSÃO

Mais estudos são necessários para corroborar o uso do GLA-^{99m}Tc no controle do estadiamento do tumor de mama, considerando-se que se trata de um procedimento inédito em cães com neoplasias. Sua utilização tem potencial valor prognóstico, sendo uma técnica confiável e não invasiva e vindo proporcionar condutas terapêuticas específicas.

AGRADECIMENTOS

FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

REFERÊNCIAS

- BORTOLETI, E. A.; LAVINAS, T.; COLTURATO, M. T.; MENGATTI, J., Garantia da qualidade aplicada à produção de radiofármacos. **Rev. Bras. Cienc. Farm.** São Paulo jan./mar. v.44 n.1, 2008.
- FINUCANE, C. M.; MURRAY, I.; SOSABOWSKI, J.; et al., Quantitative Accuracy of Low-Count SPECT Imaging in Phantom and *In Vivo* Mouse Studies. **Int J Mol Imaging**, p. 197-381, 2011.
- GAMBINI, J. P.; CABRAL, P.; ALONSO, O.; SAVIO, E.; FIGUEROA, S. D.; ZHANG, X.; MA, L.; DEUTSCHER, S. L. Evaluation of ^{99m}Tc-glucurate as a breast cancer imaging agent in a xenograft animal model. v. 38, n. 2, p.255-260, 2011.
- INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). Estimativas da incidência e mortalidade por câncer no Brasil. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, 2010.
- INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES (IPEN). Disponível em: www.ipen.br/sitio/?idm=115. Acesso em: 13 set. 2011.
- NUNN, A. D. Radiopharmaceuticals for imaging myocardial perfusion. **Semin. Nucl. Med**, v. 20, p.111- 118, 1990.
- PETROV, D.; NARULA, J.; NAKAZAWA, A.; PAK K. Y.; KHAW, B. A. Targeting human breast tumor in xeno-grafted SCID mice with ^{99m}Tc-glucurate. **Nucl Med Commun** 18, p. 241–251, 1997.
- QUEIROGA, F.; LOPES, C. Tumores mamários caninos, pesquisa de novos fatores de prognóstico. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 97, n. 543, p. 119-127, 2002.
- SORENMO, K. An Update On Canine Mammary Gland Tumors. **Proceedings of the 16th Acvim Forum**, p. 387-388, 1998.



XV Encontro Nacional de Patologia Veterinária e I Congresso Brasileiro de Patologia Veterinária. **Anais...** Goiânia: Patologia Veterinária/EVZ/UFG, 2011.

CONDROSSARCOMA VERTEBRAL: RELATO DE CASO

CHONDROSARCOMA VERTEBRAL: CASE REPORT

Ana Maria de Souza Almeida¹, Karen Leão Pimentel², Fabiana Elias³, Helvécio Leal Santos Júnior³, João Ricardo B. Nardotto⁴, André César Ramiro de Sousa², Rebeca Sales Teixeira Chaves⁵, Patrícia Della Penna⁵

1. Residente de Medicina Veterinária, Setor de Anatomia Patológica, União Pioneira de Integração Social (UPIS), Planaltina, DF, Brasil.
2. Aluno do curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária, União Pioneira de Integração Social (UPIS), Planaltina, DF, Brasil. Email: karenleao_90@hotmail.com
3. Professor do Curso de Medicina Veterinária da União Pioneira de Integração Social (UPIS), Laboratório de Anatomia Patológica, Planaltina, DF, Brasil.
4. Médico Veterinário autônomo, Diagnopet, Brasília, DF, Brasil.
5. Médica Veterinária autônoma, Brasília, DF, Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: condrossarcoma, cão, tomografia computadorizada, vértebra.

ABSTRACT

Chondrosarcoma is the second malignant neoplasm primary of bone most common in dogs. The most frequent sites are the nasal bones, ribs and pelvis. This study reports a case of spinal chondrosarcoma in a dog with a history of paraparesis, diagnosed with the aid of computed tomography.

KEYWORDS: chondrosarcoma, computed tomography, dog, vertebra.

INTRODUÇÃO

Ossos consistem em uma variedade de tecido mesenquimal, que possui também potencial de transformação neoplásica. A classificação dos tumores ósseos é baseada nas características morfológicas das células tumorais, na matriz que é produzida, e na anatomia das lesões. Sarcomas são originários de precursores mesenquimais e são classificados conforme o tecido que se assemelha (THOMPSON & POOL, 2002).

Condrossarcoma é um neoplasma maligno (CARLTON & MCGAVIN, 1998; GOMES, CARREIRA & LUVIZOTTO, 2008; THOMPSON & POOL, 2002), não frequente quando primário e agressivo no local onde ocorre (GOMES, CARREIRA & LUVIZOTTO, 2008). Este neoplasma é caracterizado por células tumorais que produzem quantidade variável de condróide

neoplásico e matriz fibróide, mas nunca matriz osteóide ou osso (CARLTON & MCGAVIN, 1998; THOMPSON & POOL, 2002).

O condrossarcoma provavelmente ocorre em todas as espécies, mas recentemente é mais relatado em cães (CARLTON & MCGAVIN, 1998; THOMPSON & POOL, 2002), representando cerca de 10% dos tumores primários em ossos, atrás apenas do osteossarcoma (GOMES, CARREIRA & LUVIZOTTO, 2008; THOMPSON & POOL, 2002). Ocorre mais em raças médias à grandes e é rara em raças pequenas e gigantes. Animais de idade mediada à idosos são comumente relatados, variando de 5,9 a 8,7 anos de idade. E não há predileção por sexo (THOMPSON & POOL, 2002). Podem evoluir de exostoses cartilaginosas múltiplas em cães e seres humanos.

Condrossarcoma atinge mais ossos chatos do que ossos longos. Os principais locais de origem são os ossos nasais, costelas e pelve (CARLTON & MCGAVIN, 1998; THOMPSON & POOL, 2002). São tipicamente caracterizados por grandes massas em que o quadro clínico do animal esta relacionado com a invasão tumoral (THOMPSON & POOL, 2002). A massa tumoral é composta por múltiplos nódulos pequenos, que variam de macio à moderadamente firme, de cor branco-azulado ou cinza (CARLTON & MCGAVIN, 1998; THOMPSON & POOL, 2002).

Este trabalho tem o objetivo de relatar um caso de Condrossarcoma vertebral, cujo as imagens tomográficas auxiliaram na localização da lesão.

MATERIAIS E METÓDOS

Um cão, da raça Rottweiler, 8 anos de idade, foi necropsiado no setor de anatomia Patológica da UPIS. Anteriormente, foram realizados, radiografia e tomografia computadorizada como exames complementares, onde foram encontradas alterações compatíveis com neoplasia em vértebras lombares.

RESULTADOS

Na radiografia observou-se área radioluscente em T1. Com isso, foi realizada Tomografia computadorizada, em cortes axiais com 3mm de espessura, com reconstrução sagital e coronal, com utilização de contraste não-iônico venoso, indo de T13 a S1. Dentre os achados havia: massa hipercatente ao contraste venoso característica de neoformação em vértebra L1, com

lise óssea do corpo vertebral da mesma, medindo cerca de 20,8mm X 22,3mm X 28,1mm, medindo aproximadamente 70 HU* (Hounsfield Unit) o que caracteriza massa neoplásica, ocupando cerca de 90% do canal medular, comprimindo assim a face ventral do saco dural da medula espinhal. Também foi observado compressão da dura mãe. Na necropsia foi visualizado fragmentação de corpo vertebral de L1 com área de estenose do canal, devido a invasão de massa, cor esbranquiçada a azulada, com consistência macia.. Na área de estenose, a medula espinhal apresentava-se com coloração avermelhada e friável. As lesões microscópicas foram caracterizadas por proliferação de células fusiformes, moderadamente pleomórficas, com núcleo alongado, por vezes disposto na periferia celular e cromatina dispersa. Citoplasma levemente eosinofílico e indistinto. Observam-se áreas multifocais com deposição de cartilagem e colágeno. Áreas de lise óssea e inflamação estavam presentes.

DISCUSSÃO

Condrossarcoma primário em vértebra não é um local frequentemente relatado. THOMPSON & POOL (2002) e CARLTON & MCGRAVIN (1998) citam costela, cavidade nasal e pelve como locais mais comumente acometidos.

Massa irregular que invade o canal medular, com compressão da dura mãe foi achado de necropsia que se assemelha as características macroscópicas de condrossarcoma citadas por THOMPSON & POOL (2002). Lesões microscópicas, como proliferação de células fusiformes, por vezes presentes em meio a uma matriz condróide, núcleo alongado e citoplasma eosinofílico corroboram com os achados histopatológicos citados por PLIEGO et al. (2008), THOMPSON & POOL (2002), WOODARD (2000).

WOODARD (2000) relata que este tumor pode infiltrar-se entre as trabéculas do osso hospedeiro antes que estas estruturas sejam reabsorvidas e ou alteradas pela remoldagem, o que fica evidenciado pelo envolvimento de vértebra e do canal medular, resultando nos sinais neurológicos como; paraparesia, demonstrados pelo paciente.

PARK et al. (1992) referem que a tomografia computadorizada é um exame complementar importante na detecção de lesões nem sempre detectadas ou de difícil visualização radiográfica. Nem sempre as neoplasias são de fácil visualização. No animal deste relato, não havia lesões externas, a tomografia computadorizado, neste caso, foi essencial, pois além do



XV Encontro Nacional de Patologia Veterinária e I Congresso Brasileiro de Patologia Veterinária. **Anais...** Goiânia: Patologia Veterinária/EVZ/UFG, 2011.

diagnóstico por imagem, revelou a exata localização da lesão, as dimensões e a invasão do canal medular.

CONCLUSÃO

Condrossarcoma nas vértebras não é um local comumente relatado. A invasão da neoplasia no canal medular ocasionou o aparecimento dos sinais neurológicos, que por sua vez também não são sinais comumente relacionados ao condrossarcoma. A tomografia computadorizada auxiliou na localização da lesão, mostrando a importância de um bom histórico e exames complementares como auxílio para a patologia, uma vez que na nossa experiência, a falta de dados muitas vezes dificulta o diagnóstico.

REFERENCIAS

- DOIGE, C. E.; WEISBRODE, S. E. Doenças dos Ossos e das Articulações. In: CARLTON, W. W; MCGAVIN, M. D. **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. 2th ed. Porto Alegre: Artmed. p. 448-474. 1998.
- GOMES, A. F. G.; CARREIRA, V. S.; LUVIZOTTO, M. C. R. Relato de caso: Condrossarcoma nasal em cão. **Vet. e Zootec.** v. 15, n. 2, p.106, 2008.
- PARK, R. D.; BECK, E. R.; LECOUTEUR, R. A. Comparison of computed tomography and radiography for detecting changes induced by malignant nasal neoplasia in dogs. **J Am Vet Med Assoc.** v. 201, n. 11, p. 1720-1724. 1992 (Resumo).
- PLIEGO, C. M. et al. Condrossarcoma extraesquelético em cão. **Vet. e Zootec.** v. 15, n.3, p.31-32, 2008.
- THOMPSON, K.G.; POOL R. R. Tumors of Bones. In: MEUTEN, D. J. **Tumors in Domestic Animals**. 4. ed. Iowa: Iowa State Press, p. 245-318. 2002.
- WOODARD, J. C. Sistema Esquelético. In: JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. K. **Patologia Veterinária**. 6. ed. São Paulo: Manole. p. 913-962. 2000.

CARACTERIZAÇÃO DE ELEMENTOS CURTOS INTERCALADOS (CAN SINES) COMO MARCADORES PROGNÓSTICOS EM NEOPLASIA MAMÁRIA CANINA
CHARACTERIZATION OF SHORT INTERSPERSED ELEMENTS (CAN SINES) AS PROGNOSTIC MARKERS IN CANINE MAMMARY NEOPLASMA

Gabriela Bottaro Gelaleti¹, Adriana Granzotto², Claudia Marcia Aparecida Carareto³, Juliana Garcia de Oliveira², Camila Leonel¹, Bruna Victorasso Jardim⁴, Marina Gobbe Moschetta⁵, Debora Aparecida Pires de Campos Zuccari⁶

1. Mestranda, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP/IBILCE, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. Email - gabi_b_g@yahoo.com.br
2. Doutora em Genética, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP/IBILCE, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil.
3. Professora Doutora Titular, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP/IBILCE, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil.
4. Doutoranda, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP/IBILCE, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil.
5. Biomédica, Centro de Estudos e Pesquisa do Câncer, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil.
6. Professora Doutora do Programa de Pós Graduação em Genética, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP/IBILCE, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. Email - debora.zuccari@famerp.br

PALAVRAS-CHAVE: DNA livre-circulante, retrotransposons curtos, biomarcador, tumor de mama.

ABSTRACT

The study of mammary tumors in female dogs appears to be an excellent model for investigating clinical-pathologic, diagnostic and prognostic assessment of mammary neoplasms. Cell-free DNA circulating in serum is a candidate molecular biomarker for tumors. Short retroposons (SINES) constituting 5-10% genome and CAN SINE is highly repeated in genome dog. A short interspersed nuclear element of ~ 174bp was cloned and estimated number of copies in bitches with mammary tumors and it was examined their relationship with clinical-pathological characteristics and clinical outcome. It was found a significant difference between the estimated number of copies and pathological parameters of poor clinical outcome indicators and low rate of survival in the group. Our results show that CAN SINE can be used as noninvasive prognostic marker in mammary cancer research and it is useful in predicting progression and tumor recurrence in bitches with mammary tumors.

KEYWORDS: Cell-free DNA, short retrotransposons, biomarker, mammary tumor.

INTRODUÇÃO

A alta incidência de neoplasias mamárias em cadelas e a difícil previsão da sua evolução clínica têm estimulado a busca de novos marcadores para a detecção precoce de metástases e consequente melhora da qualidade de vida e do prognóstico.

O genoma de mamíferos é caracterizado por um grande número de sequências repetidas, as quais são altamente variáveis entre uma espécie e outra. A maioria dessas sequências são remanescentes de elementos transponíveis e estão espalhadas por todo o genoma. Características estruturais e sequências homólogas classificam os retroposons em três tipos básicos: elementos repetitivos intercalados curtos de DNA (SINEs), elementos repetitivos intercalados longos de DNA (LINEs) e retropseudogenes (BENTOLITA et al., 1999). SINEs são repetições genômicas de comprimento de 80-400pb, originados de RNAt que constituem cerca de 5-10% do genoma. Foram inicialmente encontrados em primatas e roedores, e atualmente é aceito que muitas famílias de SINEs estão presentes na maioria dos eucariotos superiores (VASSETZKY et al., 2001). Em carnívoros, CAN-SINE é uma família altamente repetida no genoma (~400,000pb no genoma haplóide do cão).

Uma série de estudos tem mostrado que pequenas quantidades de DNA circulam livremente no plasma sanguíneo e que altas quantidades são encontradas em pacientes com câncer (STROUN et al., 2001). O DNA livre circulante de células tumorais no sangue é um promissor biomarcador candidato à verificação da malignidade tumoral e do prognóstico. Níveis absolutos de DNA livre circulante detectado no soro ou plasma têm sido relacionados à presença de células epiteliais malignas. Em indivíduos saudáveis, a principal fonte de DNA livre circulante são células apoptóticas. Em contraste, o DNA liberado de células malignas varia em tamanho, porque a morte celular patológica nos tumores malignos resulta não só da apoptose, mas também da necrose, autofagia e/ou catástrofe mitótica (UMETANI et al., 2006). Assim, foram objetivos desse estudo, quantificar o elemento CAN SINE através da estimativa do número de cópias em cadelas com neoplasia mamária e verificar sua relação com os parâmetros clínico-patológicos e com a evolução clínica, no intuito de usá-lo como marcador prognóstico.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de sangue periférico e fragmento tumoral de 30 cadelas com neoplasia mamária e 50 cadelas controle. Foi extraído o soro das amostras e este foi digerido com 16µg de solução de proteinase K. A sequência do elemento CAN SINE, de 174

pb, foi amplificada usando os oligonucleotídeos CAN SINE: 5' CTGGGTGGCTCAGTCRGT 3' e 5' AGCACAGAGCCYGAYGYG 3' (VASSETZKY & KRAMEROV, 2002). Essa sequência foi clonada no plasmídeo Topo TA vector e a presença da sequência de interesse no plasmídeo foi confirmada por PCR usando oligonucleotídeos iniciadores específicos para a sequência do plasmídeo (M13), perfil de restrição (por meio de enzimas de restrição) e seqüenciamento. Para a PCR quantitativa, o plasmídeo foi linearizado usando a enzima de restrição Hind III e purificado usando o Illustra *GFX* PCR DNA and Gel Band Purification kit. Depois de quantificado, foi determinado o valor inicial da curva padrão. A estimativa do número de cópias foi determinada pelo software PCR em tempo real System 7500 *Fast*. Valores de *p* menores que .05 foram considerados significantes em todas as análises.

RESULTADOS

Foram encontradas diferenças significantes no grupo de cadelas com neoplasia mamária relacionando-se diferentes características clinico-patológicas. Através da análise univariada, houve aumento no número de cópias em cadelas com idade superior a 10 anos ($p=.02$), tempo de evolução tumoral maior que 18 meses ($p=.01$) e óbito ($p=.02$). Na análise multivariada houve associação entre o aumento no número de cópias ($p=.04$), recidiva tumoral local ($p=.001$), evolução tumoral ($p=.04$), presença de metástase ($p<.0001$) e presença de ulceração ($p=.001$) com o maior risco de óbito. As cadelas foram acompanhadas de 30 a 360 dias. Para análise da curva de sobrevida, foram divididas de acordo com as quantificações anteriores a data de óbito, tendo sido estabelecido o valor de corte aproximado de 19.132.000 cópias. Dessa forma, foi possível correlacionar o aumento do número de cópias com a baixa taxa de sobrevida do grupo (IC 95%; $p=.04$).

DISCUSSÃO

O aumento e/ou mudanças genéticas e epigenéticas no DNA plasmático tem sido associados ao pior prognóstico em vários tumores. Há relatos que cerca de 50% de todos os pacientes com câncer têm aumento do DNA na circulação, assim, níveis de DNA livre circulante podem ser usados como mais uma alternativa no estudo do câncer. Além disso, não há relatos de trabalhos envolvendo as sequências CAN SINEs na estimativa do número de cópias relacionando os aspectos de diagnóstico e prognóstico do câncer de mama em cães.

O aumento no número de cópias do elemento CAN SINE observado nesse estudo pode caracterizá-lo como um marcador de pior prognóstico. Estudos têm demonstrado elevados níveis de DNA livre circulante no plasma de pacientes com variados tipos de câncer.

Yang et al. (2008) indicaram que a integridade de DNA circulante, calculada por valores de threshold de 400pb e 100pb de um gene específico por qPCR pode ser um biomarcador molecular para detecção de cânceres ginecológicos e de mama. A partir de um estudo de Umetani et al. (2006) com níveis absolutos de sequências ALU, foram observadas elevações nos níveis das sequências, relacionados a estágios avançados do câncer de mama em humanos. Schaefer et al. (2007) encontraram que cães com neoplasia linfóide apresentam aumento do DNA plasmático, caracterizando-o como um indicador de prognóstico ruim.

Foi observado que todas as cadelas que vieram a óbito apresentaram aumento no número de cópias do elemento CAN SINE (Kaplan-Meier), inferindo na maior liberação do DNA livre circulante associado às modificações celulares malignas que acontecem no câncer, e concluindo que essa estimativa de marcação prognóstica é independente para a sobrevivência, podendo ser utilizada no controle do estadiamento do câncer de mama.

CONCLUSÃO

O desenvolvimento de ensaios clínicos rápidos e de mínima invasão ao paciente como o índice de DNA circulante em tumores são potenciais marcadores de prognóstico e evolução do câncer, além de ser um método inovador e preciso. Podemos concluir que os níveis circulantes das sequências SINEs em cães podem ser úteis no acompanhamento da evolução tumoral e na detecção de recidivas e/ou metástases, podendo assim ser considerado um confiável marcador prognóstico em cadelas portadoras de neoplasias mamárias.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP pelo auxílio à Pesquisa e financiamento à bolsa de Mestrado.

REFERÊNCIAS

- BENTOLILA, S., BACH, J., KESSLER, J., BORDELAIS, I., CRUAUD, C., WEISSENBAACH, J., PANTHIER, J. Analysis of major repetitive DNA sequences in the dog (*Canis familiaris*) genome. **Mammalian Genome**. v.10, p.699–705, 1999.
- SCHAEFER, D.M.W., FORMAN, M.A., KISSEBERTH, W.C., LEHMAN, A.M., KELBICK, N.T., HARPER, P., RUSH, L.J. Quantification of plasma DNA as a prognostic indicator in canine lymphoid neoplasia. **Veterinary Comparative Oncology**. v.5, n.3, p.145-55, 2007.
- STROUN, M., LYAUTEY, J., LEDERREY, C., MULCAHY, H.E., ANKER, P. *Alu* repeat sequences are present in increased proportions compared to a unique gene in plasma/serum DNA. **Circulating nucleic acids in plasma or serum I**. v.945, p.258–264, 2001.
- UMETANI, N., GIULIANO, A.E., HIRAMATSU, S.H., AMERSI, F., NAKAGAWA, T., MARTINO, S., HOON, D.S.B. Prediction of Breast Tumor Progression by Integrity of Free Circulating DNA in Serum. **Journal of clinical oncology**. v.24, n.26, 2006.
- VASSETSKY, N.S., KRAMEROV, D.A. CAN-a pan-carnivore SINE family. **Mammalian Genome**. v.13, p.50-57, 2002.
- YANG, Y., IYERS, L.K.; ADELSTEIN, S.J.; KASSIS, A.I. Integrative genomic data mining for discovery of potential blood-borne biomarkers for early diagnosis of cancer. **Journal Plos One**. v. 3, n. 11, 2008.

**APLICAÇÃO DA IMUNO-HISTOQUÍMICA E HISTOPATOLOGIA NO
DIAGNÓSTICO DE *TOXOPLASMA GONDII* NO CORAÇÃO DE GALINHAS**
APPLICATION OF IMMUNOHISTOCHEMISTRY AND HISTOPATHOLOGY FOR THE
DIAGNOSIS OF *TOXOPLASMA GONDII* IN THE HEARTS OF CHICKENS

Rodrigo de Macedo Couto¹, Luiz Cláudio Ferreira¹, Leandro Batista das Neves², José
Leonardo Nicolau², Maria Regina Reis Amendoeira², Luciana Casartelli Alves¹, Tânia Maria
Valente Pacheco¹, Rodrigo Caldas Menezes¹

1. Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC), LAPCLIN-DERMZOO, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil. E-mail: rodrigoscouto@hotmail.com (autor correspondente)
2. Instituto Oswaldo Cruz (IOC), LABTOXO, FIOCRUZ

PALAVRAS-CHAVE: Toxoplasmose, *Gallus gallus*, patologia, histologia.

ABSTRACT

Toxoplasmosis is an extremely common zoonosis, having importance for public health. Free-range chickens are good indicators of environmental contamination by *T. gondii* because they feed from the ground. The aim of survey was to test the immunohistochemistry and histopathology techniques for the diagnosis of *Toxoplasma gondii* in the hearts of chickens reared for human consumption. Sixty five chickens, which were acquired from 23 farms located in Rio de Janeiro state, were submitted to blood collection and then euthanatized and necropsied. Search for antibodies to *T. gondii* by serology and for the parasite in the hearts of chickens by histopathology and immunohistochemistry were performed. Antibodies to *T. gondii* were assayed by indirect fluorescent antibody test (IFAT) and titles equal or greater than 16 were considered positive. Twenty nine (45.0%) chickens were seropositive, two (3.0%) presented cists detected by the immunohistochemistry and one (1.5%) presented cysts detected by histopathology. The histopathology and immunohistochemistry techniques demonstrated low sensitivity when detecting infected chickens, but work satisfactory. Additionally, the results obtained confirmed environmental contamination and the possibility of human infection by eating raw or undercooked hearts of chickens from the investigated farms.

KEYWORDS: Toxoplasmosis, *Gallus gallus*, histology, pathology.

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose mundialmente distribuída que acomete mamíferos e aves. Galinhas oriundas de criações extensivas são importantes na epidemiologia da toxoplasmose, sendo consideradas indicadoras de contaminação ambiental (DUBEY, 2010).

No Brasil, estudos recentes sobre *T. gondii* em galinhas domésticas criadas extensivamente em vários estados indicam altas prevalências nesses animais e uma elevada contaminação do meio rural com oocistos do protozoário (OLIVEIRA et al., 2009). Com relação ao diagnóstico nas aves, podem ser utilizadas técnicas sorológicas, moleculares, histopatologia, imuno-histoquímica e bioensaio em camundongos. Dentre as técnicas sorológicas, os métodos de ELISA e RIFI apresentam bons resultados na detecção de anticorpos no soro de galinhas (DUBEY et al., 2002). O exame histopatológico constitui um método de rotina para o diagnóstico do *T. gondii* nos tecidos e, por vezes, é o único possível quando esses são submetidos ao laboratório já fixados em formol a 10% (DUBEY, 2010). Além disso, é o único que permite avaliar as alterações patológicas. Todavia, nessa técnica o protozoário poder ser confundido com células teciduais e outros coccídios como *Neospora caninum* e *Sarcocystis* (FAYER & DUBEY, 1985; SPEER et al., 1999), sendo, por isso, recomendável o emprego auxiliar da técnica de imuno-histoquímica. Entretanto, não são conhecidas as sensibilidades das técnicas de histopatologia e imuno-histoquímica no diagnóstico da infecção por *T. gondii* em galinhas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas sessenta e cinco galinhas criadas extensivamente em 23 propriedades rurais localizadas nos municípios de Rio Bonito e Maricá, RJ. Essas aves tiveram amostras de sangue de sangue coletadas por punção da veia basílica e foram submetidas à eutanásia e necropsiadas. Os procedimentos realizados com as galinhas foram autorizados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da FIOCRUZ sob licença L012-09. O soro foi separado e armazenado a -20°C até a realização de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* de acordo com CAMARGO (1996) utilizando-se taquizoítas da cepa RH com antígeno adsorvido em lâmina e conjugado anti-IgG de galinhas (Sigma-Aldrich) marcado com fluoresceína (FITC). Os soros foram diluídos em PBS 0,01 M, pH 7,2, nas diluições de 1:16, 1:64, 1:256, 1:1024 e 1: 4096. Foram considerados positivos aqueles com títulos maiores ou iguais a 16. Na necropsia, fragmentos de coração foram

coletados, fixados em formol tamponado à 10% e processados pelas técnicas histológicas usuais para inclusão em parafina e cortes de 5,0 μ m foram corados pela hematoxilina-eosina (HE). Segundo DUBEY (2010), cistos de *T. gondii* se encistam mais facilmente na musculatura do que no cérebro, sendo mais frequentemente encontrado no coração. A partir do mesmo material parafinado, utilizando lâminas silanizadas, foi realizada a técnica de imuno-histoquímica. Foi utilizado o anticorpo primário anti-*T. gondii* policlonal (coelho), marca CELL MARQUE® na diluição de 1:30 e o *kit* amplificador por polímeros Novo Link Max Polymer Detection System®, marca Novocastra, utilizado segundo as recomendações do fabricante, com recuperação antigênica realizada em tampão citrato à 60°C em banho-maria por 30 min.

RESULTADOS

Dentre as 65 galinhas necropsiadas cujo soro foi submetido à pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* pela técnica de RIFI, 29 (45,0%) foram positivas apresentando títulos de anticorpos variando de 16 a 1024.

No coração, cistos de *T. gondii* foram observados em três (5,0%) galinhas, sendo que em uma (1,5%) o parasito foi detectado pela técnica de histopatologia e em outras duas (3,0%) pela técnica de imuno-histoquímica. Todas as galinhas positivas pelas técnicas de histopatologia e imuno-histoquímica eram soropositivas.

DISCUSSÃO

Foi baixa a detecção do *T. gondii* pelas técnicas de histopatologia e imuno-histoquímica quando comparadas aos resultados da RIFI. Semelhante ao presente estudo, SILVA & LANGONI, 2001 observaram uma baixa capacidade de detecção do *T. gondii* pela técnica de histopatologia em amostras teciduais de cérebro e diafragma de ovinos. Adicionalmente, a técnica de imuno-histoquímica apresentou um resultado superior ao da histopatologia no presente estudo, o que pode estar relacionado a uma melhor visualização do parasito. Segundo FAYER & DUBEY (1985) e SPEER et al. (1999), a histopatologia é limitada no diagnóstico de *T. gondii*, pois o parasito pode ser confundido com células teciduais e outros coccídeos como *Neospora caninum* e *Sarcocystis*, que podem parasitar galinhas. Nesse aspecto, a técnica de imuno-histoquímica seria vantajosa com relação à

histopatologia, pela sua alta especificidade (ARAUJO et al., 1998), devendo ser utilizada como técnica complementar.

Segundo BRANDÃO et al. 2006, a prevalência sorológica da infecção toxoplásmica em galinhas de criação extensiva pela RIFI foi de 53,6%. O presente estudo, utilizando a mesma técnica sorológica e também animais oriundos do mesmo tipo de criação, verificou uma prevalência de 45%, demonstrando uma similaridade nos resultados obtidos. Além disso, a positividade por esta técnica foi superior a histopatologia e imunohistoquímica.

Deve-se ressaltar a importância da presença do *T. gondii*, sobretudo no coração, indicando a possibilidade de infecção humana pela ingestão de carne crua ou mal cozida desses animais, visto também que é um alimento muito consumido pela população.

CONCLUSÃO

As técnicas de imuno-histoquímica e histopatologia foram capazes de detectar cistos de *T. gondii* em coração de galinhas, sendo portanto indicadas quando técnicas mais sensíveis não estiverem disponíveis.

As técnicas de imuno-histoquímica e histopatologia apresentaram baixa sensibilidade no diagnóstico da infecção por *T. gondii* quando comparadas à técnica de RIFI.

Os resultados evidenciam uma ocorrência de toxoplasmose em quase metade das galinhas obtidas, indicando elevada contaminação ambiental nas propriedades estudadas.

REFERÊNCIAS

- ARAUJO, W.N.; SILVA, A.V.; LANGONI, H. **Toxoplasmose: uma zoonose - realidade e riscos.** Cães e gatos, v.79, n. 1, p. 20-27, 1998.
- BRANDÃO, G.P.; FERREIRA, A.M.; MELO, M.N.; VITOR, R.W.A. **Characterization of *Toxoplasma gondii* from domestic animals from Minas Gerais, Brazil.** Parasite, v. 13, p.143-149, 2006.
- CAMARGO, M.E. Toxoplasmose. In: FERREIRA, AW; ÁVILA, S.L.M. **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.
- DUBEY, J.P. ***Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus gallus domesticus*): prevalence, clinical disease, diagnosis and public health significance.** Zoonoses Public Health, v.57, p.60-73, 2010.
- DUBEY, J.P.; GRAHAM, D.H.; BLACKSTON, C.R.; LEHMANN, T.; GENNARI, S.M.; RAGOZO, A.M., NISHI, S.M; SHEN, S.K.; KWOK, O.C.H.; HILL, D.E.; THULLIEZ, P. **Biological and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil: unexpected findings.** International Journal for Parasitology, v.32, n.1, p.99-105, 2002.
- FAYER, R.; DUBEY, J.P. **Methods of controlling transmission of protozoan parasites from meat to man.** Food Technology, v.39, n.3, p.57-60, 1985.
- OLIVEIRA, L.; COSTA JUNIOR, L.M.; MELLO, C.; RAMOS SILVA, J.; BEVILAQUA, C.M.; AZEVEDO, S.; MURADIAN, V.; ARAÚJO, D.A.F.V., DUBEY, J.P.; GENNARI, S.M. ***Toxoplasma gondii* isolates from free-range chickens from the Northeast region of Brazil.** Journal of Parasitology, v.95, n.1, p.235-237, 2009.
- SILVA, A.V.; LANGONI, H. **The detection of *Toxoplasma gondii* by comparing cytology, histopathology, bioassay in mice, and the polymerase chain reaction (PCR).** Veterinary Parasitology, v.97, p.191-198, 2001.

SPEER CA, DUBEY JP, MCALLISTER MM, BLIXT JA. **Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*.** International Journal for Parasitology, v.29, p.1509-1519, 1999.

**ESTUDO RESTROSPECTIVO DAS CAUSAS DE MORTES CANINAS EM
LABORATÓRIO PRIVADO - RJ**

**RETROSPECTIVE STUDY OF CAUSES OF DEATH IN DOGS IN PRIVATE
LABORATORY - RJ**

Roberta Salim Menezes¹, Simone Neves de Campos¹, Ana Maria Reis Ferreira², Elan
Cardozo Paes de Almeida³

1. Médica Veterinária – Laboratório Anatomopatológico Veterinário Diagnovet - Rio de Janeiro, RJ, Brasil. E-mail: diagnovet@diagnovetrj.com.br

2. Professora, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil.

3. Professora, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal Fluminense, Nova Friburgo, RJ, Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: causas de morte, doenças de cães, maus-tratos, medicina veterinária legal.

ABSTRACT

In order to evaluate the canine causes of death, this work conducted a retrospective study using the necropsy files of a private anatomopathological laboratory in Rio de Janeiro between January 2004 and the first trimester of 2011. During that period, 86 canines necropsy was done. It was observed that female puppies were more sent to *post mortem* exam. English bulldog was the prevalent breed. The case distribution in relation to the disease categories diagnosed was as follows: endotoxic shock (22,1%), poisonings and toxoinfections (20,8%), Infectious and parasitic diseases (20,8%), neoplasm (12,9%), others cases (10,4%), degenerative diseases (7,8%), trauma (3,9%), and nutritional disorders (1,3%). In 6 cases, evidences were not enough for a complete diagnosis and in 3 cases autolysis turn the analysis impossible.

KEYWORDS: causes of death, canine disease, abuse, legal veterinary medicine

INTRODUÇÃO

Nos dias de hoje os animais de estimação, em especial cães e gatos, representam uma companhia para muitas pessoas podendo contribuir com o desenvolvimento físico, social e emocional das crianças e com o bem-estar de seus proprietários (BERZINS, 2000). Os cães são vistos muitas vezes como membros importantes em muitas famílias e não mais como simples animais domésticos (FIGHERA, 2008). Esta aproximação afetiva entre os cães e o homem fez com que houvesse um aumento na quantidade de atendimentos clínicos e exames

laboratoriais, o que conseqüentemente refletiu no aumento do número de necropsias realizadas (FIGHERA, 2008). As necropsias são importantes para determinar eventos não esclarecidos ou duvidosos no óbito, desta forma compreendendo melhor a doença e as circunstâncias da morte (FACO, et al., 2005), confirmando, refutando, esclarecendo, modificando ou estabelecendo o diagnóstico (PEIXOTO & BARROS, 1998).

Na literatura nacional existem alguns estudos de maus tratos, entre eles intoxicação exógena e traumas como causas do óbito (BRURINI et al, 2003; MARIA et al, 2010; MARLET & MAIORKA, 2010;). Outros estudos, são relacionados a levantamentos de causas da morte em Estados, como em São Paulo (BENTUBO et al, 2007), Rio Grande do Sul (FIGHERA et al, 2008) e Paraná (TRAPP et al, 2010). Baseado na falta de informações sobre mortalidade de cães submetidos a necropsias no Estado do Rio de Janeiro, o objetivo deste trabalho foi analisar os protocolos de necropsias caninas realizadas em um laboratório particular durante o período de janeiro de 2004 ao primeiro semestre de 2011, a fim de estabelecer a prevalência das doenças ou distúrbios que culminaram com o óbito dos animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um levantamento retrospectivo de todas as necropsias, em um laboratório anatomopatológico veterinário privado no Estado do Rio de Janeiro, no período compreendido entre janeiro de 2004 e o primeiro semestre de 2011. Destas, foram selecionados os casos de necropsias em cães. Os dados foram compilados, verificando a prevalência quanto ao sexo, raça, idade e diagnóstico da *causa mortis*. Os diagnósticos foram obtidos de acordo com as alterações macroscópicas e microscópicas, associadas ao histórico clínico, permitindo, assim, a obtenção de apenas um diagnóstico definitivo, mesmo quando da existência de diferentes processos patológicos associados, semelhante trabalhos nacionais já realizados (FIGHERA et al., 2008; TRAPP, et al., 2010).

Os diagnósticos obtidos foram divididos em processos infecciosos e parasitários, choque endotóxico, intoxicação exógena, neoplasias, doenças nutricionais, doenças degenerativas, traumas e outros. Os casos onde não foi possível correlacionar os achados anatomopatológicos, devido a falta de histórico clínico, foram classificados como inconclusivos. Outro fator relevante no diagnóstico foi a autólise observada em alguns dos casos, o que impossibilitou a análise do material e a elaboração de um diagnóstico conclusivo.

Nos caninos pesquisados dados sobre raça, sexo, idade e estado de conservação foram analisados. Com relação a idade foi subdividido em 05 grupos etários: filhotes (até um ano de idade), jovens (a partir de um ano até cinco anos), adultos (a partir de cinco anos e até dez anos), idosos (acima de dez anos) e os de idade não identificada.

RESULTADOS

Neste estudo retrospectivo foram realizadas 86 necropsias em cães, 58,1% (50/86) eram machos e 41,9% (36/86) fêmeas. Com relação à idade 38,4% (33/86) foram incluídos na faixa etária até 1 ano; 24,4% (21/86) de 1,1 a 5 anos; 20,9% (18/86) de 5,1 a 10 anos; 9,3% (8/86) acima de 10,1 anos e 7,0% (6/86) com idade indeterminada. Trinta e duas raças diferentes foram encontradas, sendo a mais freqüente o Bulldog inglês (15,1% - 13/86), seguido de Rottweiler (6,9% - 6/86), Shih-tzu (6,9% - 6/86), SRD (6,9% - 6/86), Labrador (5,8% - 5/86), Schnauzer (5,8% - 5/86), Golden Retriever (4,7% - 4/86), Pastor Alemão (4,7% - 4/86) e Yorkshire (4,7% - 4/86). As demais raças obtiveram três ou menos indivíduos totalizando 33 cães (38,4%).

Das 86 necropsias avaliadas, em 77 (89,5%) foi possível estabelecer a causa do óbito, sendo denominados conclusivos. Estes casos foram distribuídos em ordem decrescente de prevalência da seguinte forma: choque endotóxico 22,1% (17/77); intoxicações 20,8% (16/77); doenças infecciosas e parasitárias 20,8% (16/77); neoplasias 12,9% (10/77); outros fatores 10,4% (8/77); doenças degenerativas 7,8% (6/77); trauma 3,9% (3/77) e doença nutricional 1,3% (1/77). Em seis casos (6,9%) as evidências necroscópicas foram insuficientes para estabelecer um diagnóstico definitivo e em três (3,4%), o acentuado estado de autólise impossibilitou a análise.

DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou que, nos casos conclusivos, o choque endotóxico foi o principal responsável pelo óbito dos cães, correspondendo a 22,1% (17/77). A maioria destes animais possuíam até 4 meses de idade (8/17), estas lesões podem estar relacionadas a infecção transplacentária (FOSTER, 2009); três destes animais possuíam peritonite provocada por úlcera gastroduodenal perfurada eram animais jovens (1 a 5 anos). Os três animais mais idosos (acima de 10 anos) apresentaram septicemia relacionada a endocardite, mastite e prostatite.

As intoxicações 20,8% (16/77) e doenças infecciosas e parasitárias 20,8% (16/77) corresponderam a segunda maior causa de óbito. Estes dados divergem dos resultados da literatura internacional, que relaciona neoplasias malignas como as principais causas de óbito natural ou como razão para eutanásia (MOORE et al, 2001; CRAIG, et al, 2001; BONNETT et al, 2005 *apud* TRAPP, 2010). Em relatos nacionais (BENTUBO et al., 2007; FIGHERA, et al, 2008; TRAPP et al, 2010), as doenças infecciosas ou parasitárias são as principais causas da morte e podem estar relacionadas as condições de higiene, a baixa adesão aos programas de vacinação e vermifugação e a negligência dos proprietários.

Diferente dos estudos realizados em hospitais veterinários universitários (BENTUBO et al., 2007; FIGHERA, et al, 2008; TRAPP et al, 2010), a investigação do motivo do óbito em laboratórios particulares frequentemente estão relacionadas a maus-tratos sofridos pelos animais, principalmente aqueles causados por intoxicação exógena intencional e/ou acidental ou aos procedimentos de profissionais veterinários com divergências de diagnósticos, suspeita de imperícia, imprudência ou negligência.

As neoplasias corresponderam a 12,9%, semelhante aos resultados observados por Bentubo (2007) e Fighera (2008), porém inferior aos encontrados nos Estados Unidos 18,3% a 39,5% (MOORE et al, 2001 e CRAIG, 2001 *apud* FIGHERA, 2008) e Europa 16,0% a 18,0% (BONNETT et al, 1997, 2005 *apud* FIGHERA, 2008), o que pode estar relacionado a menor expectativa de vida dos cães em nosso país (BENTUBO et al, 2007).

CONCLUSÕES

As principais causas em mortes em cães são choque endotóxico, intoxicações exógenas e doenças infecciosas e parasitárias indicando, que a procura de necropsia para elucidação de óbitos caninos em laboratório particular, pode estar relacionado à confirmação de maus-tratos, principalmente por intoxicações exógenas ou por suspeitas de imperícia, imprudência ou negligência.

REFERÊNCIAS

- BENTUBO, H.D.L.; TOMAZ, M.A.; BONDAN, E.F.; et al. Expectativa de vida e causas de morte em cães na área metropolitana de São Paulo (Brasil). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n.4, p.1021-1026, 2007.
- BERZINS, M.A.V.S. **Velhos, cães e gatos: interpretação de uma relação**. 2000. 132f. Dissertação (Mestrado em Gerontologia) – Curso de Pós-graduação em Gerontologia, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo.
- BURINI, C.H.P; LAUFER AMORIM, R.; VASSILIEFF, I. et al. Estudo retrospectivo de envenenamentos intencionais em gatos da região de Botucatu, estado de São Paulo. **Anais do XI Encontro Nacional de Patologia Veterinária (ENAPAVE)**, Botucatu, 2003.
- FACO, M.M.; NUKUMIZU, L.A.; MORAES, A.J.P. et al. Avaliação dos óbitos e necropsias em pacientes internados em um Serviço de Reumatologia Pediátrica por um período de dez anos. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v.45, n.2, p. 66-74, 2005.
- FIGHERA, R.A.; SOUZA, T.M.; SILVA, M.C. et al. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965-2004). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.28, n.4, p. 223-230, 2008.
- MARIA, A.C.B.E.; REGO, A.A.M.S.; MAIORKA, P.C. Principais alterações encontradas em necropsias de cães e gatos que vieram a óbito durante procedimentos em *petshops* e similares. **Anais da Semana Científica Benjamin Eurico Malecelli**, São Paulo, v.4, p.3-4, 2010.
- MARLET, E.F.; MAIORKA, P.C. Análise retrospectiva de casos de maus tratos contra cães e gatos na cidade de São Paulo. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v.47, n.5, p.385-394, 2010.
- PEIXOTO, P.V.; BARROS, C.S.L. A importância da necropsia em medicina veterinária. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.18, n.3-4, 1998.
- TRAPP, S.M.; IACUZIO, A.I.; BARCA-JÚNIOR, F.A. et al. Causas de óbito e razões para eutanásia em uma população hospitalar de cães e gatos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.47, n.5, p.395-402, 2010.

PROLIFERAÇÃO, ANGIOGÊNESE E APOPTOSE EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO DOS OVÁRIOS DE TILÁPIA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) DE CATIVEIRO

PROLIFERATION, ANGIOGENESIS AND APOPTOSIS AT DIFFERENT STAGES OF OVARIAN MATURATION OF TILAPIA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) FROM CAPTIVITY

Fernanda Caroline dos Santos¹, Juneo Freitas Silva², Sílvia da Silva Santos¹, Edgar de Alencar Teixeira³, Eduardo Maldonado Turra³, Ernane Fagundes do Nascimento³, Rogéria Serakides³, Natália de Melo Ocarino^{3*}

1- Graduanda em Biologia, ICB/UFG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

2- Doutorando, Escola de Veterinária da UFG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

3- Professor (a), Escola de Veterinária da UFG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

*E-mail: nataliaocarino@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: peixe, gônada, imunohistoquímica, Tunel

ABSTRACT

Proliferative, angiogenic and apoptotic activities at different stages of ovarian maturation were studied in tilapias with 50g, 150g and 350g. The CDC47, VEGF, Flk-1, angiopoetin, Tie-2 and Tunel expression were analyzed. The CDC47, VEGF and Flk-1 expression were observed in the follicular cells and the expression increased with the maturity of the oocyte. However the VEGF expression was more intense in the oocyte with cortical vesicle. The angiopoetin expression was discrete in isolated theca cells in the oocyte with cortical vesicle and vitellogenic oocyte. The Tie 2, expression was observed in follicular and theca cells in the oocyte with cortical vesicle and vitellogenic oocyte. The apoptotic bodies were observed in follicular cells of the atresic vitellogenic oocyte and postovulatory follicles in the ovaries of tilapias of 150g and 350g. In conclusion, in the tilapias ovaries, the proliferative, angiogenic and apoptotic activities increase with follicular maturation.

KEYWORDS: fish, gonad, immunohistochemistry, Tunel

INTRODUÇÃO

O interesse na introdução de espécies nativas na prática da aquicultura vem crescendo entre os aquicultores. Entretanto, várias espécies de peixes migratórios, que possuem alto

valor zootécnico não se reproduzem espontaneamente em cativeiro o que tem limitado a prática do cultivo destes animais (SANTOS et al., 2008). Ao contrário, a tilápia é uma espécie altamente prolífera em cativeiro, mas as características morfo-funcionais de seus ovários são pouco estudadas. O conhecimento dessa morfofisiologia é de suma importância para o estabelecimento de uma comparação com o ovário de espécies migratórias, o que favoreceria o desenvolvimento de técnicas reprodutivas que permitiriam a maturação gonadal e a indução da desova, de forma mais eficaz, de espécies reofílicas em cativeiro, o que tornaria o cultivo dessas espécies viável. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar as atividades proliferativa, angiogênica e apoptótica em diferentes estádios de maturação dos ovários de tilápia (*oreochromis niloticus*) de cativeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 17 tilápias com pesos de 50g, 150g e 350g. Os animais foram divididos em 3 grupos a partir do peso: grupo 1: 6 animais de 50g, grupo 2: 5 animais de 150g e grupo 3: 6 animais de 350g. A faixa de peso foi escolhida para proporcionar a avaliação de ovócitos em vários estádios de desenvolvimento. Os animais foram eutanasiados e fragmentos dos ovários foram fixados em Bouin e corados pela hematoxilina e eosina para análise morfológica. Fragmentos fixados em paraformaldeído 4% foram analisados pela técnica de imunistoquímica e Tunel. À análise morfológica, o estágio de maturidade dos ovócitos foi determinado de acordo com a classificação preconizada por CREPALDI et al., 2006. Para avaliação imunistoquímica foi empregada a técnica de estreptoavidina-biotina-peroxidase utilizando os seguintes anticorpos com suas respectivas diluições: anti-Flk-1 (1:700); anti-angiopoetina (1:30); anti-Tie-2 (1:100); anti-CDC-47 (1:100) e anti-VEGF (1:400). Para a técnica de Tunel foi utilizado o kit *Fragel DNA Fragmentation Detection Kit – TdTEnzyme* com cromógeno do tipo DAB e contra-coloração com Methyl Green.

RESULTADOS

À análise morfológica, em cada grupo experimental, os ovócitos foram classificados como: ovócitos jovens (O1) caracterizados por citoplasma fortemente basófilo e com núcleo grande central com nucléolos periféricos; ovócitos pré-vitelogênicos (O2) caracterizados por citoplasma basófilo finamente granular, núcleo grande vesiculoso, células foliculares pavimentosas e núcleo vitelínico; ovócitos com vesícula cortical (O3) caracterizados por ooplasma com muitas vesículas acidófilas de vitelo, núcleo menor com nucléolos periféricos,

células foliculares cuboidais e membrana vitelínica espessa; ovócitos vitelogênicos (O4) caracterizados por ooplasma com grande quantidade de glóbulos de vitelo fortemente acidófilos, núcleo menor que nos estádios anteriores e nucléolos distribuídos aleatoriamente, além de células foliculares prismáticas e membrana vitelínica delgada; folículo pós-ovulatório caracterizado pela saída do ovócito, permanecendo no local somente as células da teca e células foliculares hipertrofiadas e folículos atrésicos caracterizados pela ruptura da membrana vitelina e pela liquefação do vitelo.

As Tilápias de 50g apresentaram ovários com predomínio de ovócitos jovens e pré vitelogênicos. No entanto, nas tilápias de 150g observaram-se ovócitos em vários estádios de maturação, mas com predomínio de ovócitos com vesícula cortical e ovócitos vitelogênicos. Os ovários das tilápias com 350g apresentaram predomínio de ovócitos vitelogênicos e de folículos pós-ovulatórios e alguns folículos atrésicos.

À imunohistoquímica, a expressão nuclear de CDC47 aumentou com o estágio de maturação do ovócito e foi observada na camada de células foliculares. A expressão de VEGF e seu receptor Flk-1 também foi observada nas células foliculares e a expressão de ambos aumentou com a maturidade do ovócito sendo mais intensa nos ovócitos com vesícula cortical, onde a expressão foi tanto nuclear quanto citoplasmática. Interessantemente, a expressão de VEGF diminuiu nos ovócitos vitelogênicos, onde a expressão foi somente citoplasmática. A expressão de angiopoetina foi discreta e observada em algumas células da camada da teca de ovócitos com vesícula cortical e vitelogênicos. Já a expressão do seu receptor, Tie 2, foi observada nas células foliculares e da teca dos ovócitos com vesícula cortical e nas células foliculares dos ovócitos vitelogênicos.

Pela técnica de Tunel observaram-se corpos apoptóticos em células foliculares de ovócitos vitelogênicos atrésicos e em folículos pós ovulatórios nos ovários de tilápias de 150g e 350g de peso vivo.

DISCUSSÃO

As mudanças morfofuncionais que ocorrem nos ovários durante a maturação, envolvem um número complexo de processos celulares que incluem proliferação, diferenciação, angiogênese e apoptose (SIMPSON et al., 2001). A expressão de CDC47 nas células foliculares aumentou com a maturidade do ovócito, o que indica maior atividade proliferativa destas células uma vez que o desenvolvimento folicular se caracteriza por altas taxas de proliferação. A presença de corpos apoptóticos observados somente em ovócitos

vitelogenicos atrésicos provavelmente foi devida a ausência de fatores de sobrevivência dos ovócitos fazendo com que houvesse ativação das vias de apoptose endógenas (QUIRK et al., 2004) levando a atresia do ovócito. Entretanto, corpos apoptóticos também foram observados em células tecais e foliculares do folículo pós-ovulatório.

O VEGF e as angiopoetinas são os principais fatores angiogênicos produzidos em ovários (ROBINSON et al., 2009) e essas proteínas exercem suas funções por meio de receptores tirosina-quinase denominados Flk-1 e Tie-2, respectivamente (SHIBUYA, 2008). A maior expressão de VEGF e seu receptor nos ovócitos mais maduros provavelmente se deve ao fato do VEGF controlar a angiogênese que é um fenômeno importante no processo de extrusão do ovócito além de aumentar a permeabilidade vascular o que poderia favorecer a viabilidade do vitelo.

CONCLUSÃO

Em ovários de tilápia (*Oreochromis niloticus*), as atividades proliferativa, angiogênica e apoptótica, aumentam com a maturação folicular.

AGRADECIMENTOS

Programa Institucional de Auxílio à Pesquisa de Doutores Recém-Contratados da PRPq/UFGM, CNPq e FAPEMIG

REFERÊNCIAS

- CREPALDI, D.V.; FARIA, P.M.C.; TEIXEIRA, E.A.; RIBEIRO, L.P.; COSTA, A.A.P.; MELO, D.C.; CINTRA, A.P.R.; PRADO, S.A.; COSTA, F.A.; DRUMOND, M.L.; LOPES, V.E.; MORAES, V.E. Biologia reprodutiva do surubim (*Pseudoplatystomuscoruscans*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.30, n.3/4,p.159-167.
- ROBINSON, R.S.; WOAD, K.J.; HAMMOND, A.J.; LAIRD, M.; HUNTER, M.G.; MANN, G.E. Angiogenesis and vascular function in the ovary. **Reproduction**, v.138, p.869–881, 2009.
- SANTOS, J. E.; PADILHA, G.E.V.; BOMCOMPAGNI-JUNIOR, O.; SANTOS, G.B.; RIZZO, E.; BAZZOLI, N. Ovarian follicle atresia is mediated by heterophagy, autophagy, andapoptosis in *ochilodusargenteus*and*Lepronustaeniatus* (Teleostei: Characiformes). **Theriogenology**, v. 70, p. 1449-1460, 2008.
- SHIBUYA, M. Vascular endothelial growth factor-dependent and -independent regulation of angiogenesis. **BMB Reports**, v. 41, p. 278-286, 2008.
- SIMPSON, K.S.; BYERS, M.J.; CURRY J.R., T.E. Spatiotemporal Messenger Ribonucleic Acid Expression of Ovarian Tissue Inhibitors of Metalloproteinases throughout the Rat Estrous Cycle. **Endocrinology**. v. 142, p. 2058-2069, 2001.
- QUIRK, S.M.; COWAN, R. G.; HARMAN, R. M.; HU, C.L.; PORTER, D. A. Ovarian follicular growth and atresia: The relationship between cell proliferation and survival. **Journal Animal Science**, v.. 82, p. E40-E52, 2004.

**LEISHMANIOSE CUTÂNEA EM PORQUINHOS-DA-ÍNDIA (*Cavia porcellus*) –
RELATO DE CASO**

CUTANEOUS LEISHMANIASIS IN GUINEA PIGS (*Cavia porcellus*) – CASE REPORT

Vanessa Borelli¹, Érika Zanoni Cury¹, Valeska Regina Reque Ruiz¹, Mauro Müller
Cwiertnia¹, Joelma Ferreira Nunes³, Rogério Pereira dos Santos³

1. Professores do curso de Medicina Veterinária, Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais (CESCAGE), Ponta Grossa, Paraná, Brasil. e-mail: vaneborellivet@hotmail.com

2. Graduandos de Medicina Veterinária, Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais (CESCAGE), Ponta Grossa, Paraná, Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: *Leishmania* sp, protozoário, Patologia Animal.

ABSTRACT

The study aimed to report two cases of cutaneous leishmaniasis in guinea pigs (*Cavia porcellus*), originated from Irati - PR. The service was conducted at the Veterinary Hospital CESCAGE. Animals showed in both ears multiple coalescent nodules with rough appearance, soft consistency, dark red color and in some nodules, central ulceration. It was also observed in one of the animals, a single nodule on the dorsal region of the metacarpal right forelimb. Were performed smears, using peripheral blood, and skin biopsy from the tip of the ear. The microscopy of blood smears and histopathology revealed large amounts amastigotes forms in the cytoplasm of macrophages, suggestive of *Leishmania* sp. In nodules in auricular guinea pig, although nonspecific lesions, one should take into account the possibility of the disease. To this end, smear of peripheral blood and histopathological examination proved to be important diagnostic tools.

KEYWORDS: *Leishmania* sp, protozoan, Animal Patology.

INTRODUÇÃO

A Leishmaniose em humanos e animais é causada por um protozoário do gênero *Leishmania*, o qual possui uma gama de espécies e subespécies com diferentes distribuições geográficas e moléstias distintas (JONES et al., 2000). A transmissão do protozoário ocorre pela picada do mosquito dos gêneros *Lutzomyia* spp e *Phlebotomus* spp, principalmente em

animais criados ao ar livre e no período do verão, quando os mosquitos encontram-se ativos (LAISON, 1997).

No novo mundo são conhecidas 20 espécies de *Leishmania*, destas 14 são zoonoses (LAINSON & SHAW, 1978). Dentre as espécies ainda não diagnosticadas no homem, destaca-se a *L. Enrriet*, identificada em cobaias de porquinhos-da-índia (*Cavia porcellus*), a qual é responsável pela forma cutânea localizada na região auricular dessa espécie (MACHADO et al, 1994). No Brasil, casos espontâneos em cobaias de *Cavia porcellus* foram descritos nos estados do Paraná e São Paulo por Machado et al. (1994) e no Rio Grande do Sul por Ecco (2000). Já a reprodução experimental foi descrita por Medina (2001).

As principais lesões se caracterizam por aumento de volume do pavilhão auricular e nódulos na região da orelha com crostas, alopecia, ulceração central e crescimento rápido (MACHADO et al., 1994; ECCO, 2000). Pele do escroto espessa, irregular e de difícil cicatrização, também foi observada por Ecco (2000). Medina (2001), avaliando a evolução da lesão cutânea da doença em cobaias de *Cavia porcellus*, classificou em quatro fases inflamatórias distintas: aguda, granulomatosa, tuberculóide e macrofágica. Na microscopia, observa-se infiltrado de macrófagos, plasmócitos, linfócitos e, em alguns casos, células gigantes e presença de macrófagos parasitóforos contendo formas amastigotas, sugestivas de *Leishmania* sp (MACHADO et al., 1994; ECCO et al., 2000). No diagnóstico diferencial, devem ser considerados histoplasmose, toxoplasmose, blastomicose e tripanossomíase (JONES et al., 2000).

Objetivo do trabalho foi descrever os aspectos clínicos e achados microscópicos da Leishmaniose cutânea em dois porquinhos-da-índia, procedentes do município de Irati - PR.

MATERIAL E MÉTODOS

Dois porquinhos-da-índia, fêmeas, criados como animais de estimação no município de Irati - PR, foram atendidos no serviço de clínica médica de animais não convencionais do Hospital Veterinário do CESCAGE, localizado no município de Ponta Grossa – PR, no mês de maio de 2011. Os animais apresentavam lesões nodulares na região auricular, com histórico de tratamentos prévios sem apresentarem melhora e com evolução rápida de aproximadamente 15 dias.

Os animais foram submetidos ao exame físico, esfregaço de sangue periférico e biópsia de pele na extremidade da orelha. As lâminas do esfregaço foram fixadas em metanol

e coradas pelo método Panótico. As amostras coletadas para exame histopatológico foram fixadas em solução de formalina a 10% por 72 horas, processadas rotineiramente, coradas com Hematoxilina e Eosina (HE) e observadas em microscopia óptica.

RESULTADOS

Os animais apresentavam-se ativos no exame físico e os valores de temperatura, frequência respiratória e cardíaca estavam dentro dos padrões normais para a espécie. As lesões na pele eram semelhantes nos dois animais e localizavam-se principalmente na região auricular, as quais se caracterizavam por nódulos multifocais a coalescente em ambas as orelhas, aspecto irregular, consistência amolecida, coloração vermelha escura e, em alguns nódulos, ulceração central. Também foi observado em um dos animais um nódulo focal na região do metacarpo do membro torácico direito.

Na microscopia do esfregaço sanguíneo, foi observada grande quantidade de estruturas compatíveis com as formas amastigotas da *Leishmania* sp, no meio externo e no citoplasma de macrófagos. No exame histopatológico da pele, foi observado infiltrado inflamatório mononuclear severo composto por linfócitos, plasmócitos e macrófagos associado à presença de inúmeras estruturas ovóides basofílicas no interior de macrófagos compatíveis com as formas amastigota *Leishmania* sp, observou-se também estas formas amastigotas no meio extracelular.

DISCUSSÃO

As lesões nodulares observadas, na região auricular nos porquinhos-da-índia, foram semelhantes às descritas por MACHADO et al. (1994) e ECCO et al. (2000), porem neste relato, também foi observado em um dos animais, um nódulo na região do metacarpo do membro torácico. Segundo MEDINA (2001), as lesões ocorrem devido a um tropismo marcado para a pele, onde, principalmente nas extremidades tegumentares e regiões periartríticas, produz lesões tumorais infiltrativas.

Ambos os animais apresentaram no esfregaço de sangue periférico, grande quantidade de formas amastigotas da *Leishmania* sp no interior de macrófagos. Segundo IKEDA et al. (2003), em cães estes achados são ocasionais e raros, tendo como justificava uma baixa carga parasitaria circulante.

As lesões histopatológicas foram compatíveis com as descrições de ECCO (2000). Segundo a evolução da lesão cutânea proposta por MEDINA (2001), foi observada a fase macrofágica. No presente estudo, não foi isolada a espécie da *Leishmania*. Porém outros relatos, como o de MACHADO et al. (1994), identificaram a *L. enrietti* como sendo o agente etiológico causador de lesões cutâneas em porquinhos-da-índia.

O diagnóstico sugestivo de Leishmaniose cutânea em porquinhos-da-índia (*Cavia porcellus*) foi realizado através dos sinais clínicos, esfregaço de sangue periférico e lesões histopatológicas.

CONCLUSÕES

A doença se caracterizou, por formações de nódulos de evolução rápida, localizadas principalmente na região auricular, podendo também, ser encontrada em outros locais como nas extremidades de membros.

A presença de nódulos na região auricular em porquinhos-da-índia são lesões inespecíficas, porém deve-se incluir a leishmaniose cutânea como possibilidade no diagnóstico clínico.

A realização do esfregaço de sangue periférico e o exame histopatológico mostraram-se importantes ferramentas diagnósticas na detecção do protozoário, os quais possibilitaram um diagnóstico rápido, auxiliando na conduta clínica.

REFERÊNCIAS

- ECCO R.; LANGHR. I.M.; SCHOSSLER J.E.W.; BARROS S.S.; BARROS C.S.L. Leishmaniose cutânea em cabaias (*Cavia porcellus*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 3, p. 525-528, 2000.
- IKEDA, F. A.; CIARLINI, P. C.; FEITOSA, M.M.; GONÇALVEZ, M. E.; LUVIZZOTTO, M. R. C.; LIMA, F.V.M. Perfil hematológico de cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi* no município de Araçatuba-SP: um estudo retrospectivo de 191 casos. **Clínica Veterinária** n.47, p42-8, 2003.
- JONES, T.C; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Patologia Veterinária**, 6ªed., São Paulo, Manole Ltda, p. 599-600. 2000
- LAISON, R. On *Leishmania enriettii* and Other Enigmatic *Leishmania* Species of the Neotropics. **Mem. Instituto Oswaldo Cruz**, v.92, n.3, p. 377-387, 1997.
- LAINSON, R.; SHAW, J.J. Epidemiology and ecology of leishmaniasis in Latin America. **Nature London**, 237: 595-600. 1978.
- MACHADO, M. I., MILDRE, R. V.; PACHECO, R. S.; SILVA, M.; BRAGA, R. R.; LAISON, R. Naturally acquired infections with *Leishmania enriettii* Muniz and Medina 1948 in guinea-pigs from São Paulo, Brazil. **Parasitology**: v.109, p.135-138, 1994.
- MEDINA H. Estudos Sobre Leishmaniose: I. Primeiros Casos de Leishmaniose Espontânea Observados em Cobaias 1946. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 1 p. 13 – 55, 2001.

SÍNDROME DE BANDAS AMNIÓTICAS EM CÃO

AMNIOTIC BAND SYNDROME IN PUPPY

Teresa de J Oviedo Socarrás¹, Irma X. Barbosa Sanchez², Misael E. Oviedo Pastrana³.

1. Departamento de Patologia Geral/Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. FMVZ – Universidad de Córdoba, Montería, Colômbia. E-mail: tere_oviedo@yahoo.com.

2. Departamento de Patologia Geral/Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. FMVZ Universidad del Tolima, Ibagué – Colômbia.

3. Médico Veterinário Zootecnista, Candidato a M. Sc. Ciências Ambientais, Universidad de Córdoba, Montería, Colômbia.

PALAVRAS-CHAVE: Malformação, abdominosquise, amputação, cão.

ABSTRACT

Amniotic band syndrome is a complex congenital anomaly. Its etiology is related to premature rupture of amnion and formation of fibrous bands that attach and compress parts of the fetus. The typical presentation consists of constriction ring of the limbs, asymmetrical digital amputations and pseudosyndactily. However, it has been described facial abnormalities and defects of thoracoabdominal wall. This case reports a stillborn dog with abdominoschisis, exposition of liver, stomach and intestines, absence of forelimbs and a constriction ring around the chest with fibrous bands. Anatomical changes observed in the present study are compatible with the diagnosis of amniotic band syndrome, and is possibly the first case reported in domestic animals.

KEYWORDS: Malformation, abdominoschisis, amputation, dog.

INTRODUÇÃO

A etiologia da maioria dos defeitos de desenvolvimento não é compreendida plenamente, no entanto, sabe-se que a exposição pré-natal a alguns produtos químicos como chumbo, mercúrio, bifenilos policlorados pode resultar em este tipo de alterações. Em humanos cerca de 3% de todos os defeitos de desenvolvimento são atribuíveis à exposição da mãe a substâncias químicas e agentes físicos, incluindo fatores ambientais. Estima-se que um 25% de todos os defeitos do desenvolvimento podem originar-se de causas multifatoriais resultantes da exposição dos indivíduos geneticamente predispostos a diversos fatores, principalmente ambientais (por exemplo, hipertermia, radiação ultravioleta, raios-X, infecções, deficiências e excessos nutricionais) (CAVIERES, 2010; NRC, 2000).

Defeitos, malformações e anomalias congênitos são termos usados para descrever alterações do desenvolvimento presentes ao nascimento que acometem os órgãos e/ou sistemas, parcial ou totalmente (ROTTA et al., 2008). Apresentam-se com distribuição mundial (PIMENTEL et al., 2007) sendo que a grande maioria dessas alterações ocorre esporadicamente, no entanto podem acontecer surtos associados a agentes infecciosos, tóxicos ou apresentando etiologia múltipla (KIRKBRIDE, 1992; BARR E ANDERSON, 1993).

A síndrome de bandas amnióticas é um complexo de anomalias congênitas originadas por alteração do processo de desenvolvimento originariamente normal. A etiologia mais aceita, embora não completamente esclarecida, é a ruptura prematura do âmnio sem injúria da membrana coriônica com formação de bandas que se aderem e comprimem partes do feto (RIVAS-LÓPEZ et al., 2005). A apresentação mais típica consiste em anéis de constrição em membros, amputações digitais assimétricas e pseudosindactilia. No entanto, têm sido descritas alterações faciais e defeitos da parede toraco-abdominal. O prognóstico da alteração encontra-se em relação com o tempo de gestação em que ocorre a alteração e a severidade das anomalias. A presença de bandas fibrosas de origem corioamniótico na placenta é o elemento comum que permite agrupar estas anomalias com o termo de síndrome de bandas amnióticas (BIBAS et al., 2002).

RELATO DO CASO

Cão proveniente da coleção de teratologias da FMVZ, Universidade de Córdoba – Colômbia, em cujos antecedentes se reporta como natimorto de sexo masculino, mãe sem raça definida, sem relato de doença infecciosa recente, nem exposição pré-natal a agentes teratogênicos ou história de malformações congênitas em partos anteriores. Também não há anotações sobre o estado da placenta ao momento do parto. Ao exame anatômico do animal observou-se defeito na parede abdominal de 4x3 cm (abdominosquise) que compromete desde a pélvis até o esterno com exposição do fígado, estômago e intestinos. Desde as bordas do defeito desprende-se uma membrana contínua, semitransparente e flexível. Observou-se no feto ausência dos membros anteriores além de um evidente e profundo anel de constrição que se estendia ao redor do tórax com presença de folhas aderidas à pele compatíveis com bandas amnióticas.

RESULTADOS

As alterações anatômicas de origem congênita observadas no feto em estudo, e especialmente o evidente anel de constrição localizado ao redor do tórax acompanhado de folhas de bandas amnióticas ainda aderidas à pele, são compatíveis com o diagnóstico de síndrome de bandas amnióticas.

DISCUSSÃO

Na literatura consultada não se encontraram reportes da síndrome de bandas amnióticas em animais, no entanto, experimentalmente ROWSELL (1988) e SOLDADO et al. (2006) simularam o efeito das bandas amnióticas em fetos de ratos e ovelhas respectivamente, demonstrando o desenvolvimento de anéis de constrição leve, moderada e severa dos membros.

Todas as alterações observadas neste caso são explicáveis baseadas na teoria de TORPIN (1965) conhecida também como teoria exógena, a qual atribui a síndrome à ruptura prematura do âmnio como evento precipitante sem alteração no córion (CHANDRAN et al., 2000).

A ruptura do âmnio permite a passagem de líquido à interfase âmnio-coriônica e o embrião fica exposto à superfície interna da cavidade coriônica estimulando a proliferação de bandas mesenquimatosas aderentes. Estas bandas amnióticas podem aderir-se à superfície do embrião estrangulando as estruturas anatômicas fetais, provocando compressão e em alguns casos isquemia e necrose (SIFAKIS, et al., 2008). Se a estrutura fetal encontra-se em desenvolvimento o resultado é a amputação do órgão, no entanto, ocorre um anel de constrição se o órgão já estiver formado. Os defeitos de solução de continuidade como o defeito na parede abdominal estariam relacionados com abrasões da pele pela aderência das bandas amnióticas. (TORPIN, 1965, DA SILVA et al., 2008, RIVAS-LÓPEZ et al., 2005).

CONCLUSÕES

Uma vez que a consequência da ruptura prematura do âmnio pode assumir muitas formas, o diagnóstico da síndrome de bridas amnióticas deve ser levado em consideração em qualquer neonato que tenha defeitos estruturais, principalmente aqueles relacionados com anéis de constrição e/ou outras lesões compatíveis com interrupção do desenvolvimento. Este tipo de lesões deve alertar, sempre que possível, para realizar uma análise aprofundada da placenta, a fim de confirmar o diagnóstico.

AGRADECIMENTOS

FMVZ – Universidad de Córdoba, Colômbia, FAPEMIG, Capes.

REFERÊNCIAS

- BARR, B. C.; ANDERSON, M. L. **Infectious disease causing bovine abortion and fetal loss**. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, Philadelphia, v. 9, p. 343- 368, 1993.
- BIBAS, B. H.; ATAR, M. F.; Espíndola, E. M, Síndrome de bridas amnióticas, **Archivos Argentinos de Pediatría**, Buenos Aires, v. 100, n. 3, 240 - 4, 2002.
- CAVIERES, F. M. F. Exposición a pesticidas y toxicidad reproductiva y del desarrollo en humanos. Análisis de la evidencia epidemiológica y experimental, **Revista Virtual REDESMA**, La Paz, v. 4, n. 1, 2010.
- CHANDRAN, S.; LIM, M.K.; YU, V.Y. Fetal acalvaria with amniotic band syndrome. **Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition**, London, v. 82, n. 1 p. 11-3, 2000.
- DA SILVA, G.; CAMMARATA-SCALISI, F.; GONZÁLEZ-COIRA, M.; LACRUZ, M. A.; RENDON, B. Síndrome de bridas amnióticas, a propósito de 3 casos clínicos. **Revista chilena de pediatría**, Santiago, v. 79, n. 2. P. 172-180, 2008.
- KIRKBRIDE, C. A. Etiologic agents detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 4, n. 2, p. 175-180, 1992.
- NRC, National Research Council. **Scientific Frontiers in Developmental Toxicology and Risk Assessment**. National Academy Press, Washington, 2000.
- PIMENTEL, L. A.; CORREA, F. R.; GARDNER, D.; PANTER, K. E.; DANTAS, A. F.; MEDEIROS, R. M.; MOTA, R.A.; ARAÚJO, J.A. Mimososa tenuiflora as a cause of malformations in ruminants in the Northeastern Brazilian semiarid rangelands. **Veterinary Pathology**, Washington, v. 44, n. 6, p. 928-931, 2007.
- RIVAS-LÓPEZ, R.; JUÁREZ-AZPILCUETA, A.; ISLAS, D. L.; DURÁN, P. M. A.; OVIEDO, R. I. Síndrome de bandas amnióticas asociado a secuencia Potter. Un caso de autopsia. **Revista Mexicana de Pediatría**, v. 72, n. 2, p. 78-81, 2005.
- ROTTA, I. T.; TORRES, M. B. A. M.; MOTTA, R. G. Diprosopia em bovino. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 2, p. 489-491, 2008.
- ROWSELL, A. R. The amniotic band disruption complex. The pathogenesis of congenital limb ring-constrictions; an experimental study in the foetal rat. **British Journal of Plastic Surgery**, Edinburgh, v. 41, n. 1, p. 45-51, 1988.
- SIFAKIS S, MANTAS N, KONSTANTINIDOU A, KOUKOURA O, AVGOUSTINAKIS E, KOUMANTAKIS E. A stillborn fetus with amniotic band syndrome and elevated levels of alpha-fetoprotein plus beta-human chorionic gonadotropin: a case report, **Fetal Diagnosis and Therapy**, Switzerland, v. 24, n. 2, p. 111-114, 2008.
- SOLDADO, F.; PEIRÓ, J. L.; AGUIRRE, M.; MOLL, X.; GARCÍA-FONTECHA, C.; GINÉ, C.; MARTÍNEZ-IBÁÑEZ, V. Extremity amniotic band syndrome in fetal lamb. I: An experimental model of limb amputation. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, St. Louis, v. 195, n. 6, p. 1607-10, 2006.
- TORPIN R. Amniochorionic mesoblastic fibrous strings and amniotic bands: associated constricting fetal malformations or fetal death. **American journal of obstetrics and gynecology**, St. Louis, v. 91: 65-75, 1965.

UTILIZAÇÃO DE CASOS CLÍNICOS E IMAGENS NO APRENDIZADO DE PATOLOGIA GERAL

THE USAGE OF CLINICAL CASES AND IMAGES IN LEARNING PATHOLOGY

Elan Cardozo Paes de Almeida¹, Virgínia Carvalho de Paula²

1. Professora Adjunto, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal Fluminense (UFF), Nova Friburgo, RJ, Brasil. E-mail: elancardozo@gmail.com

2. Graduanda em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal Fluminense (UFF), Nova Friburgo, RJ, Brasil

PALAVRAS-CHAVE: educação em patologia, ensino-aprendizagem, modelos educacionais.

ABSTRACT

The teaching of general pathology has a fundamental role in training medical professionals, as it is the main link between the basic sciences and clinical practice, as well as a reference for basic research. Several teaching-learning methods are used with the planning of the discipline. One of these methods is the discussion of clinical cases through weekly performed tutorials, planned according to the syllabus of the course and the topics addressed in the classroom, seeking thereby to apply practical and theoretical concepts in general pathology. Questions related to the topics discussed in the previous lectures and prepared and sent to the students by email. The students are exposed to the issues by oral presentations performed by trainees, and the questions that arise are discussed with the teacher in charge of discipline, that can verify the points of the syllabus that needs to be strengthen. Therefore, the method is a useful tool for improving the approach of the subjects. Combining the presentation of the subject with the search for cases solution, makes the learning process more efficient and encourages independence and self-education of the students.

KEYWORDS: educational models, pathology education, teaching-learning.

INTRODUÇÃO

A disciplina de Patologia Geral tem como objetivo promover aos alunos do ciclo básico, conceitos dos diversos processos patológicos que servirão de base para o bom entendimento das disciplinas do ciclo profissional, sendo utilizada como um elo entre as Ciências Básicas e a prática clínica, além de ser referência fundamental para a pesquisa básica (NEVES et al., 2008; ATHANAZIO et al., 2009). A patologia abrange o estudo dos mecanismos das doenças (Fisiopatologia) e das alterações morfológicas em órgãos e tecidos

(Anatomia Patológica) (BRASILEIRO FILHO, 2009; KUMAR et al., 2008). Tradicionalmente, a divisão do ensino da Patologia é feita em Patologia Geral e Patologia Especial. A Patologia Geral estuda os aspectos comuns à diferentes doenças referindo às suas etiologias, patogêneses, lesões estruturais e alterações funcionais, e por isso faz parte do currículo de todos os cursos das áreas de Ciências Biológicas e da Saúde (BRASILEIRO FILHO, 2009). O emprego de novas ferramentas de ensino auxilia a auto-instrução do aluno no conteúdo teórico, de forma que a incorporação de métodos didático-pedagógicos de apoio ao aprendizado devem ser estimulados (OKANE & TAKAHASHI, 2006; NEVES et al., 2008; ATHANAZIO et al., 2009; CEZAR et al., 2010; COSTA et al., 2011). Vários destes métodos têm sido utilizados atualmente, tais como estudos dirigidos (OKANE & TAKAHASHI, 2006), aprendizagem baseada em problemas (COSTA et al., 2011) e mídia eletrônica (CD-ROM, páginas na internet), a qual oferece a vantagem de permitir o acesso a uma maior quantidade de imagens que os livros-textos, além de estimular a auto-instrução e o estudo extraclasse (ATHANAZIO et al., 2009). Estas metodologias ativas são caracterizadas por colocar o estudante no centro do processo de ensino-aprendizagem, tornando-o construtor do seu próprio conhecimento (CEZAR et al., 2010).

Com objetivo de aplicar e avaliar uma metodologia complementar de ensino em Patologia Geral foram realizados estudos dirigidos com discussão de casos clínicos, associados à utilização de imagens microscópicas em turmas dos cursos de Odontologia e Biomedicina da Universidade Federal Fluminense – UFF, no Pólo Universitário de Nova Friburgo - RJ.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante três semestres seguidos no curso de Odontologia (primeiro e segundo semestre de 2010 e primeiro semestre de 2011) e um semestre no curso de Biomedicina (2011) foram elaboradas perguntas em formato de casos clínicos, relacionados aos tópicos do conteúdo programático da disciplina de Patologia Geral. Os estudos de casos clínicos, abordando temas das aulas, foram disponibilizados semanalmente para os alunos por *e-mail*.

O monitor da disciplina de Patologia Geral foi responsável por solucionar as questões e montar uma apresentação para os alunos com a orientação da docente. As questões foram discutidas com os alunos mediante a apresentação oral e exposição do monitor, e as dúvidas que surgiram foram discutidas conjuntamente com a docente responsável pela disciplina a fim de verificar os pontos de reforço do conteúdo programático.

Buscando adicionar outro recurso didático, foi elaborado um banco de imagens microscópicas dos processos patológicos, relacionando-os aos estudos dirigidos. As imagens digitais foram capturadas pela docente responsável e pela monitora da disciplina, a partir de lâminas histopatológicas, utilizando-se microscópio óptico em diferentes aumentos. As áreas mais características de cada processo patológico foram selecionadas, aprimoradas por recurso do programa *Photoshop*, sendo adicionados os respectivos textos explicativos contendo as descrições morfológicas das lesões.

A avaliação da metodologia utilizada foi realizada levando-se em consideração o índice de aprovação na disciplina obtido durante os semestres nos quais esta metodologia foi aplicada.

RESULTADOS

Nas turmas dos cursos de Odontologia e Biomedicina houve um bom índice de participação dos alunos nos estudos dirigidos, auxiliando na melhoria da abordagem do conteúdo em sala de aula e na auto-instrução do conteúdo teórico. Esta observação refletiu-se no índice de aprovação da disciplina. Nas turmas de Odontologia, durante o primeiro semestre de 2010, a aprovação foi de 96,5% (56/57) dos alunos, no segundo semestre de 2010 de 100% (61/61) e no primeiro semestre de 2011 de 92,9% (53/57). Na turma do curso de Biomedicina, durante o primeiro semestre de 2011, o resultado foi semelhante, com índice de aprovação de 90% (18/20).

DISCUSSÃO

O estudo dirigido é um método de ensino utilizado para tornar o educando independente do professor, orientando-o para estudos futuros (OKANE & TAKAHASHI, 2006). Com esta metodologia houve a consolidação dos conhecimentos de Patologia Geral por meio de uma combinação da explicação da docente com exercícios e a busca da solução dos problemas propostos de forma criativa e independente pelos alunos, o que foi corroborado pelo alto índice de aprovação na disciplina.

Durante a aplicação dos estudos dirigidos, a motivação do debate sobre relatos de casos clínicos baseados no conteúdo programático estimulou os alunos à discussão, tornando o processo de ensino-aprendizagem mais dinâmico, e os induzindo ao raciocínio na busca de soluções para os temas abordados (OKANE & TAKAHASHI, 2006; MELO-JÚNIOR, et al, 2007; CEZAR et al., 2010; COSTA et al., 2011).

CONCLUSÕES

Associando as metodologias de ensino aplicadas, estudos dirigidos com discussão de casos clínicos relacionados com imagens microscópicas de processos patológicos, conseguiu-se o envolvimento do monitor no processo de ensino-aprendizagem, a consolidação dos conhecimentos por meio de uma explicação do tema e a busca da resolução dos casos pelos alunos de forma independente, incentivando a sua auto-instrução. Desta forma, o educando passa a ter um papel participativo, construindo seu conhecimento com auxílio do docente.

REFERÊNCIAS

- ATHANASIO, D. A.; NEVES, F. B. C. S.; BÔAVENTURA, C. S.; ATHANAZIO, P. R. F. O ensino de Patologia nas escolas médicas está em crise? Uma revisão sobre a experiência internacional. **Revista Brasileira de Educação Médica**, v. 33, n. 1, p. 49-54, 2009.
- BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo: Patologia Geral**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 1-5. 2009.
- CEZAR, P. H. N.; GUIMARÃES, F. T.; GOMES, A. P.; RÔÇAS, G.; SIQUEIRA-BATISTA, R. Transição paradigmática na educação médica: um olhar construtivista dirigido à aprendizagem baseada em problemas. **Revista Brasileira de Educação Médica**, v. 34, n. 2, p. 208-303, 2010.
- KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. **Robbins & Cotran: Bases Patológicas das Doenças**. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 1-32. 2008.
- MELO-JUNIOR, M. R.; ARAÚJO-FILHO, J. L. S.; PATU, V. J. R. M.; MACHADO, M. C. F. DE .P.; PONTES-FILHO, N. T. Integrando o ensino da patologia às novas competências educacionais. **Ciências & Cognição**, v. 12, p. 110-114, 2007.
- NEVES, F. B. C. S.; BÔAVENTURA, C. S.; BITENCOURT, A. G. V.; ATHANAZIO, D. A.; REIS, M. G. Impacto da introdução de mídia eletrônica num curso de patologia geral. **Revista Brasileira de Educação Médica**, v. 32, n. 4, p. 431-436, 2008.
- OKANE, E. S. H.; TAKAHASHI, R. T. O estudo dirigido como estratégia de ensino da educação profissional em enfermagem. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 40, n. 2, p. 160-169, 2006.

INFECÇÃO POR LEPTOSPIRAS EM SUÍNOS E EM TRABALHADORES DE ABATEDOUROS DAS CIDADES DE TERESINA-PI E TIMON-MA
LEPTOSPIRA INFECTION IN SWINE AND IN SLAUGHTERHOUSES WORKERS IN THE CITIES OF TERESINA-PI AND TIMON-MA

João Paulo Alves de Sousa¹, Fernanda Leitão dos Reis¹, Micherlene da Silva Carneiro¹,
Ângela Piauilino Campos², Larissa Maria Feitosa Gonçalves², Geórgia Brenda Barros Alves²,
Regina Wédna Rodrigues Morais³, Francisco Assis Lima Costa⁴

1. Graduando em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil. E-mail: assiralm@gmail.com.

2. Pós-Graduanda em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil.

3. Enfermeira.

4. Professor do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: leptospira, sorologia, patologia.

ABSTRACT

Leptospira in swine is characterized by occurrence of reproductive disorders, being considered an occupational disease for men. The aim of this study was to evaluate the alterations caused by Leptospira infection in swine, as well as the potential of such to act as a source of infection for slaughterhouses' workers in the cities of Teresina-PI e Timon-MA. Blood, kidney, lung, uterus and ovary samples from 100 pigs, were collected in clandestine slaughterhouses, as well as 5 mL of blood from 51 workers who participated of slaughters or took care of these animals, for the realization of Polymerase Chain Reaction (PCR). For the histopathological analysis kidney, lung, uterus and ovaries samples from 10 pigs were used. From these, five animals had negative serology, which constituted the control group and five had positive serology. The histopathological exam revealed diffuse lymphocytic inflammatory infiltrate in the uterus of four animals. The histopathological lesions observed in ovaries from four animals were characterized by focal mononuclear inflammatory cell infiltrate. The polymerase chain reaction performed on human blood did not detect DNA of *Leptospira*.

KEYWORDS: leptospira, serology, pathology.

INTRODUÇÃO

As leptospiroses constituem um grupo importante de zoonoses de ampla difusão em todo o mundo (PLANK & DEAN, 2000). São causadas por bactérias da ordem Spirochaetales e gênero *Leptospira* (COSTA, 1995; FARR, 1995).

A leptospirose em suínos caracteriza-se pela ocorrência de transtornos reprodutivos, como abortamento no terço final da gestação. Em casos graves, a leptospirose é uma doença febril multissistêmica, principalmente com insuficiência hepática, renal e envolvimento pulmonar (LEVETT, 2001).

As leptospiroses são consideradas, também, doenças de natureza ocupacional. Desse modo, o homem que lida diretamente com as criações pode ser infectado a partir do contato direto com animais doentes ou portadores, ocorrendo mais freqüentemente em veterinários, granjeiros e magarefes. Além destas categorias profissionais, os plantadores de cana-de-açúcar, os trabalhadores de arrozais, os mineiros e os lixeiros estão sob risco de exposição (GENOVEZ, 2007).

O objetivo desse trabalho é avaliar as alterações provocadas pela infecção leptospirósica em alguns órgãos de suínos, bem como, o potencial dos mesmos como fonte de infecção para os trabalhadores de abatedouros dos municípios de Teresina-PI e Timon-MA.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas amostras de sangue de 100 suínos, abatidos clandestinamente nas cidades de Teresina-PI e Timon-MA, para diagnóstico de leptospirose pela Prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM), bem como rim, pulmão, útero e ovário para Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR), respectivamente, bem como 5 mL de sangue de 51 trabalhadores que participavam do abate ou cuidavam desses animais. Os locais das colheitas foram abatedouros clandestinos sem condições higiênico-sanitárias adequadas. Os animais soro-reagentes e negativos para *Leptospira* spp. e os trabalhadores foram objetos do estudo.

A colheita de sangue dos trabalhadores dos abatedouros foi realizada duas horas antes do abate dos animais, assepticamente, utilizando tubos a vácuo e agulhas descartáveis, um com EDTA, para Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) e outro sem EDTA, para a realização da prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM).

RESULTADOS

Das 100 amostras de soro de suínos analisadas pela prova de SAM, apenas 5% reagiram para um ou mais sorovares de *Leptospira* spp.

Dos cinco animais soropositivos, todos apresentaram alterações túbulo-intersticiais. Nefrite intersticial foi observada em todos os animais soropositivos, caracterizada pela presença predominante de linfócitos e macrófagos.

Ao exame histopatológico dos pulmões, tanto os animais soropositivos, quanto os soronegativos, foi observado em todos os lobos, infiltrado inflamatório de macrófagos e linfócitos. No útero de quatro animais havia infiltrado inflamatório difuso linfoplasmocitário e em ovários o infiltrado tinha distribuição focal.

A reação em cadeia pela polimerase, realizada em sangue humano, revelou resultado negativo para detecção de DNA.

DISCUSSÃO

Todos os animais soropositivos apresentaram nefrite intersticial, sendo que a lesão localizava-se, principalmente na região cortical. Estudos mostraram que o local preferencial da lesão renal na leptospirose é no espaço túbulo-intersticial, principalmente nos túbulos proximais, locais onde a *Leptospira* fica aderida e libera toxinas, que danificam as células epiteliais (ALVES et al., 1987).

No histopatológico dos pulmões, o infiltrado localizava-se nas regiões peribronquial, peribronquiolar e era de intensidade maior nos animais soropositivos quando comparados aos animais soronegativos (teste de Mann-Whitney, $p = 0,0017$). No exame histopatológico do útero observou-se que era de intensidade variável de localização periglandular e perivascular, glândulas endometriais com epitélio tumefeito e vacuolizado. Reação inflamatória, como a observada neste estudo foi observada por outros autores (BATISTA, 2006; MINEIRO, 2007). As lesões histopatológicas observadas em ovários neste estudo foram relatadas em bovinos (MINEIRO, 2007).

O diagnóstico de leptospirose em amostras de soros humanos ainda não foi realizado; portanto, ainda não sabemos se existe correlação entre a infecção suína e humana. Este fato decorreu da impossibilidade da análise dos soros humanos no laboratório onde foi realizada a sorologia dos animais. Em função dessa limitação, tivemos que enviar o soro para um laboratório de referência, autorizado a realizar diagnóstico de leptospirose humana (Instituto Adolfo Lutz) encontrando-se em fase de análise.

A técnica de PCR inicialmente foi negativa, mas está em processo de padronização para possamos apresentar um resultado mais definitivo.

CONCLUSÕES

A infecção por *Leptospira* spp. em suínos, está presente em animais de Teresina-PI e Timon-MA, já em humanos, pela Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), não revelou

nenhum caso positivo. A reação inflamatória em ovário e útero de suínos infectados por *Leptospira* spp. é discreta.

REFERÊNCIAS

- ALVES, V. A.; VIANNA, M. R.; YASUDA, P. H.; DE BRITO, P. Detection of leptospiral antigen in the human liver and kidney using an immunoperoxidase staining procedure. **Journal of Pathology**, v. 151, p. 125-131, 1987.
- COSTA, E. O. Leptospirose. Abortamentos Infeciosos de Bovinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, p.71-79, 1995.
- FARR, R. W. Leptospirosis. **Clin. Infect. Diseases**, v. 21, p. 1-8, 1995.
- GENOVEZ, M. E. **Leptospirose: uma doença além da época das chuvas!** 2007. Artigo em Hypertexto. Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2007_1/leptospirose/index.htm. Acesso em: 14/1/2009.
- LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clin Microbiol Rev**, v. 14, p. 296-326, 2001.
- MINEIRO, A. L. B. B. et al. Infecção por leptospira em bovinos e sua associação com transtornos reprodutivos e condições climáticas. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 5, p. 1103-1109, 2007.
- PLANK, R.; DEAN, D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. In humans. **Microbes and Infection**, v. 2, p. 1265-1276, 2000.

ALTERAÇÕES MACROSCÓPICAS ENCONTRADAS EM ÓRGÃOS DE BOVINOS ABATIDOS EM FRIGORÍFICO NA REGIÃO SUL DO PARÁ
CATTLE ORGANS CHANGES FOUND IN SLAUGHTERED AT SLAUGHTERHOUSE IN THE SOUTHERN OF PARA

Bruno Marcell Paiva Costa¹, Leonardo de Sousa Pereira², Karynne Castilho Pimenta², Nadia Regina Stefanine¹, Geneíldes Cristina de Jesus Santos¹, Adriano Tony Ramos³, Silvia Minharro Barbosa³, Jorge Luís Ferreira³

¹Mestrandos do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal Tropical, Universidade Federal do Tocantins, Campus de Araguaína. Araguaína, Tocantins, Brasil. (brunocosta_medvet@hotmail.com)

²Acadêmicos de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Tocantins, Campus de Araguaína. Araguaína, Tocantins, Brasil.

³Doutores. Professores Universidade Federal do Tocantins, Campus de Araguaína. Araguaína, Tocantins, Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: Inspeção, saúde pública, condenação de vísceras, bovinos abatidos.

ABSTRACT

The objective was to quantify the most frequent causes of condemnation viscera in a slaughterhouse located in the south of Pará State, under the Federal Inspection Service. Data analysis reveals that tecnopatias (contamination) showed important condemnation in the viscera and organs in the south of Pará. Classification of diseases most frequently found were: infectious (12.76%), parasitic (19.14%), undefined (3.54%), idiopathic (63.12%), metabolic (0.23%) and circulatory changes (1.18%). The liver was main organ condemned.

KEYWORDS: Inspection, public health, condemnation of viscera, slaughter cattle.

INTRODUÇÃO

A produção de carne faz parte de um mercado capitalista que visa lucros sendo atividade de destaque no cenário econômico nacional e internacional, em que o Brasil é o maior exportador de carne bovina do mundo, detentor de 32% das exportações mundiais (IBGE, 2010). Da mesma forma, cresce as exportações de miúdos pelo Brasil, tendo a chance de atender um mercado em que gosto diferente é sinônimo de lucro. Segundo dados da Associação Brasileira da Indústria Exportadora de Carne (ABIEC), em 2008, foram exportados 84.570 toneladas de miúdos, que renderam R\$ 313 milhões aos frigoríficos, sendo assim, de interesse dos empresários do ramo aproveitar melhor os subprodutos.

No cerne dos problemas sanitários encontrados na inspeção de miúdos estão à falta de uma real implementação das Boas Práticas Agropecuárias no campo, com controle das

principais doenças que acometem os animais, comprometendo vísceras e levando ao descarte. Outro ponto importante são as tecnopatias, dentre elas, a contaminação das vísceras durante a linha de abate, gerando assim, descarte de vísceras. Nesse contexto, o Serviço de Inspeção Federal (SIF) além da grande importância que representa como órgão fiscalizador, em relação à saúde pública é, sem dúvida, aquele no qual se pode projetar, através de seus relatórios, estudos epidemiológicos regionais e nacionais. O presente trabalho teve como objetivo quantificar as causas mais freqüentes de condenações de vísceras em frigorífico localizado na região sul do Estado do Pará, sob regime do Serviço de Inspeção Federal.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dados foram compilados junto ao SIF de frigorífico exportador da região sul do Estado do Pará, através de mapas estatísticos de registro do número diário de animais abatidos e rejeição de órgãos de bovinos, no período de abril a maio de 2011. Para análise dos dados, as alterações foram agrupadas segundo sua provável causa em origem infecciosa, parasitária, indefinidas e idiopáticas, metabólicas e alterações circulatórias. A classificação das alterações em causa infecciosa resultou de alteração específica, como por exemplo, abscesso, da forma de reação, e presença de exsudato/infiltrado de origem desconhecida. As parasitárias decorreram da presença do parasito, do órgão acometido e reação. Já as alterações indefinidas e idiopáticas foram com base nas infinitas causas que poderiam resultar a alteração. As causas metabólicas e circulatórias decorreram principalmente de alterações na assimilação e/ou desassimilação de substâncias e, que afetam o aparelho cardiovascular. Os dados foram submetidos à estatística descritiva, sendo apresentados na forma de médias e percentuais através de planilha Excel.

RESULTADOS

As principais vísceras/órgãos que apresentaram alterações foram cabeça, Língua, Coração, Rins, Intestinos, Cauda e Fígado, perfazendo um total de 588 condenações. A Tabela 1 apresenta a freqüência e distribuição das condenações durante o período de coleta em frigorífico da região sul do Pará. A análise dos dados revela que as tecnopatias (contaminações) apresentaram contribuição importante nas condenações de vísceras e órgãos na região sul do Pará.

Tabela 1. Freqüência e distribuição das alterações em vísceras e órgãos, em frigorífico da região sul do Pará, 2011.

Órgão/Víscera	Número	Tecnopatias	Doenças
Cabeça	87	13,1% (77/588)	1,70% (10/588)
Língua	22	3,74% (22/588)	-
Coração	18	1,19% (07/588)	1,87% (11/588)
Rins	206	0,34% (02/588)	34,70% (204/588)
Intestino	95	2,38% (14/588)	13,78% (81/588)
Cauda	33	5,61% (33/588)	-
Bucho	02	0,34% (02/588)	-

Fígado	125	1,36% (08/588)	19,90% (117/588)
TOTAL	588	28,06% (165/588)	71,95% (423/588)

As doenças foram definidas a partir de seus efeitos observáveis, baseado na macroanatomopatologia, (JONES;HUNT;KING, 2000). As doenças encontradas com maior frequência foram agrupadas segundo sua causa em: Infecciosas – representando 12,76% (54/423) das causas, onde os principais órgãos acometidos foram fígado (22/54), coração (11/54), rins (11/54) e cabeça (10/54); Parasitária que representou 19,14%, onde o principal órgão acometido foi o intestino (81/423); Indefinidas, representando 3,54%, onde o principal órgão acometido foi o fígado (15/54); Idiopáticas, representando 63,12%, sendo o fígado (79/423), rins (147/423) os principais órgãos acometidos; Metabólicas, representando 0,23%, com o fígado (1/423) o mais atingido; e Alterações Circulatórias, representando 1,18%, em que o principal órgão acometido foi os rins (6/423). A Tabela 2 apresenta a distribuição e frequência das patologias (causas de condenação) nos respectivos órgãos, em frigorífico da região sul do Pará, sob inspeção federal.

Tabela 2. Frequência das causas de condenação em órgãos/vísceras de bovinos, em frigorífico da região sul do Pará, sob inspeção federal, 2011.

Causas Infecciosa e Parasitária		
Fígado	Abscessos	33,33%
	Peri-hepatite	7,41%
Coração	Pericardite	20,37%
Rins	Nefrite	20,37%
Cabeça	Actinomicose	18,52%
Intestino	Esofagostomose	100%
Causas Indefinida, Idiopática e Metabólica		
Fígado	Cirrose	100%
Fígado	Telangiectasia	29,58%
Rins	Uronefroze	55,05%
Fígado	Esteatose	15,35%
Alterações circulatórias		
Rins	Isquemia	80%
	Congestão	20%

DISCUSSÃO

A análise dos resultados demonstra que muitas das causas de condenações de vísceras e órgãos deve-se ao fato de erros durante o processo de abate (pré e pós *mortem*) demonstrando que em muitos casos pode-se atribuir tal fato, à falta de treinamento dos funcionários bem como, erros ou descasos nos processos de autocontrole das indústrias frigoríficas. A contaminação de carcaças, vísceras ou qualquer outra porção destinadas a fins comestíveis pode ocorrer em qualquer etapa do processo de abate. GIOTTO et al (2007) afirmam que dentre todas as condenações, os maiores problemas encontrados são as

condenações por tecnopatias (contaminação e contusão/fratura), as quais são responsáveis por maior parte das perdas econômicas, principalmente nas condenações parciais. Esta situação também é evidenciada nos principais achados do S.I.F. em diversos abatedouros do Brasil nos anos de 2003, 2004 e 2005, em que estas foram as principais causas de condenações nos abatedouros de aves (ARMENDARIS, 2006). Parelalamente, outro fato que vem contribuir para afirmação é devido aos órgãos que sofreram condenações como língua, cauda, cabeça e bucho, o que mostra deficiência na linha de produção.

Da mesma forma que se tem deficiências nos processos das linhas de abate, observou-se que a maioria das doenças que acometeram os animais foi decorrente de falhas nos manejos de uma forma geral, uma vez que as possíveis causas podem ser decorrentes de falhas nos manejos sanitário e alimentar. Em relação às doenças as que mais causaram danos foram as de causas idiopáticas, com maior comprometimento dos rins e fígado, com presença de Telangiectasia e Uronofrose, corroborando aos resultados reportados por Mello et al. (2006). As doenças de causas indefinidas, circulatórias e metabólicas tiveram uma menor ocorrência, porém merecem importância, pois acomete vísceras de valor econômico, especialmente o fígado.

CONCLUSÃO

Em decorrência da falta de estudos, e período e espaço amostral, esse trabalho poderá se constituir em uma referência importante para futuros estudos sobre causas e ocorrências das patologias em vísceras e órgãos de bovinos abatidos em matadouros-frigoríficos da região sul do Pará. No entanto, faz-se necessário treinamento adequado de funcionários das indústrias frigoríficas, bem como maior atenção dos produtores para o manejo sanitário e alimentar dos rebanhos da região.

REFERÊNCIAS

- ARMENDARIS, P. Abate de aves – Dados de condenações – Serviço de Inspeção Federal. IN: **Anais...**Simpósio de sanidade avícola. 2006, Santa Maria, RS, Brasil. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=publicacoes&cod_publicacao=880>. Acesso em: 04/07/2011. 2006.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE – ABIEC. Estatísticas. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/estatísticas>. acesso em 04/07/2011.
- GIOTTO, D.B.; ZIMERMANN, C. F.; CESCO, M.A.O.; BORGES FORTES, F.B.; PINHEIRO, D.; HILLER, C.C.; HERPICH, J.; MEDINA, M.; RODRIGUES, E.; SALLE, C.T.P.1; Impacto Econômico de Condenações Post Mortem de Frangos de Corte em um Matadouro-Frigorífico na Região Sul do Brasil. **Anais...** CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/combravet2008/resumos/r0701-2.pdf>> Acesso em: 04/07/2011, 2008.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Censo Agropecuário**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/servidor_arquivos_est/>. Acesso em: 04/07/2011. 2010.
- JONES, T.C.; HUNT, T.C. & KING, N.W. **Patologia Veterinária**, 6 ed. , Manole, 358p, 2000.
- MELLO, C.A.; CHAGAS, M.T.C.; TADEU. M.; prevalência de condenações de miúdos de bovinos em um matadouro-frigorífico sob serviço de inspeção federal localizado no estado de Mato Grosso. Cuiabá, **Anais...** CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, Cuiabá, MT, CD-ROOM. 2006.

**FILME À BASE DE QUITOSANA NA PREVENÇÃO DE ADERÊNCIAS
INTESTINAIS PÓS-CIRÚRGICAS EM COELHOS**

FILM BASED CHITOSAN IN THE PREVENTION OF POST-SURGICAL INTESTINAL
ADHESIONS IN RABBITS

Ygor Roberto de Carvalho¹, Luiz Henrique da Silva¹, Neusa Margarida Paulo², Veridiana
Maria Brianezi Dignani de Moura²

1. Mestrando em Ciência Animal na área de Patologia, clínica e cirurgia, bolsista CAPES-EVZ/UFG
2. Professora doutora do Departamento de Medicina Veterinária-EVZ/UFG.

PALAVRAS-CHAVE: aderências, materiais biocompatíveis, peritônio, quitosana.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate chitosan-based film as a barrier in the formation of postoperative intestinal adhesions in rabbits. For this, we used 30 cleft Adult male New Zealand breed, weighing three pounds and clinically healthy, 15 of whom underwent enterotomy (control group) and 15 overlapping the enterotomy and the film based on chitosan incision on the intestinal (treatment group). Five animals from each group were evaluated at seven, 14 and 21 days postoperatively, when she performed the microscopic enteroraphy site. In the histopathological evaluation, there was a significant difference ($p \leq 0.05$) among the subgroup C7, where 80% of the samples the score was considered strong, and T7 that 80% of the samples was considered a moderate score on the concentration of fibroblasts and angiogenesis. In relation to the variable necrosis, this was observed in 40% of samples and 0% T7 C7 is therefore statistically different ($p \leq 0.05$).

KEYWORDS: adhesions, biocompatible materials, chitosan, peritoneum

INTRODUÇÃO

As aderências são uma das mais graves complicações das intervenções cirúrgicas abdominais, podendo resultar em processos obstrutivos. ERGUL & KORUKLUOGLU (2008) citam que em 1872 foi descrito por Thomas Bryant um caso de obstrução intestinal causada por aderências intra-abdominais após remoção de um tumor ovariano, o que reforça a preocupação ao longo de várias décadas quanto aos métodos de prevenção destes processos. Ainda segundo estes mesmos autores as aderências peritoneais são o resultado de uma resposta bioquímica e celular que ocorre numa tentativa de reparar o peritônio, sendo, portanto benéficas como parte do processo cicatricial.

Biomateriais que atuam como sistema de barreira não devem favorecer a aderência sobre suas superfícies e têm como principal função a proteção física das serosas. Eles precisam ser de fácil aplicação tanto por via laparoscópica quanto por meio de procedimentos

cirúrgicos abertos. Prover cobertura de todo o peritônio injuriado, permanecendo efetivo durante toda a cicatrização é também desejável. Assim, para o bom desempenho dos biomateriais, características como flexibilidade, resistência mecânica e permeabilidade são fundamentais (DALLAN, 2005). A quitosana é um polímero natural, amplamente distribuído na natureza e obtido pela desacetilação da quitina proveniente da carapaça de crustáceos, apresentando reconhecidas propriedades antimicrobiana (bactericida, bacteriostática, fungicida e fungistática) e cicatrizante (CRAVEIRO & CRAVEIRO, 2000).

Neste estudo avaliou-se um sistema de barreira para prevenção de aderências intestinais, usando um filme à base de quitosana, cujas propriedades benéficas vêm sendo exploradas em diversas frentes terapêuticas, observando as alterações histológicas apresentadas com e sem o filme à base de quitosana.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Setor de Cirurgia Experimental da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, com aprovação do CEPA-UFG (Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da UFG) N° 066/2008, utilizando-se 30 coelhos jovens, machos, da raça Nova Zelândia, clinicamente saudáveis e com peso médio de 3,2Kg.

Os animais foram divididos em dois grupos: A) controle - 15 animais submetidos à enterotomia e enterorrafia e B) tratamento - 15 animais submetidos à enterotomia e enterorrafia, seguidas do recobrimento do sítio cirúrgico intestinal por um filme à base de quitosana. Cada grupo experimental foi ainda dividido em três subgrupos de cinco animais cada, conforme o período pós-operatório para a realização da eutanásia em câmara de CO₂, sendo: C7 – controle sete dias; T7 – tratamento sete dias; C14 – controle quatorze dias; T14 – tratamento quatorze dias; C21 – controle vinte e um dias e T21 – tratamento vinte e um dias.

Os coelhos dos grupos controle e tratamento foram submetidos à laparotomia mediana retro-umbilical, seguindo-se uma enterotomia de aproximadamente três centímetros de extensão no segmento ceco-cólico, com padrão de enterorrafia em pontos simples separados, utilizando-se fio poliglecaprone 5-0. Nos animais do grupo tratamento, sobre o sítio da enterorrafia fixou-se, por meio de quatro pontos simples separados e com o mesmo tipo de fio supracitado, um filme à base de quitosana, previamente hidratado em solução de soro fisiológico 0,9% e medindo 4X2 cm².

Após a eutanásia dos animais, para a avaliação microscópica, foram colhidos fragmentos do sítio cirúrgico intestinal dos animais de ambos os grupos, sendo esses fixados em formol tamponado a 10%, processados e incluídos em parafina. Na sequência, foram

confeccionados cortes de 4 μ m, distendidos sobre lâminas histológicas e corados com Hematoxilina e Eosina (HE), para posterior análise em microscópio óptico. Na análise histopatológica foram considerados heterófilos, eosinófilos, células mononucleares, células multinucleares, fibroblastos e angiogênese e extensão de necrose, segundo critérios adaptados de GIANLUPI & TRINDADE (2004). As variáveis do exame histopatológico foram classificadas de acordo com os escores ausente, discreto, moderado e acentuado. Os resultados da avaliação microscópica foram avaliados com os testes de qui-quadrado e exato de Fisher, sendo que valores de $p \leq 0,05$ foram considerados significantes.

RESULTADOS

Não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre os subgrupos C7 e T7 quanto aos valores dos heterófilos, eosinófilos, infiltrado de células gigantes (CG) e células mononucleares. Contudo, quanto à variável fibroblastos e angiogênese constatou-se diferença entre esses subgrupos, já que em 80% das amostras de C7 o escore foi acentuado e em 80% de T7 o escore foi moderado. No que diz respeito à variável necrose, esta foi observada logo acima do peritônio visceral no sítio da enterorrafia e englobando o filme à base de quitosana, sendo caracterizada por massa eosinofílica amorfa com restos celulares e, por vezes, acompanhada por grupamentos bacterianos. Esse material foi observado em quantidade acentuada em 40% das amostras do subgrupo T7.

DISCUSSÃO

As alterações microscópicas verificadas no subgrupo T14, caracterizadas particularmente pela presença de heterófilos, não está de acordo com as observações de ROBBINS & COTRAN (2005), pois, para estes autores, neste momento da cicatrização já não se esperaria encontrar grandes quantidades de heterófilos, visto que estas células alcançam seu pico máximo em até 24 horas e, após 48 horas, tendem ao declínio. Em lagomorfos, a persistência dessas células talvez possa ter suporte nas observações de REDROBE (2002), de que os coelhos rapidamente produzem resposta inflamatória a corpos estranhos, sendo as mesmas mantidas até as fases mais tardias da reação tissular. A elevação da concentração de heterófilos pode ainda ser creditada à capacidade da quitosana de acelerar a infiltração de PMN e de outras substâncias que promovem a migração celular local no sítio de uma ferida, o que é importante para a organização celular conforme sugerem UENO et al. (2001).

Sabe-se que o eosinófilo participa de reações imunes mediadas por IgE (hipersensibilidade tipo I) e infecções parasitárias, tornando-se especialmente numeroso em

casos de reações do tipo anticorpo/antígeno (BANKS, 1991). Assim, a diferença encontrada quanto à quantidade de eosinófilos entre os subgrupos C14 e T14 pode ser atribuída à reação do tipo corpo estranho ou anticorpo/antígeno. Já, segundo afirmações de FUDGE (2000), o coelho pode apresentar discreto a moderado aumento de eosinófilos durante a reparação de feridas sendo, portanto, uma característica desta espécie.

YEO & KOHANE (2009), afirmam que a quitosana aumenta a função de algumas células inflamatórias (e.g. células mononucleares) e a fagocitose, estimulando a expressão de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-1, TGF- β , promovendo dessa forma a granulação e a organização tecidual. Ainda, o filme à base de quitosana exerce resultados mais eficientes quando utilizados em casos de aderências peritonias infecção-induzidas. A concentração significativamente acentuada de células mononucleares encontrada no subgrupo T21 localizava-se na periferia dos focos de peritonite (sítio da enterorragia revestido com o filme à base de quitosana). Por tratar-se de um processo inflamatório crônico com 21 dias de curso, o aumento da concentração destas células no subgrupo T21 pode estar associado à presença do foco de peritonite e também à já conhecida atividade quimiotática da quitosana sobre células como linfócitos, monócitos e macrófagos.

CONCLUSÃO

O filme à base de quitosana, quando sobreposto a uma ferida intestinal em coelhos induz a resposta tissular com formação de material caseoso.

REFERÊNCIAS

- ERGUL, E.; KORUKLUOGLU, B.; Peritoneal Adhesions: Facing the enemy. **International Journal of Surgery**. New York, v.6, p. 253-260, 2008.
- CRAVEIRO, A. A. e CRAVEIRO, A. C. **Membrana de quitina e quitosana para utilização em regeneração de tecidos e cicatrizações**, Patente brasileira, PI 9805480-5^a, 12/09/2000.
- DALLAN, P. R. M. **Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração de pele**, 2005. 194p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-São Paulo.
- GIANLUPI, A.; TINDADE, M. R. M. Comparação entre o uso de fio inabsorvível (polipropileno) e fio absorvível (poliglactina 910) na fixação de prótese de polipropileno em correção de defeitos músculo-aponeuróticos da parede abdominal. Estudo experimental em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 94-102, 2004.
- REDROBE, S.; Soft tissue surgery of rabbits and rodents. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, Bristol, UK, v. 11, n. 4, p. 231-245, 2002.
- ROBBINS, V.; COTRAN, R. S.; **Pathologic Basis of Disease**, Philadelphia: Ed. ELSEVIER/ SAUNDERS, 2005. 1448 p.
- UENO H, MORI T, FUJINAGA T. Topical formulations and wound healing applications of chitosan. **Adverse Drug Reactions and Toxicological Review**, Oxford, England, v.2, n.52, p.105–115, 2001.
- BANKS, W. J.; **Histologia Veterinária Aplicada**. 2.ed. São Paulo: Ed. Manole, 1991. 640 p.
- FUDGE, A. M.; **Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets**. Philadelphia: Saunders, 2000. 486 p.
- YEO, Y.; KOHANE, D. S.; Polymer in the prevention of peritoneal adhesions. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, London, v. 68, p. 57-66, 2009.

CLASSIFICAÇÃO DAS ALTERAÇÕES ENCONTRADAS EM ÓRGÃOS DE BOVINOS EM MATADOUROS-FRIGORÍFICOS NA REGIÃO DE ARAGUAÍNA-TO
CLASSIFICATION OF ORGANS CHANGES FOUND IN SLAUGHTERHOUSE IN REGION ARAGUAÍNA-TO

Lázaro Moreira de Melo Junior¹, Anderson Barbosa Milhomen², Fredson Ronei Candido³, Orliomar Martins³, Dagoberto Machado Prata³, Marcelo Schweitzer de Albuquerque³, Silvia Minharro Barbosa⁴, Adriano Tony Ramos⁴

1. Graduando, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal do Tocantins (UFT), Araguaína, Tocantins, Brasil.
2. Médico Veterinário Concursado do Município de Araguaína, Tocantins, Brasil.
3. Médico Veterinário do Serviço de Inspeção Federal.
4. Professor, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal do Tocantins (UFT), Araguaína, Tocantins, Brasil. E-mail: adrianotony@hotmail.com

PALAVRAS-CHAVE: inspeção, patologia, saúde pública

ABSTRACT

Meat production is de almost important agriculture business for Brazilian economy. So, different aspects are considered by the Federal Inspection Service (SIF) when carrying out inspection animal products in the slaughterhouse, bearing in mind the need to protect public and animal health. The 434 organ samples condemnations by the 3 SIF's in region Araguaína –TO were classified according to yours origin in idiopathic (78), infectious (121), multifactorial (47), parasitic (66), tecnopathy (109) and not-lesion (13). The date suggested that good practices in sanitary management and parasite control should be performed in order to reduce losses from parasitism.

KEYWORDS: inspection, public health, pathology.

INTRODUÇÃO

A atividade pecuária esta presente em mais de 75% dos estabelecimentos agrícolas brasileiros, tendo na produção de carnes, expressiva representatividade nacional e internacional (IBGE 2008). O agronegócio brasileiro é detentor de 32% das exportações mundiais, movimentando no ano de 2008 mais de 2,2 milhões de toneladas de carne bovina (FAO, 2008).

A inspeção sanitária é exclusivamente realizada por médicos veterinários oficiais, na chegada, e durante a permanência dos animais no curral (inspeção *ante-mortem*) e no

momento do abate (*post-mortem*). Na linha de inspeção de miúdos trabalham os auxiliares, organizados em dez pontos estratégicos e os médicos veterinários do Serviço de Inspeção Federal (SIF), selecionam e julgam os órgãos adequados e inadequados ao consumo humano (PINTO, 1992).

O objetivo deste estudo foi classificar segundo a etiologia, as alterações patológicas dadas pelo SIF, visando melhorias na cadeia produtiva a partir de manejos adequados dos animais ainda na propriedade de origem, bem como, no transporte e no momento do abate.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de animais abatidos em três frigoríficos-matadouros da região de Araguaína-TO, todos sobre regime do Serviço de Inspeção Federal (SIF). As coletas foram realizadas semanalmente em sistema de rodízio, no período de 12/2009 a 04/2011. Foram coletados de órgãos condenados pela avaliação macroscópica, segundo os critérios de coloração, textura e forma dos órgãos, estabelecidos pelos funcionários das linhas do SIF.

As amostras obtidas foram encaminhadas ao Laboratório de Patologia Animal da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia (EMVZ) da Universidade Federal do Tocantins (UFT) para análise microscópica (dados não apresentados). As amostras foram catalogadas e identificadas, sendo posteriormente classificadas de acordo com sua patogenia em: idiopática, onde a causa é desconhecida; multicausal, onde a causa não pode ser determinada, podendo ter várias origens; infecciosa, apresentando infiltrado inflamatório de causa indefinida; parasitária, sendo a lesão proveniente da ação de parasitas; não-lesão, caracterizado por não apresentar alteração patológica no órgão e em tecnopatia, termo utilizado pela indústria frigorífica para mensurar as alterações das vísceras e carcaças decorrentes de erros no processo de abate.

RESULTADOS

Na tabela 1 são apresentados a classificação dos órgãos condenados pelos SIFs.

TABELA 1: Órgãos condenados pelos SIFs e classificados conforme a patogenia

ÓRGÃO CONDENAÇÃO	CLASSIFICAÇÃO						Total geral
	IDIOP.	INFECC.	MULTICAU.	PARAS.	TECN.	NÃO-LES.	
BAÇO					5		5
CONGESTÃO					5		5
CORAÇÃO		11		3	3		17
CISTICERCOSE				3			3
CONGESTÃO					3		3
PERICARDITE		11					11
FÍGADO	48	58	44	15	3	1	169
ABSCESSO		45					45
CIRROSE			44				44
CONGESTÃO					3		3

HEPATITE		1				1
HIDATIDOSE			15			15
MELANOSE				1		1
PERIEPATITE		12				12
TELEANGIECTASIA	48					48
INTESTINO DELG.			47			47
ESOFAGOSTOMOSE			47			47
LINFONODO		14				14
ABSCESSO		1				1
LINFADENITE		13				13
PULMÃO		5	1	97	12	115
ABSCESSO		3				3
ASPIRADO DE SANGUE				6		6
ASPIRADO RUMINAL				2		2
BRONQUITE		2				2
CONGESTÃO				27		27
ENFISEMA				62		62
HIDATIDOSE PULMONAR			1			1
LINFONODO HEMAL					12	12
RIM	30	24	3		1	58
ABSCESSO		1				1
ANEMIA			3			3
CISTO URINÁRIO	18					18
CONGESTÃO				1		1
ESQUEMIA		2				2
NEFRITE		21				21
URONEFROSE	12					12
TRAQUÊIA		9				9
BRONQUITE		9				9
Total geral	78	121	47	66	109	434

DISCUSSÃO

Observa-se para os três SIFs maior ocorrência de condenação de fígados (38,9%), acometidos principalmente por teleangiectasia, abscesso e cirrose, sendo esses achados semelhantes aos obtidos por Mendes & Pilati (2007).

Perdas econômicas relevantes estão diretamente associadas às tecnopatias (25,1%) acondicionada principalmente nos pulmões (22,35%), devido à insensibilização e sangria ineficazes, decorrente da falta de treinamento dos funcionários.

Mendes & Pilati (2009) em seus estudos no Serviço de Inspeção Estadual (SIE) apontam entre as principais causas de condenação de rins os cistos urinários (35,04%) e nefrites (20,5%). Tais resultados assemelham-se aos do presente estudo, sendo que dos rins condenados pelo SIF 36,2% tiveram como causa a nefrite e 31,03% por cisto urinário.

Deficiência no manejo alimentar, sanitário e profilático dos animais ainda na propriedade de origem pode contribuir expressivamente para as causas de condenações representando 53,9% desses casos. Neste sentido, as condenações por processos infecciosos representam 27,9%, sendo o fígado o órgão mais afetado. Da mesma forma, as causas de

condenação por parasitas são evidenciadas principalmente no intestino delgado acometidos por *Oesophagostomum spp*, representando 15,2% das causas de condenação. Esses dados evidenciam a deficiência no controle parasitário do rebanho pelo produtor. As demais causas de condenações (10,8%) são provocadas por doenças multicausais representadas principalmente por cirrose.

As divergências na rotina de inspeção são evidenciadas nas condenações por congestão e por hemolinfonodo, de forma que alguns dos SIFs condenam o pulmão com hemolinfonodo como se o órgão apresentasse congestão. Essas falhas podem estar atribuídas ao aspecto semelhante das alterações ou pelo fato da normativa somente contemplar o termo congestão pelas causas de condenações (BRASIL, 1971).

CONCLUSÃO

As condenações das vísceras são decorrentes principalmente de processos infecciosos, necessitando assim de exames complementares como a histopatológica e a microbiologia para determinar com precisão o agente etiológico. Ainda, as perdas por tecnopatias são de grande relevância, sugerindo um aprimoramento nas técnicas de abate e um melhor treinamento dos funcionários dos frigoríficos.

Assim, para se aperfeiçoar o ciclo de produção, se faz necessário adotar melhores práticas de manejo sanitário e controle parasitário com intuito de reduzir as perdas decorrentes de parasitismo.

AGRADECIMENTOS

O projeto recebeu apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq - Brasil. (Processo CNPq: 481601/2010-4). Agradecimento as técnicas Elis Regina Negri e Gilzelle Maria da Luz Silva.

REFERÊNCIAS

- BRASIL, Ministério da Agricultura, do Abastecimento. **Padronização de Técnicas, Instalações e Equipamentos para Abate de Bovinos**. Brasília: M.A.A. 1971.
- FAO – Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. **Statistical Databases**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 01 de dez de 2008.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Censo Agropecuário**. Disponível em: <[HTTP://www.ibge.gov.br/servidor_arquivos_est/](http://www.ibge.gov.br/servidor_arquivos_est/)>. Acesso em: 14/03/2008.
- MENDES, R. E.; PILATI, C. Estudo morfológico de fígado de bovinos abatidos em frigoríficos industriais sob inspeção estadual no Oeste e no Planalto de Santa Catarina, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.6, p.1728-1734, 2007.
- MENDES, R. E.; PILATI, C. Estudo morfológico de rins de bovinos abatidos em frigoríficos industriais sob inspeção estadual no oeste e planalto catarinense, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Santa Maria, v.10, n.1, p.281-287, jan./mar. 2009.
- PINTO, P. S. A; História e política da inspeção de carnes no Brasil: desafio para as autoridades sanitárias. **Higiene Alimentar**, Belo Horizonte, v.6, n.21, p.11-13, 1992.