

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**TRATAMENTOS HOMEOPÁTICO E ALOPÁTICO PARA AGALAXIA
CONTAGIOSA E RELATO DE CASOS DE INFECÇÃO CONGÊNITA POR**
Mycoplasma agalactiae **EM CABRITOS**

NATANAEL DE SOUZA SILVA

PATOS – PB

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**TRATAMENTOS HOMEOPÁTICO E ALOPÁTICO PARA AGALAXIA
CONTAGIOSA E RELATO DE CASOS DE INFECÇÃO CONGÊNITA POR**
Mycoplasma agalactiae **EM CABRITOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Autor: Natanael de Souza Silva

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria das Graças Xavier de Carvalho

PATOS – PB

2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR DA UFCG

S586t Silva, Natanael de Souza
Tratamentos homeopático e alopático para agalaxia contagiosa e relato de casos de infecção congênita por *Mycoplasma agalactiae* em cabritos / Natanael de Souza Silva. – Patos, 2014.
54f.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2014.

"Orientação: Profa. Dra. Maria das Graças Xavier de Carvalho"

Referências.

1. Saúde animal. 2. Caprinos. I. Título.

CDU 614.9

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

NATANAEL DE SOUZA SILVA

**TRATAMENTOS HOMEOPÁTICO E ALOPÁTICO PARA AGALAXIA
CONTAGIOSA E RELATO DE CASOS DE INFECÇÃO CONGÊNITA POR
Mycoplasma agalactiae EM CABRITOS**

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Maria das Graças Xavier de Carvalho – UFCG
(Orientadora)

Prof. Dr. Melania Loureiro Marinho – UFCG
(1º Membro)

Prof^ª Dr^ª. Rossana Miranda Cruz Camello Pessoa – UEPB
(2º Membro)

“Meu estado de espírito sintetiza estes dois sentimentos [otimismo e pessimismo] e os supera: sou pessimista com a inteligência, mas otimista com a vontade. Em cada circunstância, penso na hipótese pior, para pôr em movimento todas as reservas de vontade e ser capaz de abater o obstáculo.”

Antônio Gramsci

Sou ansioso por natureza, deixo de viver o presente pensando no futuro, mas espero curtir o amanhã.

AGRADECIMENTOS

A DEUS pelo dom da vida e pelas oportunidades que o mesmo tem colocado em meu caminho.

A meus pais Maria Helena e Izeranildo pelos esforços que fizeram para possibilitar hoje eu ser um Médico Veterinário.

Ao meu irmão pelo apoio nas horas difíceis e palavras de apoio.

A minha esposa, amiga, companheira Maria Helena Melo por todo apoio e paciência, onde apesar dos nove anos de namoro oito destes passamos distantes, devido aos meus estudos. Além disso, agradeço por possibilitar a maior alegria de um homem. Venha com saúde meu filho (Théo Antônio).

Aos meus avós, em especial o homem em que me espelho até hoje. Nunca esqueço quando populares me perguntavam se eu era neto de Toim de Joca. Sempre diziam: seu avô é um homem, trabalhador, bondoso... Nunca me esquecerei do senhor Antônio Batista de Souza (*in memorian*), sinônimo de simplicidade e caráter.

A Prof^ª. Maria das Graças pela orientação e oportunidades a mim concedidas.

A Prof^ª. Melania Marinho por disponibilizar os dados para realização da dissertação, obrigado pelas oportunidades. Se estou aqui hoje, devo muito a senhora.

Ao Prof^º. Edisio Azevedo pela ajuda nas correções dos artigos, que apesar das nossas divergências na maioria das vezes pude contar e a Dr^ª. Ana Campos pela realização da PCR do segundo artigo.

A Prof^ª. Marcia Melo pela orientação na realização da PCR e aos colegas do Laboratório de Biologia Molecular do Semiário do CSTR/UFCG em especial a Raizza Silva.

Aos professores do CSTR/UFCG, em especial a Sara Vilar, Eldinê Miranda Neto e José Morais.

A Dona Dinha e seus familiares (meus vizinhos) pelas gentilezas durante esses sete anos de vivência em Patos-PB.

A Fátima Germano e seus pais Dona Raimunda e Seu Expedito, proprietários da casa em que moro até hoje.

Ao senhor Mané Brejeiro (*in memorian*), que DEUS o tenha, pelas gentilezas proporcionadas a minha pessoa.

Ao amigo Hugo Estefânio (*in memorian*) pela amizade durante os estágios na clínica de grandes animais da UFCG.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização destes experimentos que fazem parte desta dissertação. Bem como, aqueles que contribuíram para a minha formação como pessoa e como técnico na área de ciências agrárias (Médico Veterinário).

E que venha a residência, são mais dois anos de estudo, dedicação e aprimoramento.

SUMÁRIO

	Pág.
Lista de Tabelas.....	08
Resumo.....	09
Abstract.....	10
Introdução Geral.....	11
Referências.....	12
CAPÍTULO I - Tratamento homeopático e alopático para agalaxia contagiosa: estudo comparativo.....	16
Resumo.....	18
Abstract.....	18
Introdução.....	19
Material e Métodos.....	20
Resultados e Discussão.....	24
Conclusão.....	28
Agradecimentos.....	29
Referências.....	29
CAPÍTULO II - Infecção congênita em cabritos por <i>Mycoplasma agalactiae</i>: relato de três casos.....	31
Resumo.....	33
Abstract.....	34
Introdução.....	34
Casuística.....	35
Discussão.....	36
Conclusão.....	37
Agradecimentos.....	37
Referências.....	38
Considerações Finais.....	40
Anexos.....	41

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 - Tratamento homeopático para agalaxia contagiosa: estudo clínico e laboratorial

Pág.

Tabela 1 – Sinais clínicos observados nos animais dos grupos I, II e III, duração e evolução durante os 365 dias de experimento.....

26

**TRATAMENTOS HOMEOPÁTICO E ALOPÁTICO PARA AGALAXIA
CONTAGIOSA E RELATO DE CASOS DE INFECÇÃO CONGÊNITA POR
Mycoplasma agalactiae EM CABRITOS**

RESUMO

Foram realizados dois estudos para avaliar o tratamento homeopático para agalaxia contagiosa e relatar três casos de infecção congênita em cabritos pelo *Mycoplasma agalactiae*. Para o tratamento homeopático, 30 caprinos foram divididos em três grupos de forma aleatória e homogênea, sendo respectivamente, tratados com bioterápico (grupo I), com alopatia (grupo II) e controle (grupo III). Todos os animais foram observados diariamente por um período de 365 dias para acompanhamento da evolução clínica e foram realizadas coletas de material para realização de cultivo bacteriológico em intervalos de 90 dias. O tratamento homeopático apresentou melhores resultados em comparação ao alopático. Abortos foram observados no grupo II e III com 12,5% e 28,57% dos nascimentos, respectivamente. Apenas em sete amostras da primeira coleta houve isolamento de *M. agalactiae*. Nos cabritos que apresentaram infecção congênita foram observados inchaço nas articulações cárpicas dos três cabritos, tarsica de um e coxo femorais de outro, com dor e comprometimento dos movimentos de flexão-extensão. Foram coletadas amostras para cultivo onde foi possível isolar colônias com aparência de “ovo frito” que foi confirmado como *M. agalactiae* por testes bioquímicos e PCR. O sangue foi coletado dos três animais logo após o nascimento e submetido ao teste de ELISA indireto para determinação da titulação de anticorpos anti-*M. agalactiae*. Concluiu-se que o tratamento homeopático para agalaxia contagiosa é eficaz no controle dos sinais clínicos em animais naturalmente infectados e que cabras infectadas pelo *M. agalactiae* pode dar origem a animais infectados com sinais clínicos e imunotolerantes.

Palavras-chave: Caprino, Mollicutes, Bioterápico.

**HOMEOPATHIC AND ALLOPATHIC TREATMENTS FOR CONTAGIOUS
AGALACTIA AND A CASE REPORT OF CONGENITAL INFECTION BY
Mycoplasma agalactiae IN GOAT KIDS**

ABSTRACT

Two studies to evaluate the homeopathic treatment for contagious agalactia , and to report three cases of congenital infection by *Mycoplasma agalactiae* in goat kids were carried out. For the homeopathic treatment, 30 goats were divided into three groups in a random and homogenous way, being respectively, treated with biotherapeutics (group I), with alopahy (group II) and controle (group III). All the animals were observed daily for a period of 365 days for the monitoring of the clinical evolution and the collections of material for the bacteriological cultivation were carried out at intervals of 90 days. The homeopathic treatment presented better results in comparison to to the allopathic treatment. Miscarriages were observed in groups I and II with 12,5% and 28% of births, respectively. Only in seven samples of the first collection *M. agalactiae* was isolated. In the goat kids which presented congenital infection was observed swelling of the carpic articulations in three goat kids, in the the tarsic articulation in one, and in the thigh-femoral articulation in another, with pain and compromised flexion-extension movements. Samples were collected for the cultivation and it was possible to isolate colonies with the “fried egg” appearance which were confirmed as being *M.agalactiae* by biochemical tests and PCR. Blood was collected from three animals soon after birth and submitted to the indirect-ELISA test for the determination of the titration of the anti-*M. agalactiae* antibodies. It is concluded that the homeopathic treatment for contagious agalactia is efficient in the control of the clinical signs in naturally infected animals and that nanny-goats infected by *M. agalactiae* may generate infected, with clinical signs and immunotolerant animals.

Keywords: Goats, Mollicutes, Biotherapeutic.

INTRODUÇÃO GERAL

Na espécie caprina, a agalaxia contagiosa (AC) é caracterizada por uma síndrome plurietiológica causada por vários micoplasmas: *Mycoplasma agalactiae*, *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC (colônias grandes), *M. mycoides* subsp. *mycoides* SC (colônias pequenas), *M. mycoides* subsp. *capri*, *M. capricolum* subsp. *capricolum*, *M. putrefaciens*, *M. arginini*. Já em ovelhas, a espécie predominante é a *M. agalactiae*, sendo responsável pela quase totalidade das enfermidades causadas pela infecção natural. (LEVISOHN et al., 1991; REAL et al., 1994; EGWU et al., 2001; GIL et al., 2003; AZEVEDO, 2007; CORRALES et al., 2007; MOTA, 2007). Associações com dois ou mais destes agentes tem sido registradas em alguns países (GIL et al., 2003; DE la FE et al., 2005; VILEI et al., 2006).

Os aspectos clínicos estão bem caracterizados por uma tríade de sintomas localizados na glândula mamária, articulações e olhos. No Brasil tem sido registrados casos de aborto em animais cronicamente infectados, nascimento de crias com sinais clínicos ou o aparecimento de sintomas característicos da enfermidade nos primeiros dias de vida (AZEVEDO, 2005; Azevedo et al., 2006, SILVA & MARINHO, 2011; SILVA et al., 2013).

Em relação aos mecanismos de contágio, existem três vias de transmissão que são mais conhecidas como capazes de infectar os animais: via digestiva, galactófora e respiratória. Outras vias também têm sido discriminadas na transmissão da doença, no entanto, de menor importância como à reprodutiva, ocular, intradérmica e subcutânea. Após infecção os animais desenvolvem bacteremia seguida de febre e distribuição do agente nos órgãos alvos (glândula mamária, olhos, órgãos internos, linfonodos, articulações, tendões, etc), onde ocorre o processo inflamatório (TOLA et al., 1997; RAZIN, 1999; AZEVEDO et al., 2006; MOTA, 2007).

Em animais jovens, a ocorrência da doença acontece pela ingestão de leite e colostro contaminados, podendo o agente ser excretado no leite por no mínimo 12 meses e no máximo oito anos, quando os sinais clínicos são mais brandos (DAMASSA & BROOKS, 1991).

A transmissão vertical pode ocorrer principalmente na fase septicêmica associada à hipertermia onde o aborto pode estar presente devido à inflamação do útero (MARCO et al., 1993 *apud* MOTA, 2007; MADANAT et al., 2001). Ou pode dar origem a neonatos com sinais clínicos da enfermidade, como registrado por Bar-Moshe e Rapapport (1981) onde descreveram uma forma congênita de artrite purulenta proliferativa em cabritos atribuída a *M. mycoides* subsp. *mycoides*, em Israel. Mais recentemente, Filioussis et al. (2011), relataram

casos de poliartrite congênita em cabritos naturalmente infectados por *M. agalactiae* no Norte da Grécia.

Tratamentos com antibióticos são de pouca eficácia para o tratamento da AC, por isso a grande importância na prevenção da doença. O tratamento torna-se difícil pela ausência de parede celular dos micoplasmas, tornando-os refratários a ação de diversos antibióticos que atuam ao nível da mesma. O fato de poucos fármacos como tetraciclina, macrolídeos e fluoroquinolonas terem ação sobre os micoplasmas trazem elevada probabilidade de desenvolvimento de resistência, uma vez que são administrados em doses elevadas e por longos períodos. Outro produto que apesar de mostrar algum efeito sobre aqueles microrganismos é o clorafenicol, mas tem problemas com toxicidade trazendo restrições e proibições de uso (NASCIMENTO et al., 2002; AZEVEDO, 2005; CORRALES et al., 2007; MOTA, 2007).

A AC foi diagnosticada na microrregião do Cariri paraibano em 2002 e desde então a doença vem disseminando-se para outras microrregiões do Estado, causando importante impacto econômico na caprinocultura leiteira local. Trabalhos de pesquisa realizados na Paraíba indicam que a infecção estava presente em aproximadamente 20% dos rebanhos no período entre 2004 e 2005 (BANDEIRA et al., 2008) e com possibilidade de disseminar-se para outras regiões caso medidas de controle não fossem adotadas (AZEVEDO et al., 2006). Pode-se afirmar que a doença atingiu um caráter endêmico na região do Cariri paraibano, visto que tem sido comum a ocorrência de casos em diversos rebanhos, com taxas de prevalência superiores a 80% em determinadas microrregiões e a prevalência entre propriedades variou de 10% a 100% (CAMPOS et al., 2009; ALCÂNTARA, 2010). Nesse sentido, o presente estudo teve o objetivo de avaliar o tratamento homeopático para a agalaxia contagiosa e relatar a ocorrência de três casos de infecção congênita por *Mycoplasma agalactiae* em cabritos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCÂNTARA, M.D.B. **Soroprevalência da agalaxia contagiosa e vacinação experimental em caprinos**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB. 2010. 52p.

AZEVEDO, E.O. **Aspectos clínicos, microbiológicos, anátomo-patológicos e epidemiológicos da agalaxia contagiosa dos ovinos e caprinos (ACOC) no Brasil**. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. 2005. 135p.

_____. Micoplasmose em ruminantes. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R.J. **Doenças de ruminantes e equídeos**. Santa Maria: Pallotti, 2007, v.1, p.383-393.

AZEVEDO, E.O.; ALCÂNTARA, M.D.B.; NASCIMENTO, E.R.; TABOSA, I.M.; BARRETO, M.L.; ALMEIDA, J.F.; ARAÚJO, M.D.; RODRIGUES, A.R.O.; RIET-CORREA, F.; CASTRO, R.S. Contagious agalactia by *Mycoplasma agalactiae* in small ruminants in Brazil: first report. **Braz. J. Microbiol.**, v.37, p.576-581, 2006.

BANDEIRA, D.A.; CASTRO, R.S.; AZEVEDO, E.O.; MELO, L.S.S.; MELO, C.B. Perfil sanitário e zootécnico de rebanhos caprinos nas microrregiões do Cariri paraibano. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, v.59, p.1597-1600, 2007.

BAR-MOSHE, B.; RAPAPPORT, E. Observations on *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* infection in Saanen goats. **Isr. J. Med. Sci.**, v.17, p.537-539, 1981.

CAMPOS, A.C.; TELES, J.A.A.; AZEVEDO, E.O.; NASCIMENTO, E.R.; OLIVEIRA, M.M.M.; NASCIMENTO, S.A.; CASTRO, R.S. ELISA protein G for the diagnosis of contagious agalactia in small ruminants. **Small Rumin. Res.**, v.84, p.70-75, 2009.

CORRALES, J.C.; ESNAL, A.; DE LA FE, C.; SANCHEZ, A.; ASSUNÇÃO, P.; POVEDA, J.B.; CONTRERAS, A. Contagious agalactia in small ruminants. **Small Rum. Res.**, v.68, p.154-166, 2007.

DAMASSA, A. J., BROOKS, D. L. The external ear canal of goats and other animals as a *Mycoplasma* habitat. **Small Rum. Res.**, v.4, n.1, p.85-93, 1991.

DE LA FE, C.; ASSUNÇÃO, P.; ANTUNES, T.; ROSALES, R.S.; POVEDA, J.B. Microbiological survey for *Mycoplasma* spp. in a contagious agalactia endemic area. **Vet. J.**, v.170, p.257-259, 2005.

EGWU, G.O.; AMEH, J.A.; ALIYU, M.M.; MOHAMMED, F.D. Caprine mycoplasmal mastitis in Nigeria. **Small Rum. Res.**, n.39, p.87-91, 2001.

FILIOUSSIS, G.; GIADINIS, N.D.; PETRIDOU, E.J.; KARAVANIS, E.; PAPAGEORGIOU, K.; KARATZIAS, H. Congenital polyarthritis in goat kids attributed to *Mycoplasma agalactiae*. **Veterinary Record**, v.169, n.14, p.364, 2011.

GIL, M.C.; PEÑA, F.J.; MENDOZA, J.H.; GOMEZ, L. Genital lesions in an outbreak of caprine contagious agalactia caused by *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma putrefaciens*. **J. Vet. Med. Series B.**, v.50, n.10, p.484, 2003.

LEVISOHN, S.; DAVIDSON, I.; CARO VERGARA, M.R.; RAPOPORT, E. Use of an ELISA for differential diagnosis of *Mycoplasma agalactiae* and *M. mycoides* subspecies *mycoides* (LC) in naturally infected goat herd. **Res. Vte. Sci.**, v.51, n.1, p.66-71, 1991;

MADANAT, A., ZENDULKOVÁ, D.; POSPÍŠIL, Z. Contagious agalactia of sheep and goats. A review. **Acta Vet. Brno.**, v.70, p.403-412, 2001.

MOTA, R.A. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e controle das mastites em caprinos e ovinos. 3º Simpósio Internacional sobre Caprinos e Ovinos de Corte, **Anais...** João Pessoa, 2007.

NASCIMENTO, E.R.; BARRETO, M.L.; PLATENIK, M.O.; AZEVEDO, E.O.; TABOSA, I.M.; ALCÂNTARA, M.D.B.; ALMEIDA, J.F.; NASCIMENTO, M.G.F. Contagious agalactia by *Mycoplasma agalactiae* in goats in Brazil. Etiologic study. In: XIV Intern. Cong. Intern. Organiz. Mycoplasmol. (IOM), **Proceedings...** Vienna, p.45-46, 2002.

RAZIN, S. Adherence of pathogenic mycoplasmas to host cells. **Biosci. Rep.**, v.19, n.5, 1999.

REAL, F.; DÉNIZ, S.; ACOSTA, B.; FERRER, O.; POVEDA, J.B. Caprine contagious agalactia caused by *Mycoplasma agalactiae* in the Canary Islands. **Vet. Rec.**, v.135, p.15-16, 1994.

SILVA, N.S.; MARINHO, M.L.; AZEVEDO, E.O.; CAMPOS, A.C.; CARVALHO, M.G.X. Tratamento alopático e homeopático em caprinos com agalaxia contagiosa: estudo comparativo. **Archives of Veterinary Science**, v.18, n.4, p.57-64, 2013.a

SILVA, N.S.; MARINHO, M.L. Comparação entre a ação terapêutica do bioterápico de *Mycoplasma agalactiae* e tilosina/oxitetraciclina em caprinos com agalaxia contagiosa dos ovinos e caprinos. In: VIII Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Campina Grande, **Anais...** Campina Grande, 2011.

TOLA, S.; MAMUNTA, D.; COCCO, M.; TURRINI, F.; ROCCHIGIANI, M.; IDINI, G.; ANGIOI, A.; LEORI, G. Characterization of membrane surface proteins of *Mycoplasma agalactiae* during natural infection. **FEMS Microbiol. Lett.**, v.154, p.355-362, 1997.

VILEI, E.M.; KORCZAK, B.M.; FREY, J. *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* LC can be grouped into a single subspecies. **Vet. Res.**, v.37, n.6, p.779-790, 2006.

CAPÍTULO I

**Tratamento homeopático e alopático em caprinos com
agalaxia contagiosa: estudo comparativo**

O presente trabalho foi formatado segundo as normas do Archives of Veterinary Science de acordo com o que estabelece a Norma nº 01/2007 de 09 de Abril de 2007, do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural – Campus de Patos - PB.

TRATAMENTO HOMEOPÁTICO E ALOPÁTICO EM CAPRINOS COM AGALAXIA CONTAGIOSA: ESTUDO COMPARATIVO

Natanael de Souza Silva, Melania Loureiro Marinho, Edisio Oliveira de Azevedo,
Ana Claudia Campos, Maria das Graças X. de Carvalho

RESUMO: Foram utilizados 30 caprinos naturalmente infectados pelo *Mycoplasma agalactiae* com a finalidade de comparar os tratamentos alopático e homeopático para agalaxia contagiosa. Os animais foram divididos em três grupos de forma aleatória e homogênea, sendo respectivamente, tratados com bioterápico (grupo I), com alopatia (grupo II) e controle (grupo III). No grupo I os animais receberam durante oito semanas, três doses diárias de 10 mL do bioterápico diluído em água potável. Os animais do grupo II foram tratados durante oito dias com tilosina e sete dias com oxitetraciclina LA (20 mg/kg). Todos os animais foram observados diariamente por um período de 365 dias para acompanhamento da evolução clínica. Após um período de 7 a 49 dias, foi observado cura clínica de todos os animais do grupo I. No grupo II a alopatia apesar de proporcionar uma diminuição da sintomatologia clínica, não possibilitou a cura clínica de todos os animais, onde foram observadas recidivas nos sinais clínicos de mastite ou agalaxia (40%) e artrite (25%). No grupo controle três animais com mastite e dois com ceratoconjuntivite permaneceram com os sintomas durante todo período experimental. Apesar da diminuição da sintomatologia clínica após a punção articular, um (20%) animal do grupo III veio a óbito devido à cronicidade do quadro clínico. Abortos foram observados no grupo II e III com 12,5% e 28,57% dos nascimentos, respectivamente. Conclui-se, portanto, que o tratamento da agalaxia contagiosa com bioterápico de *M. agalactiae* é eficaz no controle dos sinais clínicos em animais naturalmente infectados, sendo este superior em eficácia em comparação ao tratamento alopático.

Palavras-chave: artrite; ceratoconjuntivite; mastite; *Mycoplasma agalactiae*

ABSTRACT: 30 goats naturally infected by *Mycoplasma agalactiae* were used with the purpose of comparing the allopathic and homeopathic treatments for contagious agalactia. The animals were randomly and homogeneously divided, into three groups, being respectively treated with a biotherapeutic (group I), with allopathy

(group II) and control (group III). In group I the animals received during eight weeks, three daily dosages of the biotherapeutic diluted in drinking water. The animals of the group II were treated during eight days with tylosine and seven days with oxytetracycline LA (20 mg/kg). All the animals were observed daily for a period of 365 days for the monitoring of the clinical evolution. After a period of 7b to 49 days, was observed clinical cure of all the animals from group I. In the group II despite the allopathy providing a reduction of the clinical symptomatology, it did not allow the clinical cure of all the animals and recurrences of the clinical signs of mastitis or agalactia (40%) and arthritis (25%) were observed. In the control group three animals with mastitis and two with keratoconjunctivitis remained with symptoms during all the experimental period. Despite the reduction of the clinical symptomatology after the puncture of the articulation, one (20%) animal of group III died due to the chronicity of the clinical symptoms. Miscarriages were observed in groups II and III with 12,5% and 28,57% of births, respectively. It is concluded, however, that the treatment of contagious agalactia with the biotherapeutic of *M. agalactiae* is efficient in controlling the clinical signs in animals naturally infected, and it is superior in efficiency in comparison with the allopathic treatment.

Key words: arthritis; keratoconjunctivitis; mastitis; *Mycoplasma agalactiae*

INTRODUÇÃO

Agalaxia contagiosa (AC) é uma micoplasmose de ovinos e caprinos sendo caracterizada por um quadro clínico de mastite, seguida de agalaxia, artrite, ceratoconjuntivite e ocasionalmente aborto e pneumonia (Nicolet, 1994).

A infecção se dá por via oral, mamária e respiratória. Na forma oral, há aderência da bactéria às células epiteliais da mucosa e em seguida a invasão do intestino delgado. Após um período de bacteremia acompanhado de febre, há disseminação para órgãos alvo (glândula mamária, articulações, tendões, olhos e linfonodos). O período de incubação varia de uma a oito semanas, dependendo da quantidade de micro-organismos, virulência do agente infeccioso e da resistência do hospedeiro. A infecção e subsequente colonização da glândula mamária, pode se dar através de uma ordenha incorreta ou de problemas com o equipamento utilizado (DaMassa et al., 1992; Kinde et al., 1994, Bergonier et al., 1997).

Os bioterápicos são medicamentos dinamizados homeopaticamente a partir de produtos biológicos como: secreções, excreções, tecidos e órgãos patológicos ou

não e a partir de culturas de bactérias, vírus, fungos, alérgenos, entre outros, podendo então ser aplicados de forma não só curativas como também preventivos, uma vez que se pode utilizar o agente etiológico de determinada doença que se pretende combater (Soares, 1988; Benez, 2001).

Em função das perdas econômicas ocasionadas pela agalaxia contagiosa no Nordeste do Brasil, região que detem aproximadamente 90% dos caprinos do país, alternativas terapêuticas e preventivas tem sido desenvolvidas para o controle desta importante enfermidade. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar a eficácia do tratamento homeopático em comparação ao alopático em animais naturalmente infectados pelo *Mycoplasma agalactiae*.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Trinta caprinos apresentando sinais clínicos da agalaxia contagiosa foram adquiridos junto à caprinocultores na região do Cariri, Estado da Paraíba. Os animais foram obtidos de três rabinhos com histórico da enfermidade. O critério de seleção dos animais baseou-se na presença de sinais clínicos como mastite clínica caracterizada por ser uma secreção aquosa com ou sem presença de grumos e/ou agalaxia, artrite e ceratoconjuntivite e pela comprovação da infecção através do isolamento em meio Hayflick modificado e pelo teste imunoenzimático indireto segundo Azevedo et al. (2006) e Campos et al. (2009), respectivamente.

Após aquisição os animais foram transportados em caminhonete até o Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos-PB (CSTR/UFCG), local onde foi realizado o experimento. Após um período de adaptação de 15 dias, os animais foram classificados de acordo com a idade, sexo e gravidade dos sinais clínicos e divididos aleatoriamente por sorteio em três grupos (I, tratamento homeopático; II, tratamento alopático e III, controle) de forma que os grupos contivessem animais com diferentes graus de severidade da doença.

O grupo I era constituído de sete fêmeas adultas e três jovens, onde foi observado mastite em três animais e artrite em cinco animais, poliartrite em um animal. O grupo II era composto por seis fêmeas adultas, três jovens e um macho, apresentando mastite em quatro animais, artrite em dois animais, poliartrite em seis animais e ceratoconjuntivite em um. O grupo III era formado por sete fêmeas adultas

e três jovens com mastite em quatro animais, artrite em quatro animais, poliartrite em um animal, ceratoconjuntivite em três animais e tosse e caquexia em dois animais. Como pode ser notado, alguns animais apresentavam mais de um sinal clínico.

Cada grupo foi mantido em capril individual e submetido ao mesmo manejo e dieta alimentar com volumoso picado de capim elefante (*Pennisetum purpureum*), andrequicé (*Leersia hexandra*), braquiária (*Brachiaria radicans*) e leucena (*Leucaena leucocephala*) e 350 g/dia de concentrado (farelo de trigo 33 %, de milho 40 %, de soja 25 %, sal 2 %) por animal e água potável *ad libitum*. Apesar de que cada grupo era mantido em capril individual, havia a possibilidade de reinfecção, uma vez que os mesmos estavam próximos e eram manejados por um único tratador, proporcionando desta forma um desafio constante para ambos os grupos.

Isolamento e identificação de *M. agalactiae*

. Os espécimes clínicos utilizados para isolamento foram de acordo com a sintomatologia presente no animal, sendo a secreção láctea o principal material. Os suabs nasais e conjuntivais foram colocadas em microtubos, com a parte de algodão imersos em 1 mL de uma solução salina glicerinada a 50% com 2.000 UI/mL de penicilina. Secreção láctea e líquido articular foram homogeneizados (v/v) em solução salina glicerinada a 50%, e em seguida os espécimes foram transportados em caixas isotérmicas com gelo para o laboratório e armazenados a -20°C. As amostras (100 µL) foram semeadas em meio Hayflick modificado sólido, incubadas a 37°C em microaerofilia e observadas diariamente em microscópio estereoscópico com aumento de 40 a 100 vezes, para observação de colônias com aspecto de “ovo frito” ou “mamilar”. Fragmentos de ágar foram transferidos para tubos contendo 3 mL de meio Hayflick modificado líquido, que foram incubados a 37°C por 72h. Em seguida, 100 µL da amostra foram semeadas em placas com meio sólido. Repiques alternados em meio sólido e líquido foram realizados para possibilitar o isolamento de colônias e a observação de manchas e filmes, com posterior realização de testes bioquímicos, em especial o metabolismo da arginina e da glicose.

Teste imunoenzimático indireto (ELISA)

Foi realizado utilizando placas de poliestireno de 96 poços sensibilizadas com o antígeno e incubadas em câmara úmida “overnight” a 37°C. Três lavagens com PBS contendo 0,1% Tween 20 (v/v) (PBS-T) foram realizadas e as placas

bloqueadas pela adição de 2% de BSA em PBS por 1 hora a 37°C em câmara úmida. Após três lavagens com PBS-T, 100 µL das amostras de soros diluídas em PBS contendo 2% de leite em pó desnatado e 10 mM de EDTA (p/v) foram distribuídas em cada poço; as placas foram incubadas em câmara úmida por 1 hora a 37°C. Após nova lavagem com PBS-T, 100 µL do conjugado de proteína G peroxidase diluído 1:90.000 foram distribuídos por poço e as placas incubadas em câmara úmida por 1 hora a 37°C e posteriormente lavadas cinco vezes com PBS-T. Em seguida, 100 µL de solução tampão citrato-fosfato 0,1 M, pH 5,0 contendo 0,1 mg de 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) por mL e 0,02% de peróxido de hidrogênio (v/v) foram adicionados. Após 15 minutos, a reação foi bloqueada com 100 µL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 2 N. A leitura da densidade óptica (DO) foi realizada com filtro de 450 nm.

Reação em cadeia da polimerase (PCR)

Foi realizada pelo método fenol-clorofórmio, onde 200 µL de leite + 800 µL de TE (10 mM Tris; 1 mM EDTA, pH 8,3) foi centrifugado a 20.000 x G a 10°C durante 20 minutos e ao precipitado foi adicionado 400 µL de TE-dextrose (10 mM Tris; 1 mM EDTA, Dextrose, pH 8,3), 30 µL de proteínase K (240 µg/mL) e 30 µL de uma solução de SDS a 10%, incubadas por 30 minutos a 50°C. Após rápido resfriamento, foram realizadas duas extrações com 500 µL de fenol (pH 6,8), seguidas de uma com 500 µL de clorofórmio e adição de 100 µL de etanol à fase aquosa final. Os tubos foram mantidos a -20°C “overnight” e posteriormente centrifugados a 20.000 x G a 10°C por 10 minutos. O álcool foi retirado para escoamento e após secagem total foi adicionado 100 µL de TE ao precipitado. O volume da reação foi de 100 µL, sendo 59 µL de água “Milli-Q”, 10 µL de tampão PCR 10 X, 5 µL de MgCl₂, 5 µL de dNTP mix (0,25 mM de cada), 2 µL de cada primer (5'-CCT TT AGA TTG GGA TAG CGG ATG-3' e 5'-CCG TCA AGG TAG CGT CAT TTC CTA C-3'), 15 µL de DNA extraído (amostra), 2 µL de taq polimerase (1 U/µL) e duas gotas de óleo mineral estéril. O par de primers utilizado e a amplificação foi feita em termociclador (mod. PTC-100, MJ Research). Uma etapa inicial a 94°C por 5 minutos foi seguido de 40 ciclos de desnaturação a mesma temperatura por 1 minuto, pareamento a 57°C por 1 minuto, extensão a 68°C por 1 minuto e etapa final a 70°C por 10 minutos. Os produtos da PCR, o controle positivo (*M. agalactiae* GM139) e o padrão de peso molecular foram submetidos à eletroforese (82 V) em gel de agarose a 1,5%,

submersos em TBE (10 mM Tris, 0,4 M ácido bórico, 0,5 M EDTA, pH 8,0) durante 40 minutos. Em seguida, o gel foi corado com brometo de etídio (5 µg/mL) e os fragmentos amplificados visualizados em transiluminador sob luz ultravioleta.

Elaboração do bioterápico

O bioterápico foi preparado a partir do isolamento e caracterização de *M. agalactiae* em uma amostra de leite advinda de uma cabra com sinais clínicos da enfermidade. O cultivo foi realizado como descrito anteriormente e foi confirmado como *M. agalactiae* pela PCR do gene 16S rRNA, onde produziu um fragmento de 360 pb.

O bioterápico foi manipulado no Laboratório Homeopático da Universidade Estadual da Paraíba, Campus de Campina Grande-PB e no Laboratório Homeopático Gral & Cia, de acordo com as regras e métodos descritos pela Farmacopéia Homeopática Brasileira (1997), segundo as idéias de Costa (1988) e a partir do Manual de Normas Técnicas para Farmácia Homeopática (2003), aplicados ao método Hahnemanniano. Inicialmente foi preparada uma suspensão de *M. agalactiae*, por lavagem das colônias isoladas em meio sólido, com 10 mL de solução de NaCl a 0,9%. A seguir, foi adicionado 1 mL da suspensão bacteriana (com concentração ajustada ao tubo nº 3 da Escala de Mac Farland) ao frasco 1, contendo 9 mL de NaCl a 0,9%. Posteriormente o mesmo foi submetido a 100 succussões vigorosas e regulares, em sentido vertical e em aparelho dinamizador, obtendo-se, assim, a primeira dinamização decimal. Na sequência, 1 mL da primeira dinamização foi transferido para o frasco 2, contendo 9 mL NaCl a 0,9%, submetido a 100 succussões, correspondendo à segunda dinamização decimal. Esta sequência foi repetida por mais 10 vezes, sendo usado como diluentes nos frascos 11 e 12 álcool a 50% e 70%, respectivamente. O frasco 12 foi enviado à Farmácia Homeopática Gral & Cia para continuar a manipulação até trigésima dinamização decimal (D30) de *M. agalactiae*, utilizando como diluente álcool 70%.

Grupos experimentais

O grupo I foi medicado com três doses diárias de 10 mL do bioterápico diluído e administrado por via oral durante oito semanas. A diluição foi realizada todos os dias pela manhã, na proporção de 10 mL do bioterápico na D30 para 1.000 mL de

água potável, com agitações em sentido vertical que se repetiram antes de cada administração.

O grupo II recebeu tratamento alopático por um período de 15 dias, onde foram medicados diariamente durante oito dias com tilosina e por sete dias com oxitetraciclina LA a cada 48 horas. Ambos os medicamentos foram administrados por via intramuscular na dose de 20 mg/kg.

Os animais do grupo III não foram submetidos a tratamento, sendo acompanhada a evolução dos sinais clínicos, no entanto, no final do experimento todos os animais com sintomatologia clínica foram tratados com o bioterápico.

Todos os animais foram identificados com brincos enumerados e acompanhados com fichas clínicas individuais, onde foram observados por um Médico Veterinário diariamente e submetidos a exame clínico detalhado semanalmente durante 365 dias, registrando-se os sinais clínicos iniciais e sua evolução. Após cada exame clínico realizado nos animais, considerou-se como cura clínica a ausência de sinais clínicos característicos da enfermidade, anteriormente presentes nos mesmos.

Os resultados foram analisados pelo programa Microsoft Excell 2010[®] e apresentados em forma de estatística descritiva simples na forma de porcentagem.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No grupo I, três (50%) dos seis animais em lactação apresentaram mastite clínica, sendo uma unilateral e duas bilaterais com secreção aquosa e presença de grumos. A cura clínica se deu após um período que variou de 7 a 49 dias do início do tratamento.

No grupo II, dos oito animais em lactação, cinco (62,5%) apresentaram mastite clínica bilateral com secreção aquosa e grumos ou agalaxia durante o período experimental. Em três (60%) foi observado cura clínica após um período que variou de 21 a 49 dias. Os outros dois (40%) animais, um apresentou recidiva após 21 dias caracterizada por mastite clínica, no entanto, nesta fase as características organolépticas do leite apresentaram-se normais, mas com presença grumos. O outro animal, uma cabra primípara foi observada agalaxia no terceiro mês de experimento logo após o parto, permanecendo até o final do experimento, não apresentando cura clínica, mesmo após uma nova parição. Neste animal foi

observado que a mesma apresentava glândula mamária de consistência firme no puerpério, tornando-se posteriormente flácida, mas continuando improdutiva. Os animais deste grupo apresentaram involução dos sinais clínicos após a parição, onde pode pressupor que os animais neste momento apresentaram imunidade suficiente capaz de debelar a infecção e com isso o controle dos sinais clínicos, fato este, intensificado pela administração de drogas antimicrobianas.

Segundo Azevedo et al. (2006), a doença ocorre com maior frequência logo após o parto quando a glândula mamária está em intensa atividade funcional, fato este não observado nos animais deste experimento.

De acordo com Anderson (2005) à medida que a doença evolui o úbere atrofia, no entanto, não é comum a ocorrência de fibrose glandular em casos de micoplasmoses. Neste experimento foi observado que animais com AC podem desenvolver fibrose glândular, que inicialmente apresentam-se na forma de nódulos, mas posteriormente podem acometer toda glândula mamária.

No grupo III, dos oito animais em lactação, seis (75%) apresentaram mastite clínica bilateral com secreção aquosa e presença de grumos, sendo que destes três (37,5%) permaneceram com esta enfermidade durante os 365 dias de experimento. Um (12,5%) animal permaneceu com mastite clínica até os 56 dias de experimento onde posteriormente veio a óbito. Outros dois (25%) casos foram observados durante o experimento, no entanto, apresentando cura clínica aos 7 e 15 dias após.

Nos animais utilizados no experimento foi observado mastite clínica uni ou bilateral, caracterizada em sua maioria por secreção aquosa com presença de grumos que quando colocada em repouso sedimentava-se no fundo do recipiente. No início o úbere pode apresentar-se enrijecido com aumento da temperatura local e da sensibilidade. Quando os linfonodos mamários são acometidos pode-se observar secreção caseosa com estrias de sangue.

Segundo Madanat et al. (2001) a infecção é manifestada normalmente através de mastite nas fêmeas. Nos machos, animais jovens e fêmeas não lactantes os aspectos clínicos são de artrite, ceratoconjuntivite e problemas respiratórios, com mortes entre os animais jovens.

Com relação à artrite, 17 (89,5%) dos 19 animais com esta sintomatologia obtiveram cura clínica após a punção articular para obtenção de material para cultivo bacteriológico. Isso se deve possivelmente, devido à diminuição da pressão da cápsula articular já relatada por Azevedo (2007), sendo neste caso recomendada

sob condições de antissepsia, para promover o alívio da dor e acelerar o processo de fibrose. No entanto, o fibrosamento da articulação acometida pode limitar os movimentos de flexão e extensão, devido ao desenvolvimento de anquilose.

No grupo I foram observados seis (60%) casos clínicos de artrite, onde cinco animais foram acometidos na articulação carpica, sendo quatro casos afetando apenas um membro e um acometendo as duas articulações carpicas e apenas um animal foi acometido da articulação tarsica do membro pélvico direito. Não foi observado retorno dos casos clínicos. No entanto, no grupo II, dois (25%) dos oito (80%) animais com artrite apresentaram recidivas, no entanto, de menor intensidade, com aumento de volume e leve claudicação. Os oito animais foram acometidos das articulações carpicas, sendo que em seis de ambas as articulações e os outros dois da articulação carpica esquerda. Vale salientar que três (50%) animais com artrite bilateral nos membros torácicos, também foram posteriormente acometidos nos membros pélvicos, sendo dois do tarso direito e um do esquerdo.

No grupo III, cinco (50%) animais apresentaram artrite, sendo que dois em ambas as articulações carpicas e dois com artrite unilateral. Um (20%) animal com artrite veio a óbito apresentando agravamento dos sinais clínicos, progredindo para poliartrite (afetando as articulações carpicas e tarsica direita), ceratoconjuntite, decúbito esterno-abdominal e posteriormente lateral, anorexia, diarreia fétida, paralisia dos membros posteriores e morte por inanição. Neste mesmo grupo, outro animal veio a óbito apresentando caquexia e problemas respiratórios.

As articulações envolvidas em ordem decrescente foram as do carpo e tarso, respectivamente. Não foram observadas alterações nas características do líquido articular nos animais estudados, onde se pode observar um líquido transparente e viscoso à punção. No exame clínico da articulação acometida foi observado aumento de volume, da sensibilidade e da temperatura. Ao inspecionar a articulação acometida realizando movimentos de flexão-extensão e ao colocar o animal para andar percebeu-se estralos nas articulações carpicas, fato este não observado nas articulações tarsicas.

Ceratoconjuntivite foi observado em dois (20%) animais do grupo I, sendo que em um foi observado aos 21 dias após o início do experimento e o outro aos 14 dias após a suspensão do tratamento homeopático, com cura clínica aos sete e 15 dias após a observação, respectivamente. Um (10%) animal do grupo II apresentou ceratoconjuntivite após a primeira semana de início do

experimento com cura clínica sete dias após. No grupo III, dois (20%) animais apresentaram ceratoconjuntivite, permanecendo com a sintomatologia durante os 365 dias de experimento, e em um destes a doença evoluiu para neovascularização e ceratite da córnea. Foram observados mais quatro casos durante o experimento, mas logo seguido de cura clínica no período de 7 a 15 dias. Os animais com ceratoconjuntivite apresentaram opacidade de córnea, congestão dos vasos episclerais e da conjuntiva, lacrimejamento seroso e sensibilidade à luz solar. Os sinais clínicos observados nos animais estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Sinais clínicos observados nos animais dos grupos I, II e III, sua duração e evolução durante os 365 dias de experimento.

Grupos/Animais	Sinal clínico	Duração (dias)	Evolução
Grupo I			
1	Poliartrite	7	Cura clínica ¹
2	Mastite unilateral	49	Cura clínica ²
3	Mastite, Ceratoconjuntivite ^b	49, 7	Cura clínica ^{1, 3}
4	Artrite	7	Cura clínica ¹
5	Artrite	7	Cura clínica ¹
6	Ceratoconjuntivite ^b	15	Cura clínica ³
7	Artrite	7	Cura clínica ¹
8	Artrite	7	Cura clínica ¹
9	Mastite	7	Cura clínica ²
10	Artrite	7	Cura clínica ¹
Grupo II			
1	Poliartrite	7	Cura clínica ¹
2	Mastite ^a	21	Cura clínica ²
3	Agalaxia ^b	245	Enferma ²
4	Poliartrite	7	Cura clínica ¹
5	Poliartrite, mastite	7, 28	Cura clínica ^{1, 2}
6	Poliartrite ^a	7	Cura clínica ¹
7	Artrite, ceratoconjuntivite	7, 7	Cura clínica ^{1, 3}
8	Artrite, mastite	7, 49	Cura clínica ^{1, 2}
9	Poliartrite ^a	7	Cura clínica ¹
10	Poliartrite, mastite	7, 21	Cura clínica ^{1, 2}
Grupo III			
1	Poliartrite, mastite	56, 56	Óbito
2	Tosse, caquexia	42, 42	Óbito
3	Ceratoconjuntivite	365	Enferma ³
4	Poliartrite, mastite ^b , ceratoconjuntivite ^b	7, 15, 7	Cura clínica ^{1, 2, 3}
5	Mastite, ceratoconjuntivite	365, 365	Enferma ^{2, 3}

6	Artrite, mastite ^b , ceratoconjuntivite ^b	7, 7, 7	Cura clínica ^{1, 2, 3}
7	Ceratoconjuntivite ^b , tosse, caquexia	7, 365, 365	Cura clínica ³ , Enferma ^{4, 5}
8	Poliartrite, mastite, ceratoconjuntivite ^b	7, 365, 15	Cura clínica ^{1, 3} , Enferma ²
9	Artrite	7	Cura clínica ¹
10	Mastite	365	Enferma ²

¹Artrite/Poliartrite, cura clínica após punção articular; ²Mastite/Agalaxia; ³Ceratoconjuntivite; ⁴Animal apresentou recidiva do sinal clínico; ⁵Sinal clínico observado após o início do experimento; Enfermo: animal que não apresentou involução da sintomatologia clínica durante o período experimental.

No grupo I ocorreram quatro partos sem abortamento, mesmo após a suspensão do tratamento homeopático. No grupo II, ocorreu um (12,5%) aborto entre os oito partos. No grupo III, ocorreram dois (28,57%) abortos de sete partos e um (14,28%) cabrito veio a óbito no dia seguinte ao nascimento mesmo após a ingestão de colostro. Estes achados corroboram com outros autores que relatam a ocorrência de abortos e nascimento de crias fracas em cabras infectadas com *M. agalactiae* (Madanat et al., 2001; Nicolet, 1994).

Pressupõe-se, que os casos de abortos em animais positivos para AC não tem relação com o período gestacional, sendo observado aborto nas diversas fases de gestação. Contudo, outros trabalhos precisam ser realizados para melhores esclarecimentos.

CONCLUSÃO

De acordo com os dados apresentados, pode-se concluir que o tratamento da agalaxia contagiosa com bioterápico de *Mycoplasma agalactiae* foi eficaz no controle dos sinais clínicos em animais naturalmente infectados, sendo este superior em eficácia em comparação ao tratamento alopático.

AGRADECIMENTOS

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

REFERÊNCIAS

- ABFH – Associação Brasileira de Farmacêuticos Homeopatas. **Manual de normas técnicas para farmácia homeopática**. 3. ed. São Paulo: ABFH, 2003. n.p.
- ANDERSON, D.E.; HULL, B.L.; PUGH, D.G. Enfermidades da glândula mamária. In: PUGH, D.G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2005, Cap.13, p.379-399.
- AZEVEDO, E.O. Micoplasmose em ruminantes. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A. et al. **Doenças de ruminantes e equídeos**. Santa Maria: Pallotti, 2007, v.1, p.383-393.
- AZEVEDO, E.O.; ALCÂNTARA, M.D.B.; NASCIMENTO, E.R. et al. Contagious agalactia by *Mycoplasma agalactiae* in small ruminants in Brazil: first report. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, p.576-581, 2006.
- BENEZ, S.M. **Homeopatia:100 segredos**. 2. ed. São Paulo: Robe, 2001. 177p.
- BERGONIER, D.; BERTHOLOT, X.; POUMARAT, F. Contagious agalactiae of small ruminants: current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control. **Revue Scientifique et Technique**, v.16, n.3, p.848-873, 1997.
- CAMPOS, A.C.; TELES, J.A.A.; AZEVEDO, E.O. et al. ELISA protein G for the diagnostic of contagious agalactia in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v.84, p.70-75, 2009.
- COSTA, R.A. **Homeopatia atualizada: escola brasileira**. 3. ed. Petrópolis: Vozes, 1988. 274p.
- DAMASSA, A.J.; WAKENELL, P.S.; BROOKS, D.L. Review Article. Mycoplasmas of goats and sheep. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.4, p.101-113, 1992.

FARMACOPÉIA HOMEOPÁTICA BRASILEIRA. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1997.
pt.1, n.p.

KIND, H.; DAMASSA, A.J.; WAKENELL, P.S. et al. Mycoplasma infection in a commercial goat dairy caused by *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (caprine biotype). **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.6, n.4, p.423-427, 1994.

MADANAT, A.; ZENDULKOVÁ, D.; POSPÍŠIL, Z. Contagious agalactia of sheep and goats. A review. *Acta Veterinaria Brno*, v.70, p.403-412, 2001.

NICOLET, J. Mycoplasma infections in cattle, sheep and goats: methods for diagnosis and prophylaxis. In: **Comprehensive reports on technical items presented to the International Committee or to Regional Commissions OIE**, Paris, p.43-54, 1994.

SOARES, I.C. **Homeopatia: fundamentos básicos.** Ribeirão Preto: Instituto Homeopático François Lamasson, 1988. 47p.

CAPÍTULO II

Infeção congênita em cabritos por *Mycoplasma agalactiae*: relato de três casos

O presente trabalho foi formatado segundo as normas do Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia de acordo com o que estabelece a Norma nº 01/2007 de 09 de Abril de 2007, do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural – Campus de Patos - PB.

Infecção congênita em cabritos por *Mycoplasma agalactiae*: relato de três casos

[*Congenital infection of Mycoplasma agalactiae in goat kids: report of three cases*]

N.S. Silva^{1*}, E.O. Azevedo², A.C. Campos³, A.A. Cordeiro¹, A.G. Mamede¹, R.B.S. Silva¹,
R.S. Castro⁴, E.R. Nascimento⁵, M.L. Marinho⁶, M.G.X. Carvalho⁶

¹Mestrando(a) do PPGMV-CSTR-UFCG-Patos/PB

²Departamento de Medicina Veterinária-UFS-São Cristovão/SE

³Doutora em Ciência Animal-UFRPE-Recife/PE

⁴Departamento de Medicina Veterinária-UFRPE-Recife/PE

⁵Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública-UFF-Niterói/RJ

⁶Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária-CSTR-UFCG-Patos/PB

RESUMO

Mycoplasma agalactiae é o principal agente da agalaxia contagiosa (AC) em ovinos e caprinos, onde esta pode ser transmitida por ingestão de água e alimentos contaminados e através do contato direto entre os animais. Infecção transplacentária não tem sido relatada rotineiramente na literatura e este estudo tem como objetivo relatar três casos da doença em cabritos que nasceram com poliartrite. As cabras pertencentes a dois rebanhos diferentes apresentaram sinais clínicos de AC durante a prenhez e no parto eram aparentemente saudáveis. As articulações carpicas dos três cabritos, tarsica de um e coxo femorais de outro mostraram inchaço, dor e comprometimento dos movimentos de flexão-extensão. O líquido articular foi coletado de dois cabritos no momento do nascimento e revelou um conteúdo que variou de transparente a fibrinopurulenta e de coloração amarelada. As amostras foram semeadas em meio Hayflick modificado onde mostrou colônias com aparência de “ovo frito” que foi confirmado como *M. agalactiae* por testes bioquímicos e reação em cadeia da polimerase do gene 16S rRNA. O sangue foi coletado dos três animais logo após o nascimento e submetido ao teste de ELISA indireto para determinação da titulação de anticorpos anti-*M. agalactiae*. Os resultados confirmam que os cabritos foram infectados durante a prenhez pelo *M. agalactiae* podendo resultar no nascimento de crias com sinais clínicos da AC e imunotolerantes.

Palavras-chave: agalaxia contagiosa, poliartrite, caprino

ABSTRACT

Mycoplasma agalactiae is the main agent of contagious agalactia (CA) in sheep and goats, and this may be transmitted by the ingestion of contaminated water and food and by the direct contact among animals. Transplacental infection has not been commonly reported in the literature and this study aims to report three cases of the disease in goat kids born with polyarthritis. The nanny goats belonging to two different herds presented clinical signs of CA during pregnancy and in parturition they were apparently healthy. The carpal articulations of the three goat kids, the tarsus articulation in one, and thigh femoral articulation in another, showed swelling, pain and impairment of the flexion-extension movements. The articular liquid was collected from two goat kids at the moment of birth and revealed a content which varied from transparent to fibrinopurulent, and had a yellow coloring. The samples were plated on modified Hayflick agar and presented colonies with the appearance of “fried egg” and were confirmed as being *M. agalactiae* by biochemical tests and 16S rRNA gene polymerase chain reaction. Blood was collected from three animals straight after birth and submitted to the indirect ELISA test for the determination of the titration of the Anti- *M. agalactiae* antibodies. The results confirm that the goat kids were infected during pregnancy by *M. agalactiae* and may result in the birth of offspring with clinical signs of CA and immune tolerant.

Keywords: contagious agalactia, polyarthritis, caprine

INTRODUÇÃO

A agalaxia contagiosa (AC) é uma enfermidade que afeta ovinos e caprinos, caracterizada por mastite seguida de agalaxia, poliartrite, ceratoconjuntivite e ocasionalmente aborto e pneumonia. Em princípio, caprinos e ovinos são suscetíveis à infecção natural, sendo que no Nordeste brasileiro, a doença tem sido registrada em maior quantidade nos caprinos, provavelmente associado à utilização desta espécie para produção de leite (Silva *et al.*, 2010).

M. agalactiae foi isolado de caprinos leiteiros com sinais clínicos característicos no Estado da Paraíba, em 2001 (Nascimento *et al.*, 2002). Desde então, a doença tem assumido grande importância na região Nordeste do Brasil, devido às perdas econômicas em função da

redução da produção de leite, custos com tratamento e morte de animais (Azevedo *et al.*, 2006).

Pode-se afirmar que a doença atingiu um caráter endêmico na região, visto que tem sido comum a ocorrência de casos em diversos rebanhos, com taxas de prevalência que atingem aproximadamente 70% em determinadas microrregiões (Alcântara, 2010) sendo que os criadores já adotam medidas sanitárias para controlar a doença, em especial a antibioticoterapia. Esta intervenção, no entanto, quando realizada de forma inapropriada e por poucos dias, resulta na diminuição da sintomatologia clínica, favorecendo a manutenção de animais infectados nos rebanhos.

Silva e Marinho (2011) trabalhando com cabras naturalmente infectadas pelo *M. agalactiae* no Semiárido paraibano observou que casos de aborto não têm relação com o período gestacional, no entanto, os mesmos autores levantaram a possibilidade de infecção transplacentária devido ao nascimento de dois cabritos com poliartrite.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho é relatar três casos de infecção congênita por *M. agalactiae* em cabritos na região Nordeste do Brasil.

CASUÍSTICA

Os casos de AC relatados no presente trabalho foram observados em três cabritos nascidos de três cabras com sintomatologia típica da doença durante a prenhez, na forma de poliartrite das articulações cárpicas com aumento de volume, da sensibilidade e da temperatura e presença de estalos quando realizados movimentos de flexão-extensão no membro, mastite clínica bilateral de consistência serosa com presença de grumos e no parto eram aparentemente normais, após terem sido submetidas a tratamento com antibióticos durante 15 dias. O diagnóstico da infecção nos animais foi realizado mediante isolamento em meio Hayflick modificado sólido e líquido e pelo teste imunoenzimático indireto como descrito por Azevedo *et al.*, (2006) e Campos *et al.*, (2009), respectivamente. Os animais eram pertencentes a duas propriedades localizadas no município de Patos, Estado da Paraíba e em Lajes, Estado do Rio Grande do Norte. Os cabritos nascidos em Patos apresentaram poliartrite, sendo que um foi acometido nas articulações cárpicas e társica direita e o outro nas articulações cárpicas e coxofemorais. O cabrito da propriedade de Lajes apresentou poliartrite das articulações cárpicas. As articulações apresentaram inchaço e dor à palpação e os animais dificuldade de locomoção, com diminuição dos movimentos de flexão e extensão dos membros. O conteúdo da cápsula articular foi coletado em dois cabritos no momento do

nascimento, sendo um de cada propriedade. O aspecto do líquido articular variou de transparente em um cabrito a fibrinopurulenta e de coloração amarelada, em outro. No terceiro animal não foi possível realizar a coleta do líquido articular, apesar do inchaço. Neste animal, foi feita a coleta de suabe nasal.

As amostras após coleta foram acondicionadas em tubos estéreis contendo igual volume de solução glicerinada com 2000 UI/mL de penicilina e enviadas ao laboratório sob refrigeração. Alíquotas de 50 µL de cada amostra foi semeada em meio Hayflick modificado sólido e líquido e incubadas a 37°C em microaerofilia e os cultivos foram submetidos à reação em cadeia da polimerase (PCR) como descrito por Azevedo *et al.* (2006). As três amostras apresentaram colônias em forma de “ovo frito”, não degradaram a arginina, não fermentaram a glicose e foram positivos na PCR específica para *M. agalactiae*

Para pesquisa de anticorpos anti-*M. agalactiae* foi feita coleta de sangue venoso dos cabritos logo após o nascimento antes da primeira mamada e de suas respectivas matrizes utilizando tubos a vácuo, e foram enviadas ao laboratório para centrifugação e obtenção do soro. Após realização do teste imunoenzimático indireto foi constatado que os três cabritos foram negativos, mas as respectivas matrizes apresentavam altos títulos de anticorpos circulantes.

DISCUSSÃO

Embora possível, são poucos os relatos de infecção transplacentária por *Mycoplasma* spp em pequenos ruminantes. Bar-Moshe e Rapaport (1981) descreveram uma forma congênita de artrite purulenta proliferativa em cabritos atribuída a *M. mycoides* subsp. *Mycoides*, em Israel. Os autores observaram celulite difusa no local da inoculação, febre, poliartrite e morte de cabritos infectados experimental. Mais recentemente, Filioussis *et al.* (2011), relataram casos de poliartrite congênita em cabritos naturalmente infectados por *M. agalactiae* no Norte da Grécia.

No Brasil tem sido registrados casos de aborto em animais cronicamente infectados, nascimento de crias com sinais clínicos ou o aparecimento de sintomas característicos da enfermidade nos primeiros dias de vida (Azevedo *et al.*, 2006, Silva e Marinho, 2011). Entretanto, casos de nascimento de animais infectados pelo *M. agalactiae* e com sinais clínicos da AC com ausência de anticorpos circulantes ainda não havia sido descrito na literatura.

Em ruminantes ocorre o bloqueio total da passagem transplacentária de anticorpos, devido ao tipo de placenta presente na espécie, caracterizada como sindesmocorial pelo contato direto do epitélio coriônico com os tecidos uterinos, fazendo com que os neonatos nasçam hipo ou agamaglobulêmicos (Argüello, *et al.*, 2004; Lima, *et al.*, 2009), fato este que pode justificar a ausência de anticorpos anti-*M. agalactiae* nos cabritos estudados neste trabalho. Entretanto, segundo Cebra e Cebra (2005) os pequenos ruminantes nascem com linfócitos funcionais capazes de produzir imunoglobulinas endógenas, mesmo que em baixa intensidade. Essas células desenvolvem a capacidade de responder aos antígenos estranhos ao feto, dentro de aproximadamente 80 dias de gestação. Com isso, pressupõe-se que a infecção intra-uterina tenha ocorrido anterior a este período, não possibilitando o feto desenvolver uma resposta imune.

Segundo Madanat *et al.* (2001), fêmeas prenhes podem abortar devido à inflamação do útero ou podem dar origem a descendentes não-viáveis. Contudo, o nascimento de crias infectadas não tem sido registrado corriqueiramente, onde isto pode ser atribuído à dificuldade de acompanhamento dos partos e a disponibilidade de laboratórios qualificados para realização do diagnóstico de rotina.

É provável que nos casos descritos neste trabalho a infecção tenha ocorrido na fase inicial da gestação, levando a um quadro de tolerância imunológica, em função do período de formação do sistema imunológico. Entretanto, este mecanismo não está totalmente elucidado nos casos de infecção por *M. agalactiae*, precisando de mais estudos para este esclarecimento.

CONCLUSÃO

Diante do exposto, pode-se concluir que a infecção congênita por *M. agalactiae* pode resultar no nascimento de crias com sinais clínicos de agalaxia contagiosa e imunotolerantes.

AGRADECIMENTOS

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

REFERÊNCIAS

- ALCÂNTARA, M.D.B. *Soroprevalência da agalaxia contagiosa e vacinação experimental em caprinos*. 2010. 52f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB.
- ARGÜELLO, A.; CASTRO, N.; ZAMORANO, M.J. *et al.* Passive transfer of immunity in kid goats fed refrigerated and frozen goat colostrum and commercial sheep colostrum. *Small Rumin. Res.*, v.54, p.237-241, 2004.
- AZEVEDO, E.O.; ALCÂNTARA, M.D.B.; NASCIMENTO, E.R. *et al.* Contagious Agalactia by *Mycoplasma agalactiae* in small ruminants in Brazil: first report. *Braz. J. Microbiol.*, v.37, p.576-581, 2006.
- BAR-MOSHE, B.; RAPAPPORT, E. Observations on *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* infection in Saanen goats. *Isr. J. Med. Sci.*, v.17, p.537-539, 1981.
- CAMPOS, A.C.; TELES, J.A.A.; AZEVEDO, E.O. *et al.* ELISA protein G for the diagnostic of Contagious Agalactia in small ruminants. *Small Rumin. Res.*, v.84, p.70-75, 2009.
- CEBRA, C.; CEBRA, M. Enfermidades dos sistemas hematológico, imunológico e linfático (Doenças Multissistêmicas). In: PUGH, D.G. (Ed). *Clínica de ovinos e caprinos*. São Paulo: Roca, 2005. p.401-439.
- FILIOUSSIS, G.; GIADINIS, N.D.; PETRIDOU, E.J. *et al.* Congenital polyarthritis in goat kids attributed to *Mycoplasma agalactiae*. *Veterinary Record*, v.169, n.14, p.364, 2011.
- LIMA, A.L.; PAULETTI, P.; SUSIN, I.; MACHADO-NETO, R. Flutuação das variáveis séricas em cabras e estudo comparativo da absorção de anticorpos em cabritos recém-nascidos utilizando colostro bovino e caprino. *R. Bras. Zootec.*, v.38, n.11, p.2211-2217, 2009.
- MADANAT, A.; ZENDULKOVÁ, D.; POSPÍSIL, Z. Contagious agalactia of sheef and goats. A review. *Acta Vet. Brno.*, v.70, p.403-412, 2001.

NASCIMENTO, E.R.; BARRETO, M.L.; PLATENIK, M.O. *et al.* Contagious agalactia by *Mycoplasma agalactiae* in goats in Brazil. Etiologic study. In: Congress of International Organization for Mycoplasmaology (IOM), 14., 2002. Vienna. *Proceedings...* Vienna: [s.n.] 2002. p.45-46.

SILVA, N.S.; MARINHO, M.L.; ALMEIDA, A.P.; LUCENA, E.A. Avaliação clínica da eficácia do tratamento da agalaxia contagiosa dos ovinos e caprinos com bioterápico de *Mycoplasma agalactiae* em caprinos. In: Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Campina Grande, 7., 2010, Campina Grande, PB. *Anais...* Campina Grande: [s.n.], 2010.

SILVA, N.S.; MARINHO, M.L. Comparação entre a ação terapêutica do bioterápico de *Mycoplasma agalactiae* e tilosina/oxitetraciclina em caprinos com agalaxia contagiosa dos ovinos e caprinos. In: Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Campina Grande, 8., 2011, Campina Grande, PB. *Anais...* Campina Grande: [s.n.], 2011.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento da agalaxia contagiosa com bioterápico de *Mycoplasma agalactiae* é uma alternativa eficaz no controle dos sinais clínicos em animais naturalmente infectados.

A homeopatia mostrou-se uma alternativa viável, apresentando baixo custo, fácil administração e não oferece risco a saúde humana e animal, uma vez que, devido às características dos Mollicutes, poucas drogas são eficazes, necessitando com isso do uso prolongado e em doses elevadas de antimicrobianos para o controle dos sinais clínicos, acarretando em resistência bacteriana e custo elevado com o tratamento.

Animais positivos para agalaxia contagiosa podem dar origem a descendentes infectados com sinais clínicos e imunotolerantes.

É necessário mais estudos no intuito de esclarecer o envolvimento de outros agentes nos casos de agalaxia contagiosa diagnosticados no Brasil e a possível interação desses microrganismos. Bem como, elucidar o mecanismo da transmissão vertical, correlacionando com a fase gestacional.

ANEXOS

INSTRUÇÃO AOS AUTORES

O periódico **ARCHIVES OF VETERINARY SCIENCE** (AVS) é publicado trimestralmente, sob orientação do seu Corpo Editorial, com a finalidade de divulgar artigos completos e de revisão relacionados à ciência animal sobre os temas: clínica, cirurgia e patologia veterinária; sanidade animal e medicina veterinária preventiva; nutrição e alimentação animal; sistemas de produção animal e meio ambiente; reprodução e melhoramento genético animal; tecnologia de alimentos; economia e sociologia rural e métodos de investigação científica. A publicação dos artigos científicos dependerá da observância das normas editoriais e dos pareceres dos consultores “ad hoc”. Todos os pareceres têm caráter sigiloso e imparcial, e os conceitos e/ou patentes emitidos nos artigos, são de inteira responsabilidade dos autores, eximindo-se o periódico de quaisquer danos autorais. A submissão de artigos deve ser feita diretamente na página da revista (www.ser.ufpr.br/veterinary). Mais informações são fornecidas na seção “Informações sobre a revista”.

APRESENTAÇÃO DOS ARTIGOS

Para agilizar a tramitação e publicação de seu artigo, recomendamos fortemente que as normas sejam obedecidas, inclusive para as referências

1. Digitação: O artigo com no máximo vinte e cinco páginas deverá ser digitado em folha com tamanho A4 210 x 297 mm, com margens laterais direita, esquerda, superior e inferior de 2,5 cm. As páginas deverão ser numeradas de forma progressiva no canto superior direito. Deverá ser utilizado fonte arial 12 em espaço duplo; em uma coluna. Tabelas e Figuras com legendas serão inseridas diretamente no texto e não em folhas separadas.

2. Identificação dos autores e instituições (máximo 6 autores por artigo): Todos os dados referentes a autores devem ser inseridos exclusivamente nos metadados no momento da submissão online. Não deve haver nenhuma identificação dos autores no corpo do artigo enviado para a revista. Os autores devem inclusive remover a identificação de autoria do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista.

3. Tabelas: Devem ser numeradas em algarismo arábico seguido de hífen. O título será inserido na parte superior da tabela em caixa baixa (espaço simples) com ponto final. O recuo

da segunda linha deverá ocorrer sob a primeira letra do título. (Ex.: Tabela 1 – Título.). As abreviações devem ser descritas em notas no rodapé da tabela. Estas serão referenciadas por números sobrescritos (1,2,3). Quando couber, os cabeçalhos das colunas deverão possuir as unidades de medida. Tanto o título quanto as notas de rodapé devem fazer parte da tabela, inseridos em "linhas de tabela".

4. Figuras: Devem ser numeradas em algarismo arábico seguido de hífen. O título será inserido na parte inferior da figura em caixa baixa (espaço simples) com ponto final. O recuo da segunda linha deverá ocorrer sob a primeira letra do título (Ex.: Figura 1 – Título). As designações das variáveis X e Y devem ter iniciais maiúsculas e unidades entre parênteses. São admitidas apenas figuras em preto-e-branco. **Figuras coloridas terão as despesas de clicheria e impressão a cores pagas pelo autor.** Nesse caso deverá ser solicitada ao Editor (via ofício) a impressão a cores.

NORMAS EDITORIAIS

Artigo completo - Deverá ser inédito, escrito em idioma português (nomenclatura oficial) ou em inglês. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Material e Métodos; Resultados; Discussão; Conclusão; Agradecimento(s) (quando houver); Nota informando aprovação por Comitê de Ética (quando houver); Referências.

Artigo de Revisão - Os artigos de revisão deverão ser digitados seguindo a mesma norma do artigo científico e conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; Agradecimento(s) (quando houver); Referências. **A publicação de artigos de revisão fica condicionada à relevância do tema, mérito científico dos autores e disponibilidade da Revista para publicação de artigos de Revisão.**

ESTRUTURA DO ARTIGO

TÍTULO - em português, centralizado na página, e com letras maiúsculas. Logo abaixo, título em inglês, entre parêntesis e centralizado na página, com letras minúsculas e itálicas. Não deve ser precedido do termo título.

RESUMO - no máximo 1800 caracteres incluindo os espaços, em língua portuguesa. As informações devem ser precisas e sumarizar objetivos, material e métodos, resultados e

conclusões. O texto deve ser justificado e digitado em parágrafo único e espaço duplo. Deve ser precedido do termo “Resumo” em caixa alta e negrito.

PALAVRAS-CHAVE – inseridas abaixo do resumo. Máximo de cinco palavras em letras minúsculas, separadas por ponto-e-vírgula, em ordem alfabética, retiradas exclusivamente do artigo, não devem fazer parte do título, e alinhado a esquerda. Não deve conter ponto final. Deve ser precedido do termo “Palavras-chave” em caixa baixa e negrito.

ABSTRACT - deve ser redigido em inglês, refletindo fielmente o resumo e com no máximo 1800 caracteres. O texto deve ser justificado e digitado em espaço **duplo**, em parágrafo único. Deve ser precedido do termo “Abstract” em caixa alta e negrito.

KEY WORDS - inseridas abaixo do abstract. Máximo de cinco palavras em letras minúsculas, separadas por ponto-e-vírgula, em ordem alfabética, retiradas exclusivamente do artigo, não devem fazer parte do título em inglês, e alinhado a esquerda. Não precisam ser traduções exatas das palavras-chave e não deve conter ponto final. Deve ser precedido do termo “Key words” em caixa baixa e negrito.

INTRODUÇÃO – abrange também uma breve revisão de literatura e, ao final, os objetivos. O texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Introdução” (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda.

MATERIAL E MÉTODOS - o autor deverá ser preciso na descrição de novas metodologias e adaptações realizadas nas metodologias já consagradas na experimentação animal. Fornecer referência específica original para todos os procedimentos utilizados. Não usar nomes comerciais de produtos. O texto deverá iniciar sob a primeira letra do termo “Material e Métodos” (escrito em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda.

RESULTADOS (O item Resultados e o item Discussão podem ser apresentados juntos, na forma RESULTADOS e DISCUSSÃO, ou em itens separados)

o texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Resultados” (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda. Símbolos e unidades devem ser listados conforme os exemplos: Usar **36%**, e não 36 % (não usar espaço

entre o no e %); Usar **88 kg**, e não 88Kg (com espaço entre o no e kg, que deve vir em minúsculo); Usar **42 mL**, e não 42 ml (litro deve vir em L **maiúsculo**, conforme padronização internacional); Usar **25oC**, e não 25 oC (sem espaço entre o no e oC); Usar (**P<0,05**) e não (p < 0,05); Usar **r² = 0,89** e não r²=0,89; Nas tabelas inserir o valor da probabilidade como “valor de P”; Nas tabelas e texto utilizar média ± desvio padrão (15,0 ± 0,5). Devem ser evitadas abreviações não-consagradas, como por exemplo: “o T3 foi maior que o T4, que não diferiu do T5 e do T6”. Este tipo de redação é muito cômodo para o autor, mas é de difícil compreensão para o leitor. Escreva os resultados e apresente suporte com dados. Não seja redundante incluindo os mesmos dados ou resultados em tabelas ou figuras.

DISCUSSÃO - o texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Discussão” (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda. Apresente a sua interpretação dos seus dados. Mostre a relação entre fatos ou generalizações reveladas pelos seus resultados. Aponte exceções ou aspectos ainda não resolvidos. Mostre como os seus resultados ou interpretações concordam com trabalhos previamente publicados ou discordam deles, mas apresente apenas trabalhos originais, evitando citações de terceiros. Discuta os aspectos teóricos e/ou práticos do seu trabalho. Pequenas especulações podem ser interessantes, porém devem manter relação factual com os seus resultados. Afirmações tais como: "Atualmente nós estamos tentando resolver este problema..." não são aceitas. Referências a "dados não publicados" não são aceitas. Conclua sua discussão com uma curta afirmação sobre a significância dos seus resultados.

CONCLUSÕES - preferencialmente redigir a conclusão em parágrafo único, baseada nos objetivos. Devem se apresentar de forma clara e sem abreviações. O texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Conclusão” (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda.

AGRADECIMENTOS - os agradecimentos pelo apoio à pesquisa serão incluídos nesta seção. Seja breve nos seus agradecimentos. Não deve haver agradecimento a autores do trabalho. O texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Agradecimento” (escrita em caixa baixa).

NOTAS INFORMATIVAS - quando for o caso, antes das referências, deverá ser incluído parágrafo com informações e número de protocolo de aprovação da pesquisa pela Comissão

de Ética e ou Biossegurança. (quando a Comissão de Ética pertencer à própria instituição onde a pesquisa foi realizada, deverá constar apenas o número do protocolo).

REFERÊNCIAS - o texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Referências” (escrita em caixa alta e negrito). Omitir a palavra bibliográficas. Alinhada somente à esquerda. Usar como base as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT (NBR 10520 (NB 896) - 08/2002). Devem ser redigidas em página separada e ordenadas alfabeticamente pelo(s) sobrenome(s) do(s) autor(es). Os destaques deverão ser em NEGRITO e os nomes científicos, em ITÁLICO. NÃO ABREVIAR O TÍTULO DOS PERIÓDICOS. Indica-se o(s) autor(es) com entrada pelo último sobrenome seguido do(s) prenome(s) abreviado (s), exceto para nomes de origem espanhola, em que entram os dois últimos sobrenomes. Mencionam-se os autores separados por ponto e vírgula. Digitá-las em espaço simples e formatá-las segundo as seguintes instruções: no menu FORMATAR, escolha a opção PARÁGRAFO... ESPAÇAMENTO...ANTES...6 pts.**Exemplo de como referenciar:**

ARTIGOS DE PERIÓDICOS:

(citar os 3 primeiros autores seguido de "et al.")

JOCHLE, W.; LAMOND, D.R.; ANDERSEN, A.C. et al. Mestranol as an abortifacient in the bitch. *Theriogenology*, v.4, n.1, p.1-9, 1975.

Livros e capítulos de livro. Os elementos essenciais são: autor(es), título e subtítulo (se houver), seguidos da expressão "In:", e da referência completa como um todo. No final da referência, deve-se informar a paginação. Quando a editora não é identificada, deve-se indicar a expressão *sine nomine*, abreviada, entre colchetes [s.n.]. Quando o editor e local não puderem ser indicados na publicação, utilizam-se ambas as expressões, abreviadas, e entre colchetes [S.I.: s.n.].

REFERÊNCIA DE LIVROS (*in totum*):

BICHARD, S.J.; SHERDING, R.G. **Small animal practice**. Philadelphia : W.B. Saunders, 1997. 1467 p.

REFERÊNCIA DE PARTES DE LIVROS: (Capítulo com autoria)

SMITH, M. Anestrus, pseudopregnancy and cystic follicles. In: MORROW, D.A. **Current Therapy in Theriogenology**. 2.ed. Philadelphia : W.B. Saunders, 1986, Cap.x, p.585-586.

REFERÊNCIA DE PARTES DE LIVROS: (Capítulo sem autoria)

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4., p.72-90.

OBRAS DE RESPONSABILIDADE DE UMA ENTIDADE COLETIVA: A entidade é tida como autora e deve ser escrita por extenso, acompanhada por sua respectiva abreviatura. No texto, é citada somente a abreviatura correspondente. Quando a editora é a mesma instituição responsável pela autoria e já tiver sido mencionada, não é indicada.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995. 1025p.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **Sistema de análises estatísticas e genéticas - SAEG**. Versão 8.0. Viçosa, MG, 2000. 142p.

REFERÊNCIA DE TESE/DISSERTAÇÃO/MONOGRAFIA:

BACILA, M. **Contribuição ao estudo do metabolismo glicídico em eritrócitos de animais domésticos**. 1989. Curitiba, 77f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná.

REFERÊNCIA DE PUBLICAÇÕES EM CONGRESSOS:

KOZICKI, L.E.; SHIBATA, F.K. Perfil de progesterona em vacas leiteiras no período do puerpério, determinado pelo radioimunoensaio (RIA). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, XXIV., 1996, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Sociedade Goiana de Veterinária, 1996, p. 106-107.

RESTLE, J.; SOUZA, E.V.T.; NUCCI, E.P.D. et al. Performance of cattle and buffalo fed with different sources of roughage. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4., 1994, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: Associação Brasileira dos Criadores de Búfalos, 1994. p.301-303.

REFERÊNCIA DE ARTIGOS DE PERIÓDICOS ELETRÔNICOS: Quando se tratar de obras consultadas *on-line*, são essenciais as informações sobre o endereço eletrônico, apresentado entre os sinais <>, precedido da expressão “Disponível em: xx/xx/xxxx” e a data de acesso do documento, precedida da expressão “Acesso em: xx/xx/xxxx.”

PRADA, F.; MENDONÇA Jr., C. X.; CARCIOFI, A. C. [1998]. Concentração de cobre e molibdênio em algumas plantas forrageiras do Estado do Mato Grosso do Sul. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.35, n.6, 1998. Disponível em: <http://www.scielo.br/> Acesso em: 05/09/2000.

MÜELLER, Suzana Pinheiro Machado. A comunicação científica e o movimento de acesso livre ao conhecimento. *Ciência da Informação*, Brasília, v. 35, n. 2, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-19652006000200004&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 13/05/2007.

REBOLLAR, P.G.; BLAS, C. [2002]. **Digestión de la soja integral em ruminantes.** Disponível em: http://www.ussoymeal.org/ruminant_s.pdf. Acesso em: 12/10/2002.

SILVA, R.N.; OLIVEIRA, R. [1996]. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URPe, 4., 1996, Recife. **Anais eletrônico...** Recife: Universidade Federal do Pernambuco, 1996. Disponível em: <http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais.htm>> Acesso em: 21/01/1997.

CITAÇÃO DE TRABALHOS PUBLICADOS EM CD ROM: Na citação de material bibliográfico publicado em CD ROM, o autor deve proceder como o exemplo abaixo:

EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Avaliação de cultivares de *Panicum maximum* em pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** São Paulo: Gmosis, 1999, 17par. CD-ROM. Forragicultura. Avaliação com animais. FOR-020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE INFORMAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA. **Bases de dados em Ciência e Tecnologia**. Brasília, n. 1, 1996. CD-ROM.

E.mail Autor, < e-mail do autor. “Assunto”, Data de postagem, e-mail pessoal, (data da leitura)

Web Site Autor [se conhecido], “Título”(título principal, se aplicável), última data da revisão [se conhecida], < URL (data que foi acessado)

FTPAutor [se conhecido] “Título do documento”(Data da publicação) [se disponível], Endereço FTP (data que foi acessado)

CITAÇÕES NO TEXTO: As citações no texto deverão ser feitas em caixa baixa. Quando se tratar de dois autores, ambos devem ser citados, seguido apenas do ano da publicação; três ou mais autores, citar o sobrenome do primeiro autor seguido de et al. obedecendo aos exemplos abaixo:

Silva e Oliveira (1999)

Schmidt et al. (1999)

(Silva et al., 2000)

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (*Brazilian Journal of Veterinary and Animal Sciences*)

Política Editorial

O periódico *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science)*, ISSN 0102-0935 (impresso) e 1678-4162 (on-line), é editado pela FEPMVZ Editora, CNPJ: 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de artigos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal, aquacultura e áreas afins.

Os artigos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). Os artigos cujos textos necessitem de revisões ou correções serão devolvidos aos autores. Os aceitos para publicação tornam-se propriedade do Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (ABMVZ) citado como *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclusiva ao ABMVZ.

Reprodução de artigos publicados

A reprodução de qualquer artigo publicado é permitida desde que seja corretamente referenciado. Não é permitido o uso comercial dos resultados.

A submissão e tramitação dos artigos é feita exclusivamente on-line, no endereço eletrônico <www.abmvz.org.br>.

Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis nos endereços www.scielo.br/abmvz ou www.abmvz.org.br.

Orientação para tramitação de artigos

- Toda a tramitação dos artigos é feita exclusivamente pelo Sistema de publicação on-line do ABMVZ no endereço www.abmvz.org.br.
- Apenas o autor responsável pelo artigo deverá preencher a ficha de submissão, sendo necessário o cadastro do mesmo no Sistema.
- Toda comunicação entre os diversos atores do processo de avaliação e publicação (autores, revisores e editores) será feita exclusivamente de forma eletrônica pelo Sistema, sendo o autor responsável pelo artigo informado, automaticamente, por e-mail, sobre qualquer mudança de status do artigo.
- A submissão só se completa quando anexado o texto do artigo em Word e em pdf no campo apropriado.
- Fotografias, desenhos e gravuras devem ser inseridas no texto e também enviadas, em separado, em arquivo com extensão jpg em alta qualidade (mínimo 300dpi), zipado, inserido no campo próprio.
- Tabelas e gráficos não se enquadram no campo de arquivo zipado, devendo ser inseridas no corpo do artigo.
- É de exclusiva responsabilidade de quem submete o artigo certificar-se de que cada um dos autores tenha conhecimento e concorde com a inclusão de seu nome no mesmo submetido.
- O ABMVZ comunicará, via eletrônica, a cada autor, a sua participação no artigo. Caso pelo menos um dos autores não concorde com sua participação como autor, o artigo será considerado como desistência de um dos autores e sua tramitação encerrada.

Tipos de artigos aceitos para publicação:

▪ Artigo científico

É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Filiação, Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão), Conclusões, Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a 15, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 30.

▪ Relato de caso

Contempla principalmente as áreas médicas, em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Filiação, Resumo, Abstract, Introdução, Casuística, Discussão e Conclusões (quando pertinentes), Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a 10, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

▪ Comunicação

É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental, dignos de publicação, embora insuficientes ou inconsistentes para constituírem um artigo científico.

O texto, com título em português e em inglês, Autores e Filiação deve ser compacto, sem distinção das seções do texto especificadas para “Artigo científico”, embora seguindo aquela ordem. Quando a Comunicação for redigida em português deve conter um “Abstract” e quando redigida em inglês deve conter um “Resumo”.

O número de páginas não deve exceder a 8, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

Preparação dos textos para publicação

Os artigos devem ser redigidos em português ou inglês, na forma impessoal. Para ortografia em inglês recomenda-se o *Webster's Third New International Dictionary*. Para ortografia em português adota-se o *Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa*, da Academia Brasileira de Letras.

Formatação do texto

- O texto **NÃO** deve conter subitens em qualquer das seções do artigo e deve ser apresentado em Microsoft Word, em formato A4, com margem 3cm (superior, inferior, direita e esquerda), em fonte Times New Roman tamanho 12 e em espaçamento entrelinhas 1,5, em todas as páginas e seções do artigo (do título às referências), com linhas numeradas.

- Não usar rodapé. Referências a empresas e produtos, por exemplo, devem vir, obrigatoriamente, entre parêntesis no corpo do texto na seguinte ordem: nome do produto, substância, empresa e país.

Seções de um artigo

- **Título.** Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e não ultrapassar 150 dígitos.

▪ **Autores e Filiação.** Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com identificação da instituição a que pertencem. O autor para correspondência e seu e-mail devem ser indicados com asterisco.

Nota:

1. o texto do artigo em Word deve conter o nome dos autores e filiação.

2. o texto do artigo em pdf **NÃO** deve conter o nome dos autores e filiação.

▪ **Resumo e Abstract.** Deve ser o mesmo apresentado no cadastro contendo até 2000 dígitos incluindo os espaços, em um só parágrafo. Não repetir o título e não acrescentar revisão de literatura. Incluir os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-los, quando for o caso. Cada frase deve conter uma informação. Atenção especial às conclusões.

▪ **Palavras-chave e Keywords.** No máximo cinco.

▪ **Introdução.** Explanação concisa, na qual são estabelecidos brevemente o problema, sua pertinência e relevância e os objetivos do trabalho. Deve conter poucas referências, suficientes para balizá-la.

▪ **Material e Métodos.** Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Nos trabalhos que envolvam animais e/ou organismos geneticamente modificados deverá constar, obrigatoriamente, o número do protocolo de aprovação do Comitê de Bioética e/ou de Biossegurança, quando for o caso.

▪ **Resultados.** Apresentar clara e objetivamente os resultados encontrados.

▪ **Tabela.** Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela. O título da tabela recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Tabela 1.). No texto a tabela deve ser referida como Tab seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Tab. 1), mesmo quando se referir a várias tabelas (ex.: Tab. 1, 2 e 3). Pode ser apresentada em espaçamento simples e fonte de tamanho menor que 12 (o menor tamanho aceito é 8). A legenda da Tabela deve conter apenas o indispensável para o seu entendimento. As tabelas devem ser, obrigatoriamente, inseridas no corpo do texto preferencialmente após a sua primeira citação.

▪ **Figura.** Compreende qualquer ilustração que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema, etc. A legenda recebe inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Figura 1.) e é referida no texto como Fig seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Fig.1), mesmo se referir a mais de uma figura (ex.: Fig. 1, 2 e 3). Além de inseridas no corpo do texto, fotografias e desenhos devem também ser enviadas no formato jpg com alta qualidade, em um arquivo zipado, anexado no campo próprio de submissão na tela de registro do artigo. As figuras devem ser, obrigatoriamente, inseridas no corpo do texto preferencialmente após a sua primeira citação.

Nota:

▪ Toda tabela e/ou figura que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, informação sobre a fonte (autor, autorização de uso, data) e a correspondente referência deve figurar nas Referências.

▪ **Discussão.** Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. (Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto a juízo do autor, sem prejudicar qualquer das partes e sem subitens).

▪ **Conclusões.** As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada e serem apresentadas de forma objetiva, **SEM** revisão de literatura, discussão, repetição de resultados e especulações.

▪ **Agradecimentos.** Não obrigatório. Devem ser concisamente expressados.

▪ **Referências.** As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, dando-se preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. Livros e teses devem ser referenciados o mínimo possível, portanto, somente quando indispensáveis. São adotadas as normas gerais ABNT, **adaptadas** para o ABMVZ conforme exemplos:

Como referenciar:

1. Citações no texto

- A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:
 - autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88)
 - dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974)
 - mais de dois autores: (Ferguson *et al.*, 1979) ou Ferguson *et al.* (1979)
 - mais de um artigo citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson *et al.* (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson *et al.*, 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para artigos do mesmo ano.
- *Citação de citação.* Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão **citado por** e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Nas Referências, deve-se incluir apenas a fonte consultada.
- *Comunicação pessoal.* Não fazem parte das Referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

2. Periódicos (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores *et al.*):

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.

3. Publicação avulsa (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores *et al.*):

DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. *Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte*. 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

4. Documentos eletrônicos (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores *et al.*):

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critical6.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. Miami Herald, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerald-Summit-RelatedArticles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.

Nota:

- Artigos que não estejam rigorosamente dentro das normas acima não serão aceitos para avaliação.
- O Sistema reconhece, automaticamente, como “Desistência do Autor” artigos em diligência e/ou “Aguardando liberação do autor”, que não tenha sido respondido no prazo dado pelo Sistema.

Taxas de submissão e de publicação:

- **Taxa de submissão.** A taxa de submissão de R\$50,00 deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico de submissão de artigos. Ao solicitar o boleto bancário, o autor informará os dados para emissão da nota fiscal. Somente artigos com taxa paga de submissão serão avaliados.

Caso a taxa não seja quitada em até 30 dias será considerado como desistência do autor.

- **Taxa de publicação.** A taxa de publicação de R\$95,00, por página impressa em preto e R\$280,00 por página impressa em cores será cobrada do autor indicado para correspondência, por ocasião da prova final do artigo. A taxa de publicação deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico de submissão de artigos. Ao solicitar o boleto bancário, o autor informará os dados para emissão da nota fiscal.

Recursos e diligências:

- No caso de o autor encaminhar resposta a diligências solicitadas pelo ABMVZ, ou documento de recurso, o mesmo deverá constar como a(s) primeira(s) página(s) do texto do artigo somente na versão em Word.
- No caso de artigo não aceito, se o autor julgar pertinente encaminhar recurso, o mesmo deve ser feito pelo e-mail abmvz.artigo@abmvz.org.br.