

**COMPARAÇÃO DA REAÇÃO TECIDUAL ENTRE FIOS DE SUTURA
ABSORVÍVEL E NÃO ABSORVÍVEL NA LIMBOTOMIA
EXPERIMENTAL EM COELHOS (*Oryctolagus cuniculi*).**

RAÍSSA OLIVEIRA LIMA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MAIO DE 2009

**COMPARAÇÃO DA REAÇÃO TECIDUAL ENTRE FIOS DE SUTURA
ABSORVÍVEL E NÃO ABSORVÍVEL NA LIMBOTOMIA
EXPERIMENTAL EM COELHOS (*Oryctolagus cuniculi*).**

RAÍSSA OLIVEIRA LIMA

**Dissertação apresentada ao Centro de
Ciências e Tecnologias Agropecuárias da
Universidade Estadual do Norte
Fluminense Darcy Ribeiro, como parte
das exigências para obtenção do Título
de Mestre em Ciência Animal.**

Orientador: Prof. DR. CLÁUDIO BAPTISTA DE CARVALHO

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MAIO DE 2009**

**COMPARAÇÃO DA REAÇÃO TECIDUAL ENTRE FIOS DE SUTURA
ABSORVÍVEL E NÃO ABSORVÍVEL NA LIMBOTOMIA
EXPERIMENTAL EM COELHOS (*Oryctolagus cuniculi*).**

RAÍSSA OLIVEIRA LIMA

**Dissertação apresentada ao Centro de
Ciências e Tecnologias Agropecuárias da
Universidade Estadual do Norte
Fluminense Darcy Ribeiro, como parte
das exigências para obtenção do Título
de Mestre em Ciência Animal.**

Aprovado em XX de Maio de 2009

Comissão Examinadora:

Prof. Ana Maria Barros Soares (D.sc. XXXXXXXXXXX) – UFF

Prof. Eulógio Carlos Queiróz de Carvalho (D.sc. XXXXXXX) - UENF

Prof. André Lacerda de Abreu Oliveira (D.sc. XXXXXXXXXXX) - UENF

Prof. Cláudio Baptista de Carvalho. (D.sc. XXXXXXX) – UENF (Orientador)

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus por ter guiado firmemente os meus passos e apontado o caminho da verdade todos os momentos da minha vida.

Aos meus familiares pelo apoio incondicional a todas as decisões tomadas por mim no intuito de buscar a minha realização pessoal e profissional e por me indicarem o caminho simples para a felicidade.

A Maria de Fátima (mãe) pelo infinito amor, confiança, companheirismo, apoio...

Ao Manuel por me amar apesar de todas as falhas, por me apoiar, apesar de alguns planos sem fundamento, por estar ao meu lado na alegria e na tristeza, na saúde e na doença... Enfim, por existir na minha vida.

À UENF e ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao professor Cláudio Baptista de Carvalho por me deixar superar expectativas, por me fazer enxergar ser capaz de ir muito além. E também pela, orientação, paciência e confiança.

Aos colegas de trabalho no Hospital veterinário especialmente a Marília e Evaldo pela amizade e por toda a ajuda durante o período do mestrado.

À colega Carla Salavessa pela ultrassonografia dos animais as altas horas da noite, pela amizade e pelo apoio para conclusão do experimento.

À colega Melissa Petrucci pelas orientações e pelos consolos durante todo o período

À professora Fernanda Antunes por me incentivar e me fazer lutar pelos meus ideais e obviamente pelas anestésias procedidas com sucesso.

À Professora Marinete por ter acreditado e ter dado incentivo para me tornar pesquisadora desde a graduação.

Por fim agradeço aos animais por todo o aprendizado.

OBRIGADO.

BIOGRAFIA

Raissa Oliveira Lima, filha de XXXXXXXX e XXXXXXXX, nasceu em 13 de abril de 1982, na cidade de Niterói - RJ.

Em março de XXXX, iniciou o curso de Medicina Veterinária na Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), em Campos dos Goytacazes – RJ, onde colou grau em XX de XXX de 200XX.

Trabalhou em XXXXX

Foi admitida em Março de 200XX no curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Mestrado, na área de XXXXXXXX da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), em Campos dos Goytacazes – RJ, submetendo-se à defesa de tese e conclusão do curso em maio de 2009.

RESUMO

LIMA, R. O., M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Fevereiro de 2009; *Comparação da reação tecidual entre fios de sutura absorvível e não absorvível na limbotomia experimental em coelhos (*Oryctolagus cuniculi*)*.

Professor Orientador: Cláudio Baptista de Carvalho.

A utilização de fios de sutura é rotineira na oftalmologia veterinária, seja para a reparação de lesões oculares ou para correção de doenças. Os fios disponíveis no mercado apresentam características físicas e composição química distintas. Diante disso, o presente trabalho teve por objetivo comparar o fio absorvível multifilamentar (ácido poliglicólico) e não absorvível monofilamentar (nylon), quanto à recuperação da ferida cirúrgica no limbo de coelhos. Foi realizada a descrição e classificação do grau das alterações clínicas e histopatológicas, bem como do comportamento das variáveis analisadas no decorrer do tempo. Para tal, foi realizada uma abertura no limbo de 15 coelhos, machos, num arco de 120° na parte superior central do globo ocular e foram posteriormente suturados: olho direito com nylon monofilamentar 10-0 e olho esquerdo com ácido poliglicólico 8-0. Foi realizada avaliação diária dos seguintes padrões clínicos: congestão, tumefação conjuntival, “aqueous flare” e vascularização conjuntival, computados num escore de 0 a 4, sendo 0 a normalidade e 4 o grau mais grave das alterações. Os padrões clínicos foram analisados até os 7, 14 e 21 dias, período em que foram submetidos a eutanásia. O teste lacrimal de Schirmer foi realizado diariamente e o teste de fluoresceína foi realizado *pré mortem*. Após a retirada, fixação e clivagem dos olhos, foi feita observação sob microscopia

óptica para a quantificação de células, número de camadas epiteliais e vasos sanguíneos. Os resultados mostraram diferença entre os materiais apenas para a tumefação conjuntival. Houve aumento da secreção lacrimal medida pelo teste lacrimal de Schirmer durante o período estudado. Bem como, diminuição do “aqueous flare” a partir do terceiro dia de estudo, até atingir a normalidade. Todos os animais apresentaram resultado positivo ao teste de fluoresceína. Na análise histopatológica houve diminuição da celularidade conforme o passar do tempo para ambos os tratamentos. Assim, conclui-se que o uso dos fios estudados resulta em recuperação similar da ferida cirúrgica nos primeiros 21 dias de pós-operatório.

Palavras-chaves: Coelhos, Fio absorvível, Fio não-absorvível, Histopatologia

ABSTRACT

LIMA, R.O., M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; 2009 May; *Comparação da reação tecidual entre fios de sutura absorvível e não absorvível na limbotomia experimental em coelhos (**Oryctolagus cuniculi**)*.

Professor adviser: Cláudio Baptista de Carvalho.

The suture is frequently used to repair wounds and diseases in medicine. It exist many kinds of structures with different qualities and compositions. This paper main evaluate nylon and PGA in surgery wound repair in rabbit limbus. The clinical classification and histopathological description was made while they were changed. The characteristic of those changes was already describing in the study time. For the realization of this study, it was made a 120o wound surgery in superior limbus of 30 eyes in 25 rabbits. The right eyes were sutured with nylon 10-0 and the left eyes with poliglicolic acid (PGA) 8-0. Diary it were made scores (0-4) of congestion, quemosis, aqueous flare, and vascularization. This score was made from day 1 to days 7, 14 and 21 when animal were death. Diary was taken the value of tear Schirmer test. The fluorescein test was realized pre mortem. The eyes were taken off and the numbers of epithelial layer, total of cells and vases were counted with optical microscopy. The results show differences between the treatments only for quemosis. It is a crescent tear production and a decreased aqueous flare score on the studied time. In the histopathologic analyses there aren't differences for the treatments, but the number of cells decreases in the studied time. The used of both material of suture produced similar wound surgical reparation in the firsts 21 days.

Key words: absorbable, non absorbable, rabbit, histopathology.

SUMÁRIO

| | |
|---|------|
| LISTA DE FIGURAS | VI |
| LISTA DE TABELAS | VII |
| RESUMO | VIII |
| ABSTRACT | IX |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. OBJETIVOS | 2 |
| 2.1. <i>Objetivos Gerais</i> | 2 |
| 2.2. <i>Objetivos específicos</i> | 2 |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA | 3 |
| 3.1 <i>Considerações Anatômicas e fisiológicas</i> | 3 |
| 3.1.1. <i>O filme lacrimais e as defesas naturais</i> | 3 |
| 3.1.2. <i>A córnea</i> | 4 |
| 3.1.3. <i>O limbo</i> | 5 |
| 3.1.3.1. <i>Deficiências de células do limbo</i> | 6 |
| 3.1.4. <i>Histologia do globo ocular</i> | 6 |
| 3.1.5. <i>Particularidades anatômicas dos coelhos</i> | 7 |
| 3.2. <i>Modelos experimentais</i> | 8 |
| 3.3. <i>Intervenções cirúrgicas</i> | 8 |
| 3.4. <i>Fios de sutura</i> | 10 |
| 3.5. <i>Mecanismo da resposta inflamatória ocular</i> | 12 |

| | |
|---|-----------|
| 4. MATERIAL E MÉTODOS | 14 |
| 4.1. Animais | 14 |
| 4.2. Ambiente experimental | 14 |
| 4.3. Exame Oftalmológico pré-operatório | 15 |
| 4.4. Protocolo Anestésico | 15 |
| 4.5. Procedimento cirúrgico | 16 |
| 4.6. Pós-operatório | 18 |
| 4.7. Divisão em subgrupos | 18 |
| 4.8. Exame oftalmológico pós operatório | 19 |
| 4.9. Variáveis analisadas | 19 |
| 4.10. Eutanásia | 19 |
| 4.11. Avaliação histopatológica | 22 |
| 4.12. Análise estatística | 23 |
| 5. RESULTADOS | 24 |
| 5.1 Padrões clínicos | 24 |
| 5.2 Padrões histopatológicos | 26 |
| 6. DISCUSSÃO | 28 |
| 6.1. Manipulação cirúrgica | 28 |
| 6.2. Fios de sutura | 28 |
| 6.3. Alterações clínicas | 28 |
| 6.3.1. Tratamento X Quemose | 29 |
| 6.3.2. “Aqueous flare” X tempo | 29 |
| 6.3.3. Produção lacrimal X tempo | 29 |
| 6.4. Alteração no teste de fluoresceína | 30 |
| 6.5. Alterações histopatológicas | 30 |
| 6.5.1. Celularidade X tempo | 31 |
| 7. CONCLUSÕES | 32 |
| 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 33 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 1- AMBIENTE EXPERIMENTAL..... | 15 |
| FIGURA 2- INCISÃO CIRÚRGICA..... | 17 |
| FIGURA 3- ABERTURA DO LIMBO..... | 17 |
| FIGURA 4- FECHAMENTO DA FERIDA CIRÚRGICA..... | 18 |
| FIGURA 5- FIXAÇÃO DO GLOBO OCULAR- SEGMENTO ANTERIOR (5A) E SEGMENTO POSTERIOR (5B)..... | 22 |
| FIGURA 6- TUMEFAÇÃO CONJUNTIVAL X TRATAMENTO..... | 24 |
| FIGURA 7- “AQUEOUS FLARE” X TEMPO..... | 25 |
| FIGURA 8- PRODUÇÃO LACRIMAL X TEMPO..... | 25 |
| FIGURA 9- CELULARIDADE X TEMPO..... | 27 |

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- ESCALA DAS ALTERAÇÕES CLÍNICAS21 e 22

TABELA 2- CORRELAÇÃO DOS DADOS.....26

1. INTRODUÇÃO

As pesquisas em oftalmologia veterinária apresentam-se atualmente em destacada ascensão. Pesquisas laboratoriais têm sido conduzidas visando à introdução e o desenvolvimento de inovações nos tratamentos das afecções oftálmicas rotineiramente relatadas pelos profissionais clínicos veterinários.

Muitos são os procedimentos que necessitam de intervenção cirúrgica na oftalmologia veterinária. Para que se possa atingir um bom resultado, a adequada esterilização dos materiais, a capacitação do profissional, bem como a apropriada escolha da técnica operatória, se fazem necessárias para o sucesso em qualquer procedimento cirúrgico.

Distúrbios como lacerações corneanas, ceratites ulcerativas recidivantes, úlceras em “melting” e descemetoceloses, bem como presença de corpo estranho na córnea, seqüestro de córnea, ceratopatia bolhosa e catarata, são exemplos de situações que necessitam de intervenções cirúrgicas. As técnicas a serem utilizadas são as mais variadas, no entanto para todas é necessário um bom fechamento da ferida cirúrgica.

A escolha do material para o fechamento da ferida ocular é feita a critério do cirurgião, sendo frequentemente utilizado o fio não absorvível monofilamentar (nylon) devido ao menor custo em relação aos outros materiais e à tendência a promover menores reações teciduais que outros fios não absorvíveis. Outras possibilidades aceitáveis para reparação da lesão cirúrgica são os fios absorvíveis que dispensam a retirada dos pontos de sutura. Geralmente o tamanho do fio utilizado é de 8-0 a

10-0, as suturas são realizadas em padrão simples ou duplo e comumente com o sepultamento do nó.

Tendo em vista que a escolha do fio e o conhecimento das características de cada material de sutura são extremamente importantes para o sucesso da técnica. O presente trabalho propõe avaliar as principais vantagens e desvantagens dos fios de sutura utilizados na oftalmologia veterinária e humana para o fechamento das feridas cirúrgicas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Dentre os materiais estudados (Nylon monofilamentar 10-0 e Ácido Poliglicólico 8-0) avaliar qual fio de sutura promove uma melhor reparação da ferida cirúrgica no limbo de coelhos.

2.2. Objetivos específicos

Descrever e classificar o grau das alterações oculares para cada tratamento;

Avaliar o grau cronológico das alterações encontradas;

Verificar as alterações histopatológicas da córnea, limbo e esclera em relação a cada material de sutura utilizado, 7, 14 e 21 dias após o procedimento cirúrgico.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Considerações anatômicas e Fisiológicas

3.1.1. Ofilme lacrimal e as defesas naturais

O filme lacrimal pré-corneano é a camada anterior ao epitélio da córnea com importante papel na prevenção de infecções bacterianas devido ao constante movimento das pálpebras que drenam a lágrima, e assim prevenindo a aderência de organismos e removendo agentes potencialmente infecciosos e toxinas (GERDING e KAKOMA, 1990). As principais funções do filme lacrimal são: manter a superfície ocular lisa para a refração da luz, lubrificar a conjuntiva e a córnea, fornecer nutrientes para a córnea e os metabólitos da superfície ocular, carrear células sanguíneas brancas que terão acesso à córnea e conjuntiva, remover materiais estranhos da córnea e conjuntiva e defender a superfície ocular de patógenos via substâncias antibacterianas específicas (Imunoglobulina A (IGA), Imunoglobulina G (IgG) e Imunoglobulina M (IgM)) e não específicas (lisozimas, lactoferrinas, α -lisina e proteínas complexas) (DAVIDSON e KUONEN, 2004).

A lisozima é secretada pela glândula lacrimal e é considerada a primeira linha de defesa ao patógeno ocular. Esta substância causa bacteriólise e possui propriedades antifúngicas (REPASKE, 1956; BRON e SEAL, 1986). A lactoferrina é secretada pelas glândulas lacrimais, possui a capacidade de se ligar a dois átomos

de ferro, assim privando o ferro essencial para o crescimento e metabolismo bacteriano. A α -lisina causa ruptura da membrana celular por mecanismos de ação ainda desconhecidos, assim eliminando os microorganismos (DAVIDSON e KUONEN, 2004).

As substâncias antimicrobianas específicas na lágrima incluem a IgA, IgG e IgM. A IgA é considerada a imunoglobulina primária do filme lacrimal, sua secreção é regulada por hormônios, fatores imunes e respostas neurais (SULLIVAN, 2000). A IgA protege o olho de infecções virais, ataque e colonização bacteriana e infestações parasitárias (SULLIVAN, 2000). A IgG é presente em baixa concentração na lágrima, sua concentração aumenta durante a inflamação, pois participa da fagocitose e lise bacteriana mediada por complemento (BRON e SEAL, 1986). Pouco se sabe sobre a função da IgM e esta apresenta-se em muito baixa concentração na lágrima (GERMAN et al., 1998).

A camada mucosa é responsável pela secreção da mucina ocular. Esta mucina estabiliza o filme lacrimal, provê uma superfície refrativa lisa sobre a córnea, além de lubrificar e prevenir a contaminação bacteriana da córnea e conjuntiva (DAVIDSON e KUONEN, 2004).

3.1.2. A córnea

A córnea é a porção anterior transparente e avascular do globo ocular, limitada externamente pelo epitélio e internamente pelo endotélio (SLATER e HAKANSON, 1998; OLLIVER, 2003). Esta importante estrutura cumpre funções de absorção dos raios luminosos incidentes contribuindo para a captação de luz pelos fotorreceptores da retina (ANDRADE e LAUS, 1998), sendo fundamental sua integridade para o processo de formação das imagens.

O estroma corneano, também chamado de lamela, constitui cerca de 90% da espessura da córnea (HOFFMAN, 1972). Esta camada apresenta fibroblastos especializados, que são responsáveis pela manutenção do colágeno estromal. As fibras de colágeno apresentam diâmetro uniforme, os feixes são arranjados na lamela paralelamente e se cruzam organizadamente entre si. O alto arranjo regular do colágeno em combinação com o epitélio anterior liso e o filme lacrimal, a

ausência de vasos sanguíneos e relativa hidratação conferem à córnea claridade óptica (HERRING, 2003).

Uma hidratação estável da córnea é determinada principalmente por um mecanismo de bomba no endotélio. A córnea é relativamente “desidratada”, quando o endotélio é lesado, aumentando sua espessura 3-4 vezes. Quando há lesão epitelial, a espessura pode dobrar e o edema é restrito a essa área. A absorção de água também distorce a regularidade das fibrilas, resultando em opacidade irregular e uma superfície ondulada. Em razão da ausência de vasos na córnea, o recebimento de nutrientes e a remoção de impurezas ocorrem no limbo via filme lacrimal e humor aquoso (ÜBERREITER., 1961).

A córnea é provida com uma rede de nervos (ramos sensitivos não mielinizados do nervo ciliar longo, que é um ramo da divisão oftálmica do nervo trigêmeo) que passam para o estroma da esclera. Pequenos ramos, não tendo nem bainha de mielina, nem células de Schwann, penetram entre as células epiteliais (RASK et al., 1980).

3.1.3. O limbo

O limbo é a zona de transição entre a córnea e a esclera. Esta estrutura apresenta-se mais espessa que o centro da córnea em algumas espécies animais como os felinos e eqüinos (SLATTER, 2005). Muitos estudos vêm sendo realizados com o objetivo de revelar as funções das células presentes no limbo. Atualmente, é aceito que o epitélio do limbo seja o sítio originário das células do epitélio corneano após injúria (LEVKER et al., 2004).

A microscopia eletrônica tem falhado em revelar o limite das fibras de colágeno, então, tem sido suposto que as fibras atravessem os limites da córnea, fundindo-se com as fibras de colágeno do limbo ou continuando pela esclera (MEEK e BOOTE, 2004)

Estudos mais recentes com as células do limbo questionam o conceito clássico de “transdiferenciação conjuntival” proposto por Friedenwald na década de 50. Quando as células epiteliais corneanas e conjuntivais são submetidas a condições ambientais de crescimentos iguais (*in vitro* e *in vivo*), estas apresentam

comportamentos diferenciados (CHO et al., 1999; WU et al., 1994). Wei e colaboradores, (1993) mostraram que culturas de células epiteliais da córnea e do limbo sintetizam queratina K3 e K12 “específicas da córnea”, enquanto as células do epitélio da conjuntiva palpebral, forniceal e bulbar, submetidas às mesmas condições de crescimento não sintetizam estas queratinas.

A migração das células após injúria do epitélio corneano ocorre centripetamente (do limbo para o centro da córnea), no entanto, o mecanismo que gera esta migração organizada permanece incerto. Segundo especulações de Levker e colaboradores, (2004) as células epiteliais periféricas da córnea (limbo), sendo apresentadas como células jovens de amplificação transitória, proliferam mais rapidamente que as células localizadas na cornea central, assim forçando as células a migrarem centripetamente. Outra hipótese aceitável é que a taxa de esfoliação do epitélio da córnea central seja mais elevada que do epitélio corneano periférico (limbo), assim criando uma “sucção” das células periféricas para o centro da córnea (LAVKER et al., 1991; LEMP e MATHERS, 1989).

3.1.3.1. Deficiência de células do limbo

Quando o epitélio ou o estroma do limbo são danificados, desenvolvem-se várias doenças corneanas, como: pobre epitelização da córnea, inflamação crônica do estroma, vascularização corneana e crescimento para dentro do epitélio conjuntival (LAVKER et al., 2004). Como consequência da deficiência das células do limbo, o paciente desenvolve irritação severa, fotofobia e diminuição da visão (LAVKER et al., 2004).

3.1.4. Histologia do globo ocular

A córnea tem cerca de 0,6-0,8mm de espessura e consiste de cinco camadas, sendo elas: o filme lacrimal, epitélio, estroma, Descemet e endotélio. O epitélio que forma a camada externa tem a espessura de 7-12 células no centro e é levemente

mais fino na periferia, onde emerge o epitélio conjuntival. Sua camada de células basais consiste de células epiteliais cubóides que se dividem continuamente. Quando as células amadurecem e progridem para a superfície (cerca de sete dias), elas se tornam progressivamente mais planas. As células mais externas do epitélio são células grandes, planas, poligonais com microvilos. A camada mucosa do filme lacrimal é firmemente ligada a essas células. A camada de células basais é separada do estroma por uma fina membrana basal a qual está ligada a camada de células basais por hemidesmossomas (GILGER et al., 1991).

O estroma constitui cerca de 90% da espessura da córnea. Ele é composto de feixes com fibras de colágeno, fibroblastos e substância adesiva. As fibras ficam precisamente paralelas dentro dos feixes, enquanto que os próprios feixes se cruzam entre si. Posterior ao estroma fica a membrana elástica de Descemet (membrana limite posterior). O lado interno da córnea é coberto por uma camada única de células, a qual, em razão das suas propriedades endoteliais, é chamada de endotélio corneano (HOFFMAN., 1972).

As células endoteliais normalmente formam um padrão mosaico hexagonal na membrana de Descemet, conforme visualizado pela microscopia especular. Estas células endoteliais, em coelhos e cães, têm formato hexagonal e tendem a se tornar maiores, mas diminuem em número com a idade. No cão jovem, o número de células endoteliais é em média 2.500 a 2.800 por mm², em coelhos jovens, em média 2.000 a 2.300 por mm². Estes achados sugerem que, semelhante ao gato e primatas não-humanos, o cão e o coelho têm uma habilidade limitada para a regeneração endotelial corneana (principalmente em animais jovens). A espessura da córnea central no coelho é de $0,328 \pm 0,046$ mm, e a córnea periférica dorsal, $0,411 \pm 0,063$ mm (GILGER et al., 1991).

A forma do limbo na maioria dos animais é circular a ovalada horizontal, como observado nos ungulados. Em cavalos, a córnea perlímbica freqüentemente aparenta-se esbranquiçada; alguns autores atribuem isso ao ligamento pectíneo/sistema trabecular que não é totalmente coberto pela esclera. A esclera opaca, que é branca exceto por alguma pigmentação leve na área límbica, forma o restante da túnica externa do olho. A esclera é mais espessa (1,5mm) na área do plexo venoso, 3-10mm atrás do limbo, e é mais fina (0,2mm) no equador, tornando-se novamente espessa quando se aproxima da saída do nervo óptico (WALDE., 1983). Com o objetivo de funcionar como uma janela e como parte de um meio

altamente refrativo, a córnea deve ser transparente. Em razão da ausência de vasos na córnea, o recebimento de nutrientes e a remoção de impurezas ocorrem no limbo e via filme lacrimal e humor aquoso (ÜBERREITER, 1961).

3.1.5. Particularidades anatômicas dos coelhos

Os coelhos são dotados de um amplo ângulo de visão, que pode atingir 190° em cada globo ocular (HARKNEN, 1993). A grande capacidade de dilatação da pupila resulta em uma sensibilidade à luz oito vezes maior do que a do homem (HARKNEN, 1993). Apesar da boa capacidade de dilatação pupilar, o exame do fundo de olho requer a utilização de formulações farmacológicas para observação da lente, retina e nervo óptico. Os colírios a base de atropina costumam ser ineficientes para dilatar a pupila, pois muitos coelhos secretam naturalmente a enzima atropinase, assim, quando se deseja fazer um exame de fundo do olho nestes animais opta-se por utilizar um colírio à base de tropicamida (QUINTON, 2005).

O olho dos coelhos é anatomicamente similar ao da maioria dos mamíferos (SLATTER, 2005), assim, esta espécie animal apresenta-se como boa ferramenta a ser utilizada na experimentação. O fundo ocular do coelho é merangiótico, ou parcialmente vascularizado e atapetal. O disco óptico é extensamente mielinizado e apresenta uma profunda escavação fisiológica ou depressão central (SLATTER, 2005).

Estudos envolvendo facoemulsificação no olho de coelhos levam em consideração algumas particularidades nos olhos destes animais quando comparado aos seres humanos: a) a córnea do coelho é mais fina que a humana, assim, menos danos estão geralmente relacionados à incisão escleral, associando-se com menor tendência à prolapso de íris; b) ocorre uma reação inflamatória mais exacerbada em coelhos que humanos, desta forma recomenda-se a utilização de antiinflamatórios no pós-operatório; c) a cápsula anterior dos coelhos é mais elástica; d) a pressão intra-vítreo destes animais é mais elevada e e) a lente dos coelhos não sofre o mesmo processo cataractogênico que os humanos (WERNER, et.al., 2006). Assim, o conhecimento das diferenças anatômicas e fisiológicas entre as espécies é fundamental para interpretação dos resultados.

3.2. Modelos experimentais

A avaliação da eficácia e segurança das medicações tópicas e sistêmicas utilizadas na oftalmologia veterinária e humana pelas indústrias biomédicas é estudada previamente nos animais de laboratório (MUNGER, 2002). Além disso, procedimentos e equipamentos cirúrgicos a serem utilizados na oftalmologia, também devem ser avaliados quanto à sua segurança (MUNGER, 2002).

Até o momento, não há nenhum modelo não animal apropriado para o teste de biocompatibilidade de biomateriais na avaliação de novas lentes intra-oculares ou ceratopróteses, que devem ser avaliados em modelos *in vivo*. Avaliações de toxicidade podem ser realizadas em modelos *in vitro*, utilizando-se técnica de cultura de célula. No entanto, aspectos como limpeza e metabolismo de soluções instiladas/injetadas nos olhos e sua influência na reação inflamatória, cicatrização da ferida, pressão ocular nos pós-operatório apenas podem ser avaliadas *in vivo* (WERNER et.al., 2006).

3.3. Intervenção cirúrgica

As ceratites ulcerativas são as desordens oftálmicas mais comuns em medicina veterinária. As úlceras ocorrem quando as camadas da córnea são lesadas. O tratamento consiste em antibióticoterapia tópica e quando os tratamentos medicamentosos não são efetivos ou ocorre o processo de recidiva, as intervenções cirúrgicas devem ser realizadas para cura clínica. Processos ulcerativos, especialmente com formação de descemetocel, são emergências oftálmicas e requerem terapia específica para prevenção da perfuração ocular (GELATT, 2003). Muitos procedimentos cirúrgicos têm sido descritos utilizando técnicas de enxerto, para preservação da integridade da córnea, mantendo a visão ou o globo ocular esteticamente (BUSSIERES *et al.*, 2004).

A utilização de enxertos autógenos ou alógenos, além da utilização de biomateriais alternativos (xenólogo), vem sendo atualmente proposta (VICENTI, et.al., 2002; ANDRADE et al., 1999; BUSSIERES et al., 2004). Após a realização da ceratoplastia parcial (retirada do epitélio e estroma) com auxílio de uma trefina, o enxerto é colocado no local onde havia a lesão e fixado com nylon monofilamentar.

As ceratoplastias ou transplantes de córnea apresentam destaque na medicina veterinária e humana no tratamento de úlceras corneanas em “melting”, descemetoceloses, seqüestro de córnea, lacerações, ceratopatia bolhosa (HANSEN e GUANDALINI, 1999), no qual se faz a remoção de toda córnea e uma nova córnea fresca ou congelada é reposta através da fixação com materiais de sutura, frequentemente o fio absorvível monofilamentar nylon (HANSEN e GUANDALINI, 1999, ANDREW et al., 2001).

As lacerações corneanas não contaminadas também ocorrem com certa freqüência na clínica médica de pequenos animais. As bordas da ferida são debridadas para preservar uma maior quantidade de tecido. Do fechamento da ferida é realizada sutura perfurante parcial com pontos simples interrompidos (SLATER, 2005). Além dessas, a presença de animais com corpos estranhos penetrantes na córnea são comuns. A retirada do material deve ser feita tão breve quanto possível, bem como o fechamento da ferida corneana (GELATT, 2003).

Além dos distúrbios superficiais, muitas alterações oculares necessitam da realização de ferida cirúrgica na córnea para o acesso a estruturas internas como a lente ou retina. As cataratas compreendem um grupo comum de distúrbios oculares, manifestado por opacidades lenticulares de formas e tamanhos variados (GELATT, 2003). O tratamento efetivo para este distúrbio consiste na remoção cirúrgica da lente (SLATER, 2005).

A facectomia extracapsular com inserção da lente intra-ocular, tem sido o método cirúrgico mais utilizado desde 1982, quando foi descoberto, até os dias atuais. Esta técnica requer uma incisão relativamente grande no limbo pela qual a lente é extraída e uma nova lente é inserida (MINASSIAN et al., 2001). No entanto, este método tem sido amplamente substituído pela facoemulsificação que consiste na fragmentação ultra-sônica da lente e remoção da mesma por irrigação e aspiração, possuindo como vantagem, a necessidade de uma menor incisão cirúrgica e assim determinando menores complicações pós-operatórias (SLATER,

2005). O fechamento da ferida é realizado como em qualquer outra ferida corneana não contaminada.

O oftalmologista veterinário deve compreender as diferenças entre os olhos das mais variadas espécies quando comparados com a anatomia e fisiologia humana. Além do conhecimento das particularidades de cada espécie, um bom manejo do paciente no pós-operatório é importante para evitar fracassos em quaisquer técnicas cirúrgicas.

3.4. Fios de sutura

A escolha do material de sutura depende do procedimento a ser realizado e da preferência do cirurgião. Os procedimentos cirúrgicos corneoconjuntivais demandam o uso de finos materiais de sutura. Em muitos casos utilizam-se os de 7-0 a 10-0, sendo dentre estes o 8-0 o tamanho mais popular (HERRING, 2003). Entre os materiais de sutura absorvíveis comumente utilizados para procedimentos oftalmológicos incluem o ácido poliglicólico, a poliglactina 910 e o poliéster (HERRING, 2003).

O ácido poliglicólico (PGA) é um fio de sutura absorvível, estéril, inerte, não colagenoso, não antigênico, não pirogênico, flexível, e trançado. Possui uniformidade no tamanho e força de tensão (REDDY, 1976). Este material sofre degradação *in vivo* por hidrólise em ácido glicólico, que é incorporado ao ciclo do ácido tricarbóxico e excretado (ATHANASIOU, 1996). A degradação determina perda de peso molecular devido a: 1) reabsorção ou dissolução do material; precipitação acompanhada de redução no peso molecular; 2) mudanças na configuração estrutural; e 3) mudanças nas propriedades mecânicas como redução da força e rigidez (ATHANASIOU, 1996). Experiências clínicas e estudos em animais, mostraram não haver qualquer absorção do PGA em 7 dias, absorção mínima em 15 dias, máxima em 30 dias e a absorção completa se dá essencialmente após 60 a 90 dias do ato cirúrgico (REDDY, 1976).

O PGA é rapidamente degradado e o ácido produto da degradação é o responsável pela inflamação ao redor do tecido. Muitas complicações teciduais estão relacionadas com este material. No entanto, a existência do copolímero de ácido

poliláctico- ácido poliglicólico (PLA-PGA), a poliglactina (relação PGA:PLA=90:10) é benéfica, pois a degradação ocorre mais rapidamente que o PLA, mas não tem a degradação tão rápida, bem como, a liberação de produtos ácidos que o PGA puro teria (MAURUS *et al.* 2004)

Suturas de PGA (10-0) e poliglactina (10-0) foram utilizadas para o fechamento da incisão do limbo em coelhos, e mostrou que o PGA e a poliglactina não difere em suas propriedades, mas foram insuficientes para o fechamento da ferida cirúrgica (SUGAR, 1980). Desta forma, o autor não sugere a utilização destes fios isoladamente para o fechamento de ferida cirúrgica no limbo de coelhos.

O nylon monofilamentar é um material de sutura sintético de diâmetro uniforme e possui boa força tênsil. Apresenta superfície lisa que causa menor injúria quando passa pelo tecido. Este é um fio elástico e tende a formar aposição tecidual exata, pois tende a se ajustar a pressão externa e interna do tecido (BISTNER *et al.*, 1977). Em particular o nylon monofilamentar é ideal para cirurgia de catarata e córnea devido à sua força tênsil e elasticidade combinada com uma mínima resposta inflamatória corneana (BISTNER *et al.*, 1977; HAYASAKA *et al.* 1982).

As suturas não absorvíveis apresentam vantagem de causar menos reação tecidual e resultar em rápida neovascularização e possuem a desvantagem de requerer a remoção das suturas. No entanto, o oposto é verdadeiro. Em certas situações, como a excessiva reação tecidual, o abscesso e a ruptura da sutura, requerem a remoção do material de sutura absorvível (HERRING, 2003)

A manipulação dos materiais de sutura deve ser cuidadosa, pois, pode acarretar mudanças nas propriedades dos mesmos. Qualquer material que seja forçado à deformação permanente, formação de pregas, esmagamento ou extensão excessiva, irá evidenciar a concentração de tensão no sitio do dano, lavando a redução na carga e insucesso da técnica (GREENWALD *et al.*, 1994).

Os materiais de sutura estão sendo rotineiramente reutilizados pelos especialistas, embora este processo não seja recomendado (SHUTTLEWORTH, *et al.*, 1999). Os métodos de esterilização e desinfecção ideal devem ser efetivos, seguros, de baixo custo, e práticos. A radioesterilização não é o método ideal, embora seja o mais utilizado. Shuttleworth e colaboradores, 1999, estudaram o efeito de diferentes métodos de esterilização e desinfecção nas propriedades tênsis dos fios de sutura utilizados na oftalmologia e verificou-se que a autoclavagem e a

imersão em glutaraldeído são eficazes na destruição de vários agentes biológicos mantendo a maioria das propriedades originais dos fios.

3.5. Mecanismos da resposta inflamatória ocular

As bases da reação tecidual ocular são as mesmas que ocorrem em outros tecidos. Lesões brandas podem ser simplesmente absorvidas sem nenhuma alteração detectável da homeostase ocular (SLATTER, 2003). Lesões mais graves e persistentes desencadearão uma ou mais mudanças adaptacionais que podem levar a morte celular (SLATTER, 2003).

A inflamação filosoficamente é considerada como resposta transitória, controlada por vasos sangüíneos e células, decorrente da exposição de um tecido a lesões. A resposta deve ser quantitativa e qualitativamente apropriada à natureza da lesão tecidual e servir para neutralizar e remover o estímulo que causou a lesão, estabelecendo, ao mesmo tempo, bases para a resposta do parênquima e estroma (SLATTER, 2003).

Devido às bases da inflamação estar associadas aos eventos vasculares, a córnea, sendo avascular, não pode sofrer inflamação verdadeira até que cresçam vasos sangüíneos na mesma. Os vasos sangüíneos corneanos podem ser superficiais ou profundos. Os vasos superficiais se derivam dos vasos conjuntivais adjacentes, sendo tipicamente mais longos, ramificam-se dicotomicamente e apresentam coloração vermelha mais viva que os vasos profundos, caracterizando moléstia externa. Os vasos profundos derivam de vasos ciliares anteriores do limbo, sendo, comumente, mais curtos, retílineos e de coloração vermelho mais escuro, freqüentemente indicando moléstia intra-ocular ou corneana profunda (COLLINS, 1996).

Durante as condições inflamatórias na córnea, os leucócitos (neutrófilos), migram da conjuntiva bulbar ou escleral perilimbrica para o estroma corneano, para que haja a localização do estímulo, ou seja, a lesão. Estes leucócitos e a córnea lesionada são os fatores mais importantes que desencadeiam os fatores de crescimento fibroblásticos e angioblásticos, os quais, após 3 a 4 dias iniciarão a migração de vasos sangüíneos e fibroblastos a partir do limbo. Haverá também a

transformação fibroblástica dos ceratócitos, os quais iniciarão a produção de matriz extracelular (SLATTER, 2003). A migração de células inflamatórias para a lesão pode desencadear um ciclo inflamatório, uma vez que, a liberação de linfocinas (enzimas degradativas e radicais livres) é quimiotóxica para a liberação de mais células inflamatórias (COLLINS, 1996).

Eventos mecânicos da inflamação representam uma seqüência cronológica altamente integrada que envolve alteração no fluxo sangüíneo microvascular, na permeabilidade endotelial, na migração de leucócitos, na neutralização humoral e celular (dependentes da presença de material estranho) e no debridamento tecidual preparatório para os reparos do parênquima e estroma (SLATTER, 2003).

Em resumo, os lipopolissacarídeos (LPS) estimulam uma variedade de respostas imunológicas, como a ativação da cascata de complemento e produção de citocinas. O LPS é um potente agonista do fator de necrose tumoral (TNF) e interleucinas 1(IL-1). A IL-1 α e o TNF α comandam muitas bioatividades, incluindo a atração química e ativação de neutrófilos polimorfonucleares (PMN) (ZANG, 1992). O TNF α também estimula o aumento de IL-1 α , que amplifica o recrutamento de neutrófilos, via IL-1, induzindo a quimiotaxia dos neutrófilos PMN por IL-8 (DINARELLO, 1992).

A ativação do sistema complemento produz fatores quimiotáticos com recrutamento de mais fagócitos e células imunes (NOWTNY, 1983), enquanto as células PMN agem ativando ainda mais o sistema complemento e imunoglobulinas para destruir os microorganismos. A infiltração de neutrófilos dirigida por citocinas e leucotrienos tem sido amplamente associada à patogênese de diversas desordens em mucosas (DINARELLO, 1993). No entanto, o papel desenvolvido por muitos agentes na patogênese da inflamação ocular permanece obscuro (SCHULTZ, 1997).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais

Foram utilizados 15 coelhos, machos, jovens, sem raça determinada, com os olhos escuros. O peso individual, na época do experimento, variou de 1,5 a 3kg. Todos os animais foram adquiridos de um mesmo criador comercial, Município de Campos dos Goytacazes no Estado do Rio de Janeiro. Os animais adquiridos para este experimento foram submetidos aos exames clínicos e oftalmológicos com o objetivo de selecionar apenas os animais saudáveis. Os coelhos foram levados ao laboratório após desmame, com 30 dias de vida, e peso variando de 300 a 500g, os quais foram mantidos no laboratório até adquirirem o peso e porte adulto. Os animais foram manipulados no período da manhã, diariamente e ordenadamente até o crescimento pela mesma pessoa, pelo período diário de 2 minutos para adaptação dos animais ao experimentador. Os coelhos receberam suporte clínico quando necessário e foram everminados assim que chegaram ao laboratório experimental com ivermectina em dose única de 200µg/Kg, via oral.

4.2. Ambiente experimental

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais no setor de Clínica Médica de Pequenos Animais no Hospital Veterinário da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). O local foi mantido em temperatura ambiente. Um ventilador foi mantido no local com a finalidade de fornecer sons suaves para os animais e assim minimizar as influências sonoras externas. Os animais foram mantidos no laboratório com iluminação natural entre maio e setembro. Foram administradas alimentação (ração para coelhos Socil®-Crescimento) e hidratação (água) *ad libitum* durante todo período, exceto no dia da cirurgia. Os animais tiveram sua alimentação suplementada com vegetais fibrosos frescos, capim e cenoura, três vezes por semana. As gaiolas foram dispostas paralelamente, lado a lado, de maneira que os animais se vissem e interagissem por meio de sons. Os recipientes de água e comida, bem como as gaiolas foram lavados com água, diariamente no período da manhã após a manipulação dos animais.

Figura 1: Ambiente experimental. Animais colocados em gaiolas individuais. Observar a disposição paralela das gaiolas possibilitando comunicação sonora e visual entre os animais.

4.3. Exame oftalmológico Pré-operatório

Os animais foram submetidos ao exame oftalmológico minucioso antes da realização do procedimento cirúrgico. O exame oftalmológico teve início com a observação das estruturas externas como cílios, pálpebras, conjuntiva, esclera e terceira pálpebra, por observação direta. As estruturas superficiais, como córnea e limbo, foram examinadas com auxílio de uma fonte de luz e uma lupa tipo pala. A análise das lesões corneanas foi realizada com fluoresceína (Fluoresceína strips Ophthalmos®). As estruturas internas como nervo óptico, vascularizações e retina, foram analisadas com um oftalmoscópio direto. Para avaliação da produção lacrimal realizou-se o teste lacrimal de Schirmer (Tiras de Schirmer Ophthalmos®) pelo período de 1 minuto.

Os animais que tiveram alguma alteração oftalmológica foram excluídos do experimento e substituídos.

4.4. Protocolo anestésico

Para a anestesia, os animais foram mantidos em jejum alimentar e hídrico pelo período de 4 horas. Os animais foram pré-anestesiados com acepromazina 1 mg.Kg^{-1} (Acepran®), por via intramuscular (IM). Após um período de 15 minutos, os animais foram induzidos à anestesia geral com propofol 10 mg.Kg^{-1} , que foi mantida por infusão contínua na dose de $1 \text{ mg.Kg}^{-1}/\text{minuto}$. Foi realizada a instilação de uma gota de colírio anestésico à base de cloridrato de tetracaína 1% e cloridrato de fenilefrina 0,1% (Anestésico®) previamente a administração do propofol. Os animais foram mantidos sobre colchão térmico a 37° durante o procedimento cirúrgico até o despertar, devido à sensibilidade desta espécie à hipotermia. Os parâmetros vitais foram monitorados por um anestesista durante o procedimento cirúrgico: frequência cardíaca, pulso e sensibilidade dolorosa.

4.5. Procedimento cirúrgico

Após o procedimento anestésico, foi realizada a retração das pálpebras com blefarostato, o globo ocular foi posicionado e fixado com o auxílio de uma pinça atraumática, tomando o cuidado de não causar outras lesões que não a ferida cirúrgica. Foi realizada incisão cirúrgica no limbo com auxílio de uma lupa de aumento, tipo pala, semelhante à técnica cirúrgica de facectomia extracapsular utilizada em animais e seres humanos com catarata. Foi realizada, então, a incisão límbica com auxílio de uma lâmina de bisturi número 11 acoplada a um cabo de bisturi número 3 (Figura 2). Imediatamente após a incisão, foi feita abertura do limbo com auxílio de uma tesoura de Noyens até obter-se um arco de aproximadamente 120° (figura 3). Quando houve, eventualmente, a ruptura de pequenos vasos, nestes, foi realizada a homeostasia com auxílio de um swab estéril até o fim do sangramento. Após a abertura, foi realizado o fechamento da incisão com fio não absorvível de Nylon monofilamentar 10/0 (Brasuture®), de $200 \mu\text{m}$ de diâmetro, no olho direito e com fio absorvível de ácido poliglicólico 8/0 (Brasuture®) (Figura 4), de

230µm de diâmetro no olho esquerdo, com sutura simples interrompida fazendo-se o primeiro ponto no centro da ferida cirúrgica para fixação e posteriormente mais dois pontos a direita e dois a esquerda, com intervalo de aproximadamente 2mm entre os pontos. Por fim, retirou-se o blefarostato e os animais foram mantidos aquecidos até despertarem, quando foram recolocados em suas gaiolas.

Figura 2: Incisão cirúrgica feita no olho direito na região do limbo de coelho. Notar abertura das pálpebras com auxílio do blefarostato, fixação do globo ocular com pinça anatômica atraumática. Notar a incisão penetrante total feita com lâmina de bisturi número 11.

Figura 3: Abertura da região límbica do olho direito de coelho com tesoura Noyens. Notar abertura feita após a incisão com bisturi até o ângulo de aproximadamente 120°. Observar abertura das pálpebras com blefarostato e centralização do globo ocular.

Figura 4: Fechamento da ferida cirúrgica com ácido poliglicólico no olho esquerdo de coelho. Notar a cor violeta do fio de sutura e a presença de vasos sanguíneos conjuntivais migrando para o local da injúria. Observar a abertura das pálpebras com blefarostato e a centralização do globo ocular.

4.6. Pós-operatório

Os animais foram tratados com pomada de terramicina oftálmica (Terramicina com Sulfato de polimixina B[®], Laboratórios Pfizer Ltda) imediatamente após os animais despertarem, que foi reaplicada por período de 7 dias de 12/12 horas. A analgesia foi obtida com a utilização de dipirona (6 mg.Kg⁻¹, de 12/12 horas) nos 4 primeiros dias de pós-operatório.

4.7. Divisão em sub-grupos

Os animais foram separados em 3 grupos: I) enucleados aos 7 dias de pós-operatório (n=5), II) enucleados com 14 dias de pós-operatório (n=5) e III) enucleados com 21 dias de pós-operatório. É importante ressaltar que cada animal constitui uma unidade experimental.

4.8. Exame oftalmológico pós-operatório

Os animais foram submetidos a análises e exames oftalmológicos diários para observação das respostas inflamatórias. Foi feita análise visual das estruturas externas, principalmente a conjuntiva, para observação da ocorrência de quemose e congestão. As estruturas superficiais, como córnea, limbo e material implantado (fio de sutura) foram examinadas com auxílio de uma fonte de luz branca e uma lupa tipo pala, diariamente. A avaliação do “aqueous flare”, ou seja, da alteração da composição do humor aquoso foi realizada com uma lupa pala e fonte de luz devido à ausência da lâmpada de fenda. O teste lacrimal de Shirmer foi realizado para mensuração da produção lacrimal, diariamente até o sétimo dia de pós-operatório, quando passou a ser realizado em dias alternados até o último dia de análise (14 e 21 dias). O teste com fluoresceína foi realizado no último dia de análise com o objetivo de avaliar possível lesão da córnea. As estruturas internas e a capacidade visual não foram avaliadas no pós-operatório.

4.9. Variáveis analisadas

No período pós-operatório foram feitas observações das diferentes alterações oftalmológicas (variáveis): tumefação conjuntival (quemose), congestão, descarga conjuntival, nebulosidade corneana, “aqueous flare” e vascularização, conforme apresentado na Tabela 1. O escore foi registrado conforme a escala gravidade, a partir de uma adaptação da escala desenvolvida por Hackett e McDonald (1996).

4.10. Eutanásia

Os animais dos 3 Grupos: I, II e III, foram eutanasiados entre 14:30 e 16:30h para limitar qualquer possível efeito circadiano. Foi utilizado Quetamina (15mg.Kg^{-1}), Xilazina (2mg.Kg^{-1}) por via intramuscular e Tiopental (75mg.Kg^{-1}) por via endovenosa seguindo as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

4.11. Avaliação Histopatológica

Seguinte a enucleação de ambos os olhos de cada animal, foi feita a fixação do globo ocular. Para tal foi realizada a retirada do humor aquoso e humor vítreo e no espaço anteriormente ocupado por eles, foi injetado formalina tamponada 10% (Formalina P.A., Vetec Ltda®) (Figura 5). Posteriormente o globo ocular desidratado em álcool, impregnado em formol e embebido em formalina. O material permaneceu embebido em formalina para fixação por 48 horas, quando foi preparado para clivagem. Na clivagem foi feita abertura do olho pela esclera, obtendo-se um fragmento da mesma, seguinte a este o material foi cortado paralelamente a lesão e imediatamente após foi feito o corte em cima da lesão, obtendo-se assim quatro fragmentos. Esta clivagem possibilitou a análise do limbo, córnea, esclera, conjuntiva e íris. O tecido fixado foi desidratado em etanol, incluído em parafina, seccionado em cortes de $5\mu\text{m}$, posteriormente corados com hematoxilina e eosina e analisados ao microscópio óptico. O exame histopatológico foi realizado no Setor de anatomia patológica veterinária no Hospital veterinário da UENF.

A B

Figuras 5 A e B: Fixação do globo ocular. Na Figura 5 A observa-se a incisão da agulha 25X7 na câmara anterior do olho de coelho enucleado por via transpalpebral. Notar a substituição do humor aquoso por formalina. Na Figura 5B observa-se a

incisão da agulha 25X7 na câmara posterior do globo ocular de coelho, foi realizada a substituição do humor vítreo por formalina.

4.10. Análise estatística

Foi realizada análise estatística descritiva das variáveis mensuradas. Foi realizado, também, análise de variância, e para as variáveis que sofreram efeito do tratamento, foi estabelecida a equação de regressão conforme o melhor ajustamento. As correlações de Pearson entre as principais variáveis foram realizadas visando elucidar o comportamento das mesmas. Seguente a esta análise, foi feita a análise de variância (ANOVA) e posteriores regressões utilizando-se a variável tempo. Foi realizado o teste T de student para dados pareados visando avaliar o efeito do tratamento sobre a variável de cada tempo.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Padrões clínicos

Não houve efeito dos tratamentos, ou seja, entre os fios de sutura utilizados sobre as variáveis analisadas, exceto para a tumefação conjuntival (quemose), que foi maior nos animais submetidos ao tratamento com nylon ($p \geq 0,1$) (figura 6).

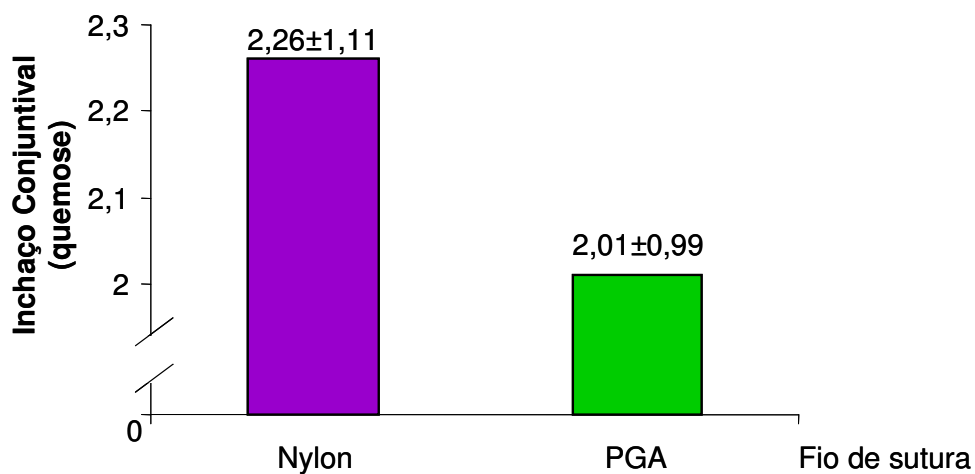


Figura 6: Valores médios de tumefação conjuntival (quemose) após observação diária do padrão em escore de 0 a 4 na ferida cirúrgica no limbo de coelhos. Observar diferença estatística pelo teste T, entre os tratamentos: no olho direito com

nylon monofilamentar (roxo) e no olho esquerdo com ácido poliglicólico (PGA) (verde) durante os 21 dias de tratamento, $P \geq 0,1$.

O comportamento das variáveis “Aqueous flare” e produção lacrimal foi afetado pelo tempo pós-cirúrgico. O comportamento da primeira variável em relação ao tempo pode ser descrito pela equação $Y = 1,52 + 0,68\text{dia}^{0,5} - 0,19\text{dia}$ ($R^2 = 20\%$), mostrando que a opacidade de câmara anterior medida por esta variável tende a diminuir a partir do terceiro dia pós-cirúrgico (figura 7).

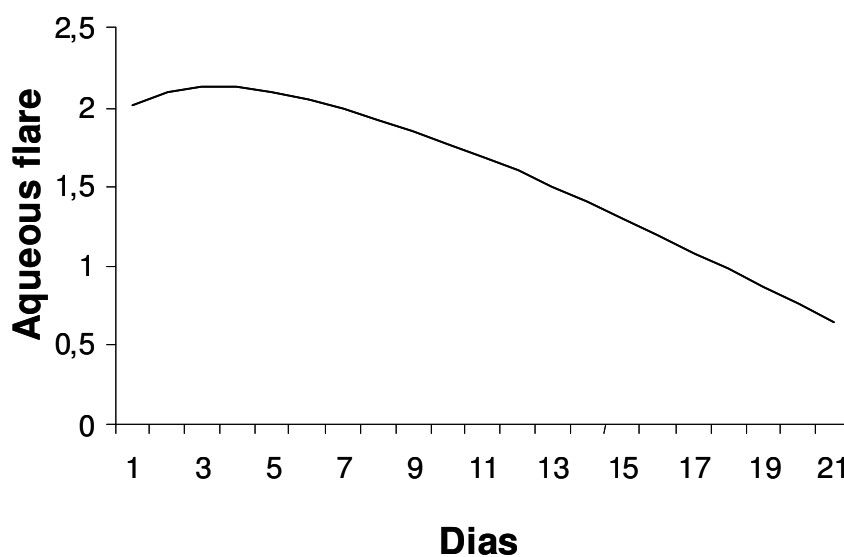


Figura 7: Comportamento da variável aqueous flare durante o período de 21 dias após a lesão no limbo de coelhos. Os tratamentos foram considerados iguais e agrupados para avaliação da variável no tempo. Observar o pico ao terceiro dia com posterior diminuição

O efeito do tempo pós-cirúrgico sobre a produção lacrimal medida pelo teste de Schirmer pode ser descrito pela equação: $Y = 7,69 - 0,00069\text{dia} + 0,0067\text{dia}^2$ ($R^2 = 65\%$). Os resultados mostram que a partir do primeiro dia os valores obtidos no teste tendem a aumentar até o último dia observado de maneira acelerada e crescente (figura8).

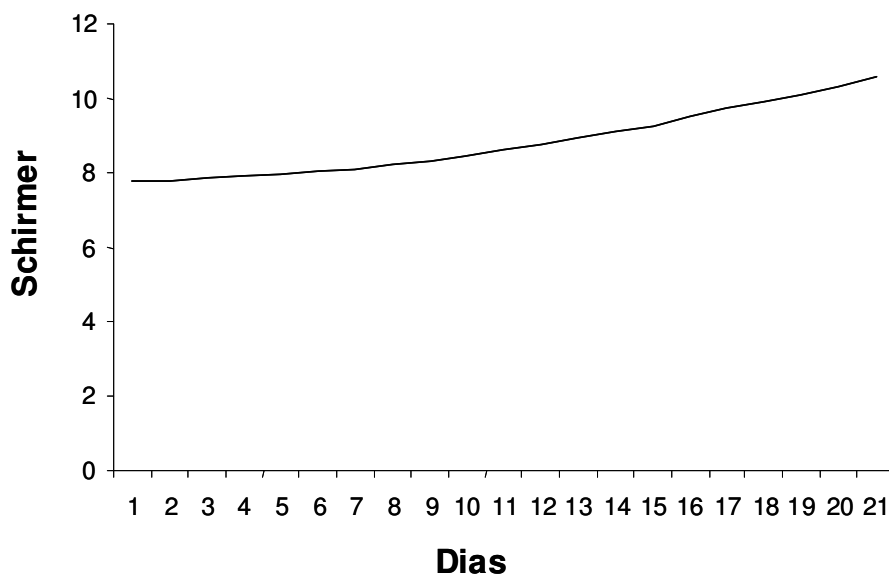


Figura 8: Comportamento da produção lacrimal medida pelos valores do teste lacrimal de Schirmer durante o período pós-operatório de 21 dias em coelhos. Os tratamentos foram considerados iguais e agrupados em uma mesma reta. Observar o aumento constante nos valores encontrados no teste lacrimal de Shirmer.

Foram encontradas correlações significativas entre algumas das variáveis estudadas (tabela 2), com destaque para a congestão com a descarga conjuntival, a congestão com a quemose e a quemose com a descarga conjuntival que apresentaram correlação positiva e elevada (superior a 50%, $p < 0,01$).

Tabela 2: Correlações de Pearson entre as variáveis ($p > 0,01$).

| Variável | Variável | Correlação | T | Significância |
|----------------------|-----------------------|------------|---------|---------------|
| Tratamento | Quemose | -0.1156 | -2.4641 | 0.0069 |
| Tratamento | Schimer | -0.0853 | -1.7162 | 0.0431 |
| Tempo | Aqueous Flare | -0.3741 | -8.5395 | 0.0001 |
| Tempo | Schimer | 0.2391 | 4.9367 | 0.0001 |
| Congestão | Descarga Conjuntival | 0.5247 | 13.0471 | 0.0001 |
| Congestão | Nebulosidade Corneana | 0.3120 | 6.9511 | 0.0001 |
| Congestão | Quemose | 0.6993 | 20.7075 | 0.0001 |
| Congestão | Schimer | 0.2697 | 5.6147 | 0.0001 |
| Descarga Conjuntival | Edema | 0.2915 | 6.4508 | 0.0001 |
| Descarga Conjuntival | Nebulosidade Corneana | 0.2054 | 4.4422 | 0.0001 |

| | | | | |
|-----------------------|---------|--------|---------|--------|
| Descarga Conjuntival | Quemose | 0.5592 | 14.2751 | 0.0001 |
| Descarga Conjuntival | Schimer | 0.2290 | 4.7161 | 0.0001 |
| Nebulosidade Corneana | Quemose | 0.2771 | 6.1050 | 0.0001 |
| Quemose | Schimer | 0.2054 | 4.2087 | 0.0001 |

5.2. Padrões histopatológicos

Não houve efeito dos tratamentos nas variáveis observadas, entretanto, a variável celularidade foi afetada linearmente pelo tempo pós-operatório, o que não ocorreu com as demais variáveis: número de camadas epiteliais no limbo e quantidade de vasos sanguíneos.

O comportamento da variável celularidade em relação ao tempo é descrito pela equação: $Y=139,1 - 2,66\text{dia}$ ($R^2= 92\%$), nota-se que a celularidade é reduzida linearmente com o passar do tempo durante o período estudado (figura 9)

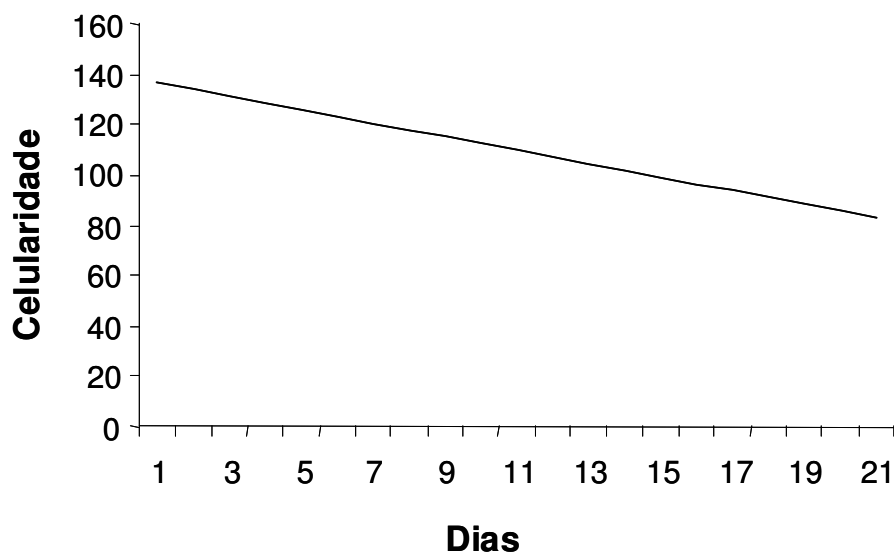


Figura 9: Comportamento do número de células inflamatórias (celularidade) durante o período de 21 dias após avaliação histopatológica da lesão límbica em coelhos. Análises feitas nos dias 7, 14 e 21, outros pontos foram estimados estatisticamente. Notar a diminuição constante do número de células inflamatórias.

6. DISCUSSÃO

6.1. Manipulação cirúrgica

A manipulação cirúrgica é um fator importante para o sucesso da cirurgia. As suturas devem aproximar as bordas das feridas e não podem ser frouxas ou apertadas demais. As suturas apertadas podem causar astigmatismo ou necrose tecidual, enquanto as suturas frouxas podem favorecer o afrouxamento total dos pontos ou facilitar a entrada de contaminantes na ferida cirúrgica (AGARWAL, et al., 1982). No estudo apresentado podem ter ocorrido diferentes forças na realização do nó cirúrgico, pois apesar de terem sido realizadas pelo mesmo cirurgião, os procedimentos não foram realizados no mesmo momento.

6.2. Fio de sutura

Os fios de sutura utilizados não possuíam as mesmas propriedades, e mesmo assim eles geraram resultados quase idênticos no período estudado. O nylon monofilamentar, não absorvível com 200 μ m de diâmetro foi utilizado para este estudo. O ácido poliglicólico é multifilamentar, absorvível com 230 μ m de diâmetro. Os resultados encontrados podem estar associados diretamente a tais diferenças, principalmente a espessura dos fios utilizados.

Experiências clínicas e estudos com animais (REDDY et al., 1976) não revelaram absorção do PGA após 7 dias, ocorrência de absorção máxima aos 30 dias, sendo totalmente absorvido após 60-90 dias. Este fato pode explicar os resultados encontrados no tocante de ter havido pouca diferença entre as variáveis mensuradas, visto que, no último dia de análise do estudo (21 dias) ainda não havia ocorrido o pico máximo de absorção do PGA. Assim, se o presente trabalho tivesse sido realizado por maior período, os resultados observados poderiam ser diferenciados.

6.3. Alterações Clínicas

6.3.1. Tratamento X Quemose

Os resultados mostraram que a tumefação conjuntival (quemose) foi maior nos animais tratados com fio não absorvível de nylon monofilamentar, no entanto, estudos clínicos conduzidos por Reddy e colaboradores em 1976, mostraram não haver diferença apreciável na reação conjuntival no sítio de sutura quando utilizados o PGA e o fio absorvível terilene. Dos 100 pacientes analisados no estudo citado, com PGA apenas um paciente apresentou quemose ao redor da sutura no sétimo dia de pós-operatório, que foi cessado após a retirada dos pontos. Esses dados corroboram a afirmação de uma menor tumefação conjuntival, quemose, nos animais tratados com PGA.

O resultado do presente trabalho, um maior inchaço conjuntival nos animais tratados com nylon pode estar associado à menor proliferação bacteriana nos olhos suturados com PGA, assim associando-se a uma menor reação inflamatória tecidual e assim menor inchaço conjuntival. Estudo conduzido por Lilly e colaboradores em 1973, relata que o PGA devido à sua concentração de ácidos pode resultar em pH incompatível com o crescimento bacteriano. A cultura bacteriana foi realizada neste trabalho em alguns animais em dados não publicados, revelando apenas crescimento de colônias de *Staphilococcus sp.*, freqüentes no epitélio corneano e que não contribuem na interpretação deste estudo.

6.3.2. “Aqueous Flare” X tempo

O “aqueous flare” tendeu a diminuir no decorrer do tempo, o que vai ao encontro da literatura citada por Kern e colaboradores em 1990. Este grupo observou em estudo, após colocação de enxerto corneano, que o processo inflamatório, na íris, corpo ciliar e coróide (uveíte), que acarreta em opacidade da câmara anterior, apresenta aumento na primeira semana com posterior diminuição.

6.3.3. Produção lacrimal X tempo

O valor médio para a produção lacrimal medida pelo teste lacrimal de Schirmer para a espécie estudada é de $5,30 \pm 2,96$ (ABRAM et al., 1990). No entanto, no presente estudo, logo após o procedimento cirúrgico, houve valores médios superiores ao da normalidade, aumentando ainda mais no decorrer do pós-operatório até o fim do período estudado.

Fotofobia, epífora, blefaroespasma e secreção ocular foram evidentes no período pós-operatório inicial em vários outros estudos (LAUS et al., 1996; MORALES et al., 1996; ANDRADE et al., 1999; VICENTI et al., 2002) como resultado da estimulação do terminal nociceptivo da córnea e conjuntiva palpebral pelo fio de sutura (WARING et al., 1984). Outro fato que pode ter levado ao aumento da produção lacrimal é a presença de uveíte pós-operatória. No caso do presente estudo a presença do fio pode estar associada a um maior desconforto, uma vez que, pela falta do material adequado, não foi realizado o sepultamento do nó, causando maior contato do material com a conjuntiva e possivelmente sensibilizando ainda mais os terminais nervosos, o que poderia ter resultado em maior dor e maior produção lacrimal.

6.4. Alteração Teste de Fluoresceína

Condições que danificam as células do limbo podem resultar em uma invasão do epitélio conjuntival para a superfície corneana, chamada conjuntivalização (DUA, *et al.*, 2000). Dados semelhantes foram encontrados no estudo conduzido por Parente e colaboradores, 2002 que desenvolveram modelos de destruição das células germinativas do limbo que culminou na neovascularização e conjuntivalização da área lesionada. É importante salientar que neste estudo realizou-se a ferida cirúrgica na região límbica superior, o que ocasionou a destruição de células do limbo e assim, levando posteriormente a formação de neovasos e a conjuntivalização.

No presente trabalho observou-se que todos os animais apresentaram-se positivos para o teste de fluoresceína. Tal fato pode ser explicado devido às células conjuntivais da superfície corneana conjuntivalizada apresentarem maior permeabilidade e assim revelando anormalidade no teste de fluoresceína (HEANG & TSENG, 1991).

6.5. Alterações histopatológicas

6.5.1. Celularidade X tempo

O trabalho ora realizado apresentou queda significativa na celularidade no decorrer do período estudado (7,14,21 dias). Estes dados vão ao encontro do relatado na literatura. Parente e colaboradores (2003) verificaram que após a lesão parcial das células do limbo ocorre uma resposta inflamatória inicial predominantemente por polimorfonucleares que é máxima a partir do sétimo dia, reduzindo no décimo quarto dia e assim gradativamente até o fim do estudo que ocorreu com 56 dias.

7. CONCLUSÕES

O nylon e o ácido poliglicólico produzem resposta semelhantes para a espécie estudada, assim, recomenda-se igualmente ambos.

Os fios utilizados no estudo apresentaram diferenças significativas apenas para a variável clínica inchaço conjuntival, promovendo recuperação cirúrgica muito semelhante nos animais tratados com ácido poliglicólico ou nylon.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARIDE, P. H. R. ; LEITÃO, M. A. B. ; BRINN, R. P. ; VAL, A. L. ; PORTELA, J. M. . Influência da exposição a 2 diferentes tipos de água (preta e branca, SIOLI, 1985) na homeostase iônica de *Colossoma macropomum* (PISCES). In: XXII Congresso Brasileiro de Zoologia, 1998, Pernambuco. **Anais do XXII Congresso brasileiro de Zoologia**, 1998.

ABIMORAD, E.G.; CARNEIRO, D.J.; URBINATI, E.C. (2007). Growth and metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887) juveniles fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. **Aquaculture Research**. 38, 36-44.

ALICATTA, M.L.; BONANO, A.; GIACCONE, P.; LETO, G. Effeti del diverso grado di macianatione della farina disidratada di sulla conigli in acrescimento. **Rivista di Coniglicoltura**, v.25, p.449-52, 1988.

ANDRIGUETTO, J.M. **As bases e os fundamentos da nutrição animal: os alimentos**. São Paulo, Nobel, 395 p., 2002.

ARAÚJO, M. G. **Influência de rações formuladas com milho processado e amido de milho sobre o desempenho e composição corporal da tilápia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1757)**. 1999. 44 p. Dissertação (Mestrado Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

ARAÚJO, O.J.de. **A piscicultura brasileira**. In: HERNANDEZ, R.A. (ed.). Cultivo de colossoma. Bogotá, SUDEPE, 1989. p. 207-218.

ARBELÁEZ-ROJAS, G. A.; FRACALOSSI, D. M.; FIM, J.D. I. (2002) Composição corporal do tambaqui, *Colossoma macropomum*, e Matrinxã, *Brycon cephalus*, em sistemas de cultivo intensivo, em igarapé, e semi-intensivo, em viveiros. **Rev. Bras. de Zootec.**, Viçosa, v.31, n.3, p.1059-1069,.

ARGUE, B.J.; LIU, Z.; DUNAHM, R.A.. Dress-out and fillet yields of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, blue catfish, *Ictalurus furcatus*, and their F1, F2 and backcross hybrids. **Aquaculture**, v.228, p.81-90, 2003.

BALDISSEROTTO, B. (2002), **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. 1ª ed. Santa Maria : Ed. da UFSM, 212p.

BALDISSEROTTO. B.; GOMES, C. (2005) **Espécies nativas para piscicultura brasileira**. 1ª ed. Santa Maria. Ed. da UFSM, 468p.

BERNARDINO, G.; ALCÂNTARA, R. C. G.; SENHORINI, J. A. Procedimentos para a reprodução induzida e alevinagem do tambaqui *Colossoma macropomum* e pacu *Piaractus brachypomus*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 5., 1988, Florianópolis. **Anais... Florianópolis, SC: Aquaciência 1988**. p. 74-79.

BERNARDINO, G.; MENDONÇA, J. O. J.; RIBEIRO, L. P. Indução a desova do tambaqui (*Colossoma macropomum*) com extrato bruto de hipófises. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 4., 1986, Cuiabá. **Anais... Cuiabá, MT: Aquaciência 1986**.

BIAGI, J.D. Implicações da granulometria de ingredientes na qualidade de pelets e na economia da produção de rações (Revisão). In: SIMPÓSIO SOBRE GRANULOMETRIA DE INGREDIENTES E RAÇÕES PARA SUÍNOS E AVES, 1998, Concórdia, SC. **Anais... Concórdia, SC : EMBRAPA/CNPASA**, 1998. 74p. p.57.

BLIER, P.U.; LEMIEUX, H.; DEVLIN, R.H. Is the growth rate of fish set by digestive enzymes or metabolic capacity of the tissues. Insight from transgenic coho salmon. **Aquaculture**, v.209, p.379-384, 2002.

BOOTH, M. A. *et al.* Effects of grinding, steam conditioning and extrusion of practical diet on digestibility and weight gain of silver perch, *Bidyanus bidyanus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 182, p. 287 – 299, 2000.

BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, F. 2002 Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alimentos convencionais e alternativos para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). **R. Bras. Zootec.**, Viçosa, 31(2): 539-545.

BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, F. *et al.* Farinhas de peixe, carne em ossos, vísceras e crisálida como atractantes em dietas para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1397- 1402, 2001.

BOYD, C.E. (1990). Water quality management for ponds fish culture. Development in aquaculture and fisheries science. Amsterdam: **Elsevier Scientific Publishing Company**.

BOYD, C.E. 1982. Water quality management for pond fish culture, development in aquaculture and fisheries science. New York: **Elsevier**. v.9. 730p.

BRANDÃO, F.,R. GOMES, L.C., CHAGAS, E.C., ARAUJO, L.D. (2004) Densidade de estocagem de juvenis de tambaqui durante a recria em tanque-rede. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.39, p.357-362.

BRESSAN , M.C. PEREZ, J.R.O. (2000) **Tecnologia de carnes e pescados**. 1ª ed. Lavras, ed. UFLA/FAEPE, 225p.

BURKERT, Denilson. **Avaliação do uso de carnitina e de duas fontes de metionina no desempenho e na composição corporal do pacu, *Piaractus mesopotamicus* holmberg, 1887**. 2007. 48 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Do Norte Fluminense, Campos Dos Goytacazes, 2007.

BUXTON, D.R.; REDFEARN, D.D. Plant limitations to fiber digestion and utilization. **Journal of Nutrition**, v.127(suppl.), p.814-818, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Especial de aquicultura e Pesca 2005. Produção brasileira da aquicultura continental, por estado e espécie, 2005. **IBAMA.2005**. Disponível em <www.seap.gov.br>. Acesso em 11 ago. 2007.

CAMARGO, A. C. S. (1995) **Níveis de Energia metabolizável para Tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) dos 30 aos 180 Gramas de peso Vivo**. Tese (Mestrado em Zootecnia), Viçosa - MG, Universidade Federal de Viçosa, 55p.

CANTELMO, O. A.; RIBEIRO, M. A. R. Determinação do tamanho da partícula alimentar para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) Holmberg, 1887 e tambaqui

(*Colossoma macropomum*) Cuvier, 1818 no estágio de alevino. **Boletim Técnico CEPTA**, v.7 p. 9-17, Pirassununga, 1994.

CARDOSO, E.F., FERREIRA, R. M. A. (2005) **Cultivo de peixes em tanques-rede: desafios e oportunidades para um desenvolvimento sustentável**. 1ª ed. Belo Horizonte: ed. EPAMIG, 104p.

CARNEIRO, D. J., S. H. S. CHAIM e T. C. R. DIAS. 1992. Efeito do processamento das dietas comerciais sobre o desenvolvimento produtivo do pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Simpósio Brasileiro de Aquicultura**, Peruíbe. SIMBRAq. pp. 44-51.

CARNEIRO, D.J. **Efeito da temperatura na exigência de proteína e energia em dietas para alevinos de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG, 1887)**. São Carlos, SP: UFSCAR, 1990. 55p. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade Federal de São Carlos, 1990.

CASTAGNOLLI, N., CYRINO, J.E.P. 1986. **Piscicultura nos Trópicos**. São Paulo: Ed. Manole. 152p.

CASTAGNOLLI, N.; ZUIM, S.M.F. **Consolidação do conhecimento adquirido sobre o pacu *Colossoma mitrei* (BERG, 1895)**. Jaboticabal: FCAV/Unesp, 1985.

CHO, S.H.; LOVELL, R.T. Variable feed allowance with constant protein input for channel catfish *Ictalurus punctatus* cultured in ponds. **Aquaculture**, v.204, p.101-112, 2002.

CHONG, A.S.C.; HASHIM, R.; ALI, A.B. Assessment of dry matter and protein digestibilities of selected raw ingredients by discus fish (*Symphysodon aequifasciata*) using in vivo and in vitro methods. **Aquaculture Nutrition**, v.8, p.229-238, 2002.

COLDEBELLA, I. J. e RADÜNZ-NETO, J. 2002 Farelo de soja na alimentação de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, Santa Maria, 32(3): 449-503.

CONTERAS-GUZMÁN, E.S. (1994) **Bioquímica de pescados e derivados**. 1. ed. Jaboticabal: ed. FUNEP, 409p.

COUTO, Humberto Pena. **Fabricação de rações e suplementos para animais: Gerenciamento e Tecnologias**. Viçosa: Aprenda Fácil Editora, 2008. 263 p.

CYRINO, J.E.P. Regulação nutricional do crescimento em peixes. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO DE PEIXES E CRUSTÁCEOS. CBNA, **Anais**....Campos do Jordão. 126 p., p.69-90, 1995.

DALE, N. 1994b. **Matching corn quality and nutritional value**. Feed Mix, 2(1):26-29.

DALE, N. **Efeitos da qualidade no valor nutritivo do milho**. In: CONFERÊNCIA APINCO 1994 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Santos-SP, 1994. Anais... Campinas: FACTA, 1994a, p.67-72.

DUARTE, Jason de Oliveira. Circular técnico: Embrapa Milho e Sorgo Sistema de Produção. **EMBRAPA**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho/importancia.htm>>. Acesso em: 10 mar. 2008.

ECKMANN, R. Growth and body composition of juvenile *Colossoma macropomum* Cuvier 1818 (Characoidei) feeding on artificial diets. **Aquaculture**, v.64, p.293-303, 1987.

EL-SAYED, A.F.M. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. **Aquaculture**, v.179, p.149-168, 1999.

EL-SAYED, A.F.M. Total replacement of fishmeal with animal protein sources in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L), feeds. **Aquacult. Res.**, Oxford, v.29, n.4, p.275-280, 1998.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. 2007. Database on Introductions of Aquatic species. Disponível em: <http://www.fao.org/fi/website/SwapLang.do?language=en&page=%2FFIRetrieveAction.do%3Fdom%3Dcollection%26xml%3Ddias.xml%26xp_nav%3D1>. Acessada em: 05/10/07.

FERNANDES, J. B. K., CARNEIRO, D. J., SAKOMURA, N. K.; (2004) Fontes e Níveis de Proteína Bruta em Dietas para Alevinos de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Rev. Bras. Zootec.**, v.29:646-653.

FERNANDES, João Batista Kochenborger; CARNEIRO, Dalton José; SAKOMURA, Nilva Kazue. Fontes e Níveis de Proteína Bruta em Dietas para Juvenis de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 3, n. 30, p.617-626, 2001.

FERNANDES, João Batista Kochenborger; CARNEIRO, Dalton José; SAKOMURA, Nilva Kazue. Fontes e Níveis de Proteína Bruta em Dietas para Alevinos de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Jaboticabal, v. 3, n. 29, p.646-653, 2000.

FERRAZ de LIMA. J. A. Atuações do CEPTA para a expansão do cultivo dos Colossoma e Piaractus. **Cultivo de Colossoma**. Bogotá: Guadalupe, 1988.

FURUYA, W.M. Espécies nativas. In: MOREIRA, H.L.M. *et al.* **Fundamentos da moderna aqüicultura**. Canoas, RS: ULBRA, 2001. p. 83-85.

GALDIOLI, E.M.; HAYASHI, C.; FARIA, A.C.E.A.; SOARES, C.M. 2001 Substituição parcial e total da proteína do farelo de soja pela proteína dos farelos de canola e algodão em dietas para alevinos de piavuçu *Leporinus macrocephalus* (Garavello e Britski, 1988). **Acta Scientiarum**, Maringá, 23(4): 841-847.

GARDUÑO-LUGO, M., GRANADOS-ALVARES, I., OLVERA-NOVOA, M.A. MUÑOZ-CÓRDOVA, G. (2003) Comparison of growth, fillet yield and proximate composition between Stirling Nile tilapia (wild type) (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus) and red hybrid tilapia (Florida red tilapia X Stirling red *O. niloticus*) males. **Aquaculture Research**, v.34: p. 1023-1028.

GERI, G.; *et al.* Body traits and chemical composition of muscle in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) as influenced by age and rearing environment. **Aquaculture**, v.129, p.329-333, 1995.

GURGEL, J.J.S., FREITAS, J.V.F. (1972) Sobre a composição química de doze espécies de peixes de valor comercial de açudes do nordeste brasileiro. **Boletim Técnico (DNOCS)**, v.30: p. 45-57.

HALVER, J.E.; HARDY, R.W. Nutrient flow and retention In: HALVER, J.E.; HARDY, R.W. (Eds.) **Fish nutrition**. 3.ed. San Diego: Elsevier Science, 2002. p.756-769.

HAMILTON, R.M.G., PROUDFOOT, F.G. 1995. Ingredient particle size and feed texture: effects on the performance of broiler chickens. **Animal Feed Sci. Tech.**, 51(3):203-210.

HASAN, M.R.; MACINTOSH, D. J. Optimum food particle size in relation to body size of common carp, *Cyprinus carpio* L., fry. **Aquaculture and Fisheries Management**, v. 23, p. 315- 325, 1992.

HAYASHI, C. *et al.* Uso de diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) na fase de crescimento. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.21, n.3, p.733-737, 1999.

HAYASHI, C., W. R. BOSCOLO, C. M. SOARES, V. R. BOSCOLO, e E. M. GALDIOLI. 1999. Uso de diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas para a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) na fase de crescimento. **Acta Scientiarum**, 21(3): 733-737.

HEDDE, R.D; LINDSEY, T. O; PARISH, R. C.; *et al.* Effect of diet particle size and feeding of H2-receptor antagonists on gastric ulcers in swine. **J. Anim. Sci.**, Champaign, v.61, p.1, p. 179-186, 1985.

HUSS, H.H. El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad. Roma, **Colección FAO: Pesca**, n.29, 1988.132 p.

ITUASSÚ, D.R.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R.; CRESCENCIO, R.; CAVEIRO, B.A.S; GANDRA, A.L. (2005) Desenvolvimento de tambaqui submetido a periodos de privação alimentar. **Pesq. Agro. Bras.**, Brasília, v.40, p.255-259, mar.

ITUASSÚ, D.R.; SANTOS G.R.S.; ROUBACH, R.; PEREIRA-FILHO, M. (2004) Níveis de proteína bruta para juvenis de pirarucu. **Pesq. Agrop. Bras.** Brasília, v.40, p.255-259.

JOBLING, M. **Environmental Biology of fishes**. Chapman & Hall, New York, 1995. 455p.

JOBLING, M. **Fish bioenergetics**. Fishes and fisheries series 13. Boundary Row. London. UK: Chapman e Hall. 309 p., 1995.

JUSTI, K.C.; *et al.* The influence of feed supply time on the fatty acid profile of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed on a diet enriched with n-3 fatty acids. **Food Chemistry**, v.80, p. 489-493, 2003.

KHAN, M.A.; *et al.* Growth and body composition of rohu (*Labeo rohita*) fed diets containing oil seed meals: partial or total replacement of fish meal with soybean meal. **Aquaculture Nutrition**, v.9, p.391-396, 2003.

KIM, M.K.; ÖZKÖK, E.; HAN, I.K. Effect of soybean meal and full-fat soybean for fish meal replacement on the growth performance of carp grower. **Korean Journal Animal Nutrition Feeding**, v.21, n.6, p.503-510, 1997.

KIM, S.D., KAUSHIK, S.J., PASCAUD, M. Effects of dietary lipid to protein ratios on the fatty acid composition of muscle lipids in rainbow trout. **Nutrition Reports International**, v.4, n.1, p.9-16, 1989.

KUBITZA, F. (2000) Tilápia – **Tecnologia e planejamento na produção comercial**. 1. ed. São Paulo, p 285.

KUBITZA, F. **Nutrição e alimentação dos peixes**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1997b.

KUBITZA, F. 1997. Qualidade do alimento, qualidade da água e manejo alimentar na produção de peixes. **Simpósio sobre Manejo e Nutrição de Peixes**, Piracicaba. CBNA. pp. 63-101.

LANNA, E.A.T., PEZZATO, L.E., FURUYA, W.M., VICENTINI, C.A., CECON, P.R., BARROS, M.M., (2004). Fibra bruta e óleo em dietas práticas para alevinos de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). **Rev. Bras. Zootec.**, v.33, n.6, p.2177-2185, (Supl. 3)

LANNA, E.A.T.; PEZZATO, L.E.; CECON, P.R. FURUYA, W.M.; BOMFIM, M.A.D. Digestibilidade aparente e trânsito gastrointestinal em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), em função da fibra bruta da dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.2186-2192, 2004.

LAPLACE, J.P.; LEBAS, F. Le transit digestif chez lapin. VII. Influence de la finesse du broyage des constituants dum aliment granulé. **Annales Zootechnie**, v.26, n.3, p.413-420, 1977.

LAURINEN, P., H. SILJANDERRASI, J. KARUNEN, T. ALAVIUKOLA, M. NA'ESI, e K. TUPPI. 2000. Effects of different grinding methods and particle size of barley and wheat on pig performance and digestibility. **Animal Feed Science and Technology**, 83(1):1-16.

LAZZARI, Rafael. **Estudo De Enzimas Digestivas, Crescimento E Composição Centesimal De Filés De Juvenis De Jundiá (*Rhamdia Quelen*) Alimentados Com Diferentes Fontes Protéicas**. 2005. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Produção Animal, Departamento de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

LAZZARI, Rafael *et al.* Efeito da frequência de arraçoamento e da troca do tamanho de partícula alimentar no desenvolvimento de pós-larvas de jundiá (*rhamdia quelen*). **R. Bras. Agrociência**, Santa Maria - Rs, v. 10, n. 2, p.231-234, jun. 2004.

LEONHARDT, J.H., CAETANO-FILHO, M., FROSSARD, H., MORENO, A.M. (2006), Características morfométricas, rendimento e composição do file de tilapia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, da linhagem tailandesa, local e do cruzamento de ambas. **Semana: Ciências Agrárias**, v.27, p. 125-132.

LOPES, D.C., FONTES, R.A., DONZELE, J.L. *et al.* 1988. Perda de peso e mudanças na composição química do milho (*Zea mays*, L.) devido ao carunchamento. **R. Soc. Bras. Zootec.**, 17(4):367-71.

LOVELL, R.T. **Nutrition and feeding of fish.**New York. Van Nostrand Reinhold, 1989.260p.

LOVELL, R.T. 1998. **Nutrition and feeding of fish.** Kluwer Academic Publishing, Boston, 267p.

LOVELL, T. **Nutrition and feeding of fish.** New York:Van Nostrand and Reinhold, 1988.

MACEDO-VIÉGAS, E. M.; SOUZA, M. L. R. (2004) Pré-processamento e conservação do pescado produzido em piscicultura. In: CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSSÍ, D. M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed.) **Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva.** ed. TecArt, São Paulo, p.405-480,

MADAR, Z.; THORNE, R. Dietary fiber. **Progress in Food and Nutrition Science**, v.11, p.153-174, 1987.

MAGALHÃES, Paulo César *et al.* **Circular técnico:** Fisiologia do milho. EMBRAPA. Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/publica/circul22.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2008.

MAGRO, N., RIBEIRO, A.M., PENZ JR, A.M. Efeito da granulometria do milho no desempenho de frangos de corte no período de 21 a 42 dias de idade. In: REUNIÃO ANNUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 26, 1999, Porto Alegre. **Anais... Porto Alegre: SBZ**, 1999.

MAIA, E.L., OLIVEIRA, C.C.S., SANTIAGO, A.P., CUNHA, F.E.A., HOLANDA, F.C.A.F., SOUSA, J.A. (1999) Composição química e classe de lipídios em peixes de água doce curimatã comum, *Prochilodus cearensis*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19:, p. 433-437.

MCGOOGAN , B.B.; GATLIN, D.M. Effects of replacing fish meal with soybean meal in diets for red drum *Sciaenops ocellatus* and potential for palatability enhancement. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.28, n.4, p. 374-385, 1997.

MÉDALE, F.; BLANC, D.; KAUSHIK, S.J. Studies on the nutrition of Siberian sturgeon, *Acipenser baesi*.II. Utilization of dietary non-protein energy by sturgeon. **Aquaculture**, v.93, p.143-154, 1991.

MEER, M. B., M. A. M. MACHIELS, e M. C. J. VERDEGEM. 1995. The effect of dietary protein level on growth, protein utilization and body composition of *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, 26(12):901-909.

MELO, J.F.B., BOIJINK, C.L., RADUNZ NETO, J., (2003) **Efeito da alimentação na composição química da carcaça de jundiá (*Rhamdia quelen*)**. Biodiversidade Pampeana, v. 28 de novembro . p.12-23.

MELO, José Fernando Bibiano; RADUNZ NETO, João; SILVA, José Henrique Souza da and TROMBETTA, Carlos Guilherme. DESENVOLVIMENTO E COMPOSIÇÃO CORPORAL DE ALEVINOS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES FONTES DE LIPÍDIOS. **Cienc. Rural** [online]. 2002, v. 32, n. 2, pp. 321-327. ISSN 0103-8478.

MELO, J.F.B.; RADUNZ NETO, J.; SILVA, J.H.S. Uso de diferentes fontes e níveis de lipídios na alimentação de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v.7, n.1, p.135-144, 2001.

MENDONÇA, Pedro Pierro. **Influência do fotoperíodo no desenvolvimento de juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum***. 2007. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos Dos Goytacazes, 2007.

MEURER, Fabio *et al.* Grau de moagem dos alimentos em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 27, n. 1, p.81-85, mar. 2005.

MOHSEN, A.A.; LOVELL, R.T. Partial substitution soybean meal with animal protein sources in diets for channel catfish. **Aquaculture**, v.90, p.303-311, 1990.

MONTICELLI, C. J., J. F. M. MENTEN, D. L. ZANOTTO, G. J. M. M. LIMA, e A. L. GUIDONI. 1996. Efeito da granulometria do milho, da área por animal e do sexo sobre o desempenho de suínos em crescimento e terminação. **Rev. Soc. Bras. Zoot.**, 25(6):1150-1162.

MORES, N., ZANOTTO, D., NICOLAIEWSKY, S. *et al.* Influência da granulometria do milho sobre o desenvolvimento de lesões pré-ulcerativas no Pars oesophagea de suínos em crescimento e terminação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 6, 1993, Goiânia. **Anais... Goiânia: ABRAVES**, 1993. p.158.

MOURA, Guilherme de Souza *et al.* Desempenho e atividade de amilase em tilápias-do-nylo submetidas a diferentes temperaturas. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 42, n. 11, p.1609-1615, 2007.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of warmwater, fishes and shellfishes**: nutrients requirements of domestic animals. Washington, D.C.: 1993. 114p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC) **Nutrient requirements of fish**. Washington: National Academic Press, 105p., 1993.

NIR, I., MELCION, J.P., PICARD, M. 1990. **Effect of particle size of sorghum grains on feed intake and performance of young broilers**. *Poult. Sci.*, 69:2177-2184.

NORTVEDT, R.; TUENE, S. Body composition and sensory assessment of three weight groups of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed three pellet sizes and three dietary fat levels. **Aquaculture**, v. 161, p. 295-313, 1998.

NRC (National Research Council). 1993. **Nutrient Requirements of Fish**. Academy Press. Washington, USA.

OETERER, M., SIQUEIRA, A.A.Z.C.; CRYSCHEK, S.B. (2004) Tecnologias emergentes para processamento do pescado produzido em piscicultura. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.D.; FRACALLOSSI, D.M.; CASTAGNOLLI, N.(ed.) **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical**. 1ª ed. São Paulo. Ed. TecArt. p.4881-500.

OETTERER, M. (2002) **Industrialização de pescado cultivado**. 1ª ed. Guaíba: ed. Agropecuária, p. 200.

OGAWA, M., MAIA, E.L. (1999) **Manual de pesca – Ciências e tecnologia do pescado**. 1ª. Ed. São Paulo. ed. Livraria Varela, p.430.

OHH, S.J.; ALLEE,G.;BEHNKE,K.C.; *et al.* **Effects of particle size of corn and sorghum grain on performace and digestibility of nutrients for weaned pigs**. In: AAAP ANIMAL SCIENCES CONGRESS, 3., 1985, Seoul, Korea. *Proceedings...* Seoul: Korea Republic, The Organizing Committe, 1985. v. 2, p.582-5.

OSTRENSKY A, BORGUETTI JR, SOTO D. (2008) **Aqüicultura do brasil: o desafio é crescer**. FAO / SEAP BRASILIA, 276 PAG.

PARKER, N.; DAVIS, K. (1981) **Requirements of warm water fish**. In: L. ALLEN and E. KINNEY (Eds). *Proceedings of the Bioengineering Symposium for Fish Culture*. Bethesda, Maryland, USA: Fish Culture Section of the American Fisheries Society,. p. 21-28.

PENZ, A.M., MAGRO, N. Granulometria de rações: Aspectos fisiológicos. In: SIMPÓSIO SOBRE GRANULOMETRIA DE INGREDIENTES E RAÇÕES PARA SUÍNOS E AVES, 1998, Concórdia. **Anais... Concórdia: EMBRAPA**, 1998. p.74.

PERÁGON, J.; et al. Dietary protein effects on growth and fractional protein synthesis and degradation rates in liver and white muscle of rainbow-trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.124, p.35-46, 1994.

PEZZATO, L.E. Alimentos convencionais e não convencionais disponíveis para a indústria de nutrição de peixes no Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO DE PEIXES E CRUSTÁCEOS. CBNA, **Anais... Campos do Jordão**. 126 p., p.35-52, 1995.

PORTELLA, M. C.; TASSER, M. B.; JOMORI, R. K.; CARNEIRO, D. J. Substituição do alimento vivo na larvicultura. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 12., 2002, Goiânia, GO. **Anais... Goiânia: ABRAQ**, 2002.

PUZZI, D. 1986. **Abastecimento e armazenagem de grãos**, Campinas- SP: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola. 603p.

REIS NETO, Rafael Vilhena. **Avaliações Morfométricas de Juvenis de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*), Tambaqui (*Colossoma macropomum*) e seus Híbridos**. 2007. 74 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós Graduação em Zootecnia, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

REIS, L.M.; REUTEBUCH, E.M.; LOVELL, R.T. Protein-to-energy ratios in production diets and growth, feed conversion and body composition of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v.77, p.21-27, 1989.

ROBB, D.H.F., KESTIN, S.C., WARRISS, P.D., NUTE, G.R. (2002) Muscle lipid content determines the eating quality of smoke and cooked and cooked Atlantic salmon (*Salmo solar*). **Aquaculture**, v.205. p.345-358.

ROCHA, J.C.C.; GOMES, A.V.C.; CRESPI, M.P.A. *et al.* **Effect of coast cross (Cynodon dactylon) hay's particle size on caecotrophy and some digestive parameters.** In: WORLD RABBIT CONGRESS, 7., 2000, Valencia. Proceedings... Valencia, 2000. p.1-3.

ROSTAGNO, H.S. Disponibilidade de nutrientes em grãos de má qualidade. In: CONFERÊNCIA APINCO 1993 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Santos, 1993. **Anais... Campinas: FACTA**, 1993, p.129-39.

RUIVO, U.E. Introdução aos princípios de industrialização de pescados de águas interiores. In: SEMINÁRIO DE PISCICULTURA DA ZONA DA MATA MINEIRA, 1., 1997, Muriaé. **Anais... Viçosa, MG: EPAMIG**, 1998. p.33-44.

SALHI, M.; BESSONART, M.; CHEDIAK, G. 2004 Growth, feed utilization and body composition of black catfish, *Rhamdia quelen*, fry fed diets containing different protein and energy levels. **Aquaculture**, Amsterdam, 231(1-4): 435-444.

SANTOS, B. A., MELO, J.F.B., LOPES, P.R.S., MALGARIM, M.B. (2000/01). Composição química e rendimento do file da traira (*Hoplias malabaricus*). **Rev. Fac. Zootec. Vet. Agro.** v.7/8, p. 33-39.

SHIAU, S. Y. Utilization of carbohydrates in warmwater fish: with particular reference to tilápia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 151, p. 79-96, 1997.

SHIRAI, N.; *et al.* Dietary and seasonal effects on the dorsal meat lipid composition of Japanese (*Silurus asotus*) and Thai catfish (*Clarias macrocephalus*) and hybrid *Clarias macrocephalus* and *Clarias gariepinus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v.132, p.609-619, 2002.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos.** Viçosa, UFV, 2002, 235 p.

SILVA, A.J. Regime alimentar do pacu, *Colossoma mitrei* (Berg, 1895) no Pantanal de Mato Grosso em relação à flutuação do nível da água. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 12., 1985, Campinas. **Anais... Campinas**: 1985. p.179.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; ROCHA, O. **Produção de plâncton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos**. São Carlos: RIMA, 2003. 106 p.

SOARES, C.M. *et al.* Diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas peletizadas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) em fase de crescimento. Desempenho e digestibilidade aparente. **Zootecnia Tropical**, Maracay, v. 21, n. 3, p. 275 – 287, 2003.

SOARES, Claudemir Martins *et al.* Diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas peletizadas para a tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus* L.) em fase de crescimento, desempenho e digestibilidade aparente. **Instituto Nacional de Investigações Agrícolas Inia.**, Maracay, n. , p.2103-2111, 2008.

SOUZA, Sandra Regina de *et al.* Avaliação do efeito de diferentes níveis de farelo de algodão sobre o desempenho e a composição corporal de alevinos de piavuçu (*Ieporinus macrocephalus*). **B. Inst. Pesca**, São Paulo, v. 30, n. 2, p.127-134, 2004.

SOUZA, V.L., URBINATI, E.C., GONÇALVES, D.C., SILVA, P.C. (2002). Composição corporal e índice biométrico do pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes, Characidae) submetido a ciclos alternados de restrição alimentar e realimentação. **Acta Scientiarum**, v.24, p. 533-540.

SOUZA, S.R.; HAYASHI, C.; GALDIOLI, E.M. NAGAE, M.Y.; MEURER, F. 2000 Diferentes fontes protéicas de origem vegetal para a tilápia do Nilo, durante a reversão sexual. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., Viçosa, 2000. **Anais... Viçosa: SBZ/Gmosis**. 1 CD-ROM.

SOUZA, V. L. **Efeitos da restrição alimentar e da realimentação no crescimento e metabolismo energético de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887)**. 1998. 118p. Tese (Doutorado em Aqüicultura) - Universidade Estadual Paulista. Centro de Aquicultura Estadual, Jaboticabal, SP.

SVEIER, H., e E. WATHNE. Lived Growth, feed and nutrient utilization and gastrointestinal evacuation time in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): the effect of dietary fish meal particle size and protein concentration. **Aquaculture**, 180(2): 265-282.

TACON, A.G.J. **Feed ingredients for warmwater fish: Meal and other processed feedstuffs.** Rome: FAO, 1993.

TARDIN, A.C. Produção de rações na granja: programa mínimo de qualidade. In: **SIMPÓSIO TÉCNICO DE PRODUÇÃO DE OVOS**, 1, Campinas, 1991. Anais... São Paulo: APA, 1991. p.50-72.

TORLONI, C.E.C., SILVA FILHO, J.A ., VERANI, J.R., *et al.* Estudos experimentais sobre o cultivo intensivo do pacu, *Colossoma mitrei*, no sudeste do Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 3, 1983, São Carlos. **Anais...São Carlos: UFSCar**, 1984, p.559.

VAZ, B.S. 2003 **Efeito da densidade de estocagem sobre o cultivo de alevinos de jundiá (*Rhamdia sp.*) em tanque-rede de pequeno volume.** Pelotas. 44f. (Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas).

VIDAL JUNIOR, M. V. (2000) **Técnicas de Determinação de Digestibilidade e Determinação da Digestibilidade de Nutrientes de Alimentos para Tambaqui (*Colossoma macropomum*).** Tese (Doutorado em Zootecnia) – Viçosa MG, Universidade Federal de Viçosa - YFV, p.96.

VIEIRA, Jodnes Sobreira *et al.* Efeito do processamento do milho sobre o desempenho e composição de carcaça de piaba (*Ieporinus friderici*) criada em tanques-rede. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 29, n. 2, p.453-458, 2005.

WEBSTER, C.D.; *et al.* Growth and body composition of channel catfis (*Ictalurus punctatus*) fed diets containing various percentages of canola meal. **Aquaculture**, v.150, p.103-112, 1997.

WILSON, R.P. Amino acids and proteins. In: HALVER, J.E.; HARDY, R.W. (editors). **Fish Nutrition.** Ed. Academic Press, 3^aed., 823p.

ZANOTTO, D. L. *et al.* Granulometria do milho na digestibilidade das dietas para suínos em crescimento e terminação. **Rev. Bras. Zootec.**, Viçosa, v. 24, n. 3, p. 428 – 436, 1995.

ZANOTTO, D., NICOLAIEWSKY, S., FERREIRA, A.S *et al.* Granulometria do milho em rações e desempenho de suínos em crescimento e terminação. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 29, 1992, Lavras. **Anais... Lavras: SBZ**, 1992. p.373.

ZANOTTO, D.L. *et al.* Granulometria do milho na digestibilidade das dietas para suínos em crescimento e terminação. **R Soc Bras Zootec**, v.24, n.3, p.428-436, 1995.

ZANOTTO, D.L., ALBINO, L.F.T., BRUM, P.A.R., FIALHO, F.B. Efeito do grau de moagem no valor energético do milho para frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 23, 1994, Maringá. **Anais... Maringá: SBZ**, 1994. p.57.

ZAVALA-CAMIM, L.A. **Introdução aos estudos sobre alimentação natural em peixes**. Maringá: Nupelia, 1996, 129p.

ZONOTTO, Dirceu Luíz. **Nutrição é melhor com granulometria correta**. Disponível em: <<http://www.bichoonline.com.br/artigos/aa0008.htm>>. Acesso em: 12 jan. 2008.

ZONOTTO, Dirceu Luíz; GUIDONI, Antônio Lourenço; PIENIZ, Luiz Carlos. **Instrução técnica para o suinocultor**: Granulometria do milho em rações para engorda de suínos. EMBRAPA. Disponível em: <www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=publicacoes&cod_publicacao=239>. Acesso em: 20 nov. 2007.