



FACULDADE VÉRTICE – UNIVÉRTIX
SOCIEDADE EDUCACIONAL GARDINGO LTDA. – SOEGAR

TRABALHOS DE CONCLUSÃO DE CURSO

MEDICINA VETERINÁRIA – 2015/01



COORDENAÇÃO DE CURSO: PROF. D. SC. GILBERTO VALENTE MACHADO.
PROFESSORA RESPONSÁVEL: PROF^A. M. SC. RENATA APARECIDA FONTES.

MATIPÓ, 2015.

SUMÁRIO

AURICULOPLASTIA COM TELA DE POLIPROPILENO EM EQUINO – RELATO DE CASO3	
AVALIAÇÃO DO BLOQUEIO SENSITIVO E MOTOR DA LIDOCAÍNA E LIDOCAÍNA ASSOCIADA À METADONA POR VIA EPIDURAL EM CÃES.....	18
CULTURA E CARACTERIZAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS DERIVADAS DO TECIDO ADIPOSEO E DA MEDULA ÓSSEA DE RATOS LEWIS: ESTUDO COMPARATIVO IN VITRO	34
ESTUDO DAS AFECÇÕES DENTÁRIAS E PERIODONTAIS EM EQUINOS DA RAÇA CAMPOLINA SUBMETIDOS A DIFERENTES MANEJOS.....	47
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO COM REDUÇÃO DO TEMPO DE PERMANÊNCIA DE IMPLANTE DE PROGESTERONA EM VACAS EM ANESTRO E BAIXO ESCORE CORPORAL.....	62
PREVALÊNCIA DA CISTICERCOSE BOVINA EM ESTABELECIMENTO SOB SERVIÇO DE INSPEÇÃO FEDERAL NA ZONA DA MATA MINEIRA.....	81
PREVALÊNCIA DE AFECÇÕES PODOIS EM BOVINOS LEITEIROS NO MUNICÍPIO DE MATIPÓ E REGIÃO.....	97
PROTOCOLOS DE SEDAÇÃO PARA ODONTOLOGIA EM EQUINOS	108
UTILIZAÇÃO DE SEMENTES DE GRAVIOLA (<i>Annona muricata</i> L.) NO CONTROLE DE <i>Rhipicephalus microplus</i> , CARRAPATO DE BOVINO.....	6

AURICULOPLASTIA COM TELA DE POLIPROPILENO EM EQUINO – RELATO DE CASO

Acadêmicos: Bruno José Dutra e Fábio Gardingo Heleno de Oliveira

Orientador: Bruno Santos Candido de Andrade

RESUMO: Deformidades da orelha externa em equinos resultam de diversas afecções que afetam a cartilagem auricular, causando comprometimento estético e funcional. Poucas técnicas cirúrgicas com comprovada eficiência foram descritas até o momento para a solução do problema. Sendo assim, o presente trabalho objetiva testar, através de plastia, o uso da tela de polipropileno como implante na cartilagem da orelha externa dos equinos, como método reconstrutivo das deformidades auriculares. O animal escolhido foi previamente examinado, realizando-se além do exame clínico, avaliação hematológica e bioquímica sérica. A técnica cirúrgica utilizada foi auriculoplastia com tela de polipropileno (BARD Mesh Size 3"x 6" / 7.6cm x 15cm). O animal foi submetido à sedação com Detomidina, na dose de 20µg/Kg, indução anestésica com Cloridrato de Quetamina, na dose de 2 mg/kg IV, manutenção da anestesia geral inalatória com Isoflurano, aporte ventilatório e anestesia loco-regional com lidocaína 2%. A pele do dorso da aurícula foi dissecada de forma romba cuidadosamente. Sutura em pontos simples separados fora utilizada para a dermorrafia. Após correção e tratamento da ferida, a aurícula do animal permaneceu ereta. Até o momento não houve necessidade de uma nova intervenção cirúrgica, possibilitando acreditar que houve sucesso no implante.

PALAVRAS-CHAVE: auriculoplastia; tela de polipropileno; equino.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é uma das maiores potências mundiais no agronegócio, sendo a equinocultura uma das mais importantes atividades. O rebanho brasileiro de equinos possui oito milhões de cabeças, pertencendo à região Sudeste a maior população. O agronegócio equino brasileiro gera cerca de 3,2 milhões de postos de trabalho direto e indireto (LIMA *et al.*, 2006).

Deformidades da orelha externa em equinos resultam de diversas afecções que afetam a cartilagem auricular. O parasitismo por *Anocentor nitens*, papilomatose cutânea equina, otites bacterianas e traumatismos geram deformidades. Além do comprometimento estético, as deformidades auriculares também predispõem ao desenvolvimento de otites secundárias (ADORNO *et al.*, 2008).

Poucas técnicas cirúrgicas foram relatadas para a reconstrução da orelha externa em equinos, ainda com resultados inconsistentes. O tratamento disponível atualmente envolve a remoção da causa e plastias para manter as características do pavilhão auricular. Geralmente armações locais de fixação externa visando proteção do local e suportes para cartilagem auricular são mantidos até a completa

cicatrização da orelha externa (FLORENTINO JÚNIOR, 2014). Devido ao insucesso das técnicas rotineiras, diferentes grupos de pesquisa estudam métodos mais eficientes de auriculoplastia em equinos. O uso de implantes cirúrgicos como telas de polipropileno pode ser uma alternativa cirúrgica que resulte em bom prognóstico para correção das deformidades da orelha externa. Telas em polipropileno são muito utilizadas em peritoniostomias e na reconstrução de hérnias e eventrações abdominais em humanos (MAZZINI e MANTOVANI, 1999) e em animais (SLATTER, 2007; BOJRAB, 2008).

Mínimas reações teciduais foram descritas com a utilização do polipropileno, destacando-se reação granulomatosa de corpo estranho, inflamação crônica e fibrose exacerbada (MAZZINI e MANTOVANI, 1999). Devido aos benefícios da utilização desse recurso, as características do material e aos poucos relatos de reações de corpo estranho em humanos e equinos, somando-se aos insucessos das técnicas cirúrgicas descritas para as auriculoplastias em equinos, objetiva-se com o presente trabalho, testar através de plastia o uso da tela de polipropileno como implante na cartilagem auricular dos equinos, como método reconstrutivo das deformidades auriculares na espécie.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Anatomia da orelha externa do equino

A orelha externa, é composta de duas partes: a aurícula e o meato acústico externo. A aurícula é a parte que se salienta da cabeça e o meato acústico externo é um canal que vai da base da aurícula até a membrana timpânica, distendido através de uma abertura no osso temporal (DYCE, *et al.*, 2002).

A aurícula é a parte da orelha externa extremamente móvel (HORST e HANS, 2011), permitindo ser direcionada para a origem de uma fonte sonora. Este movimento pode ocorrer independentemente ou simultaneamente (DYCE *et al.*, 2002). Dessa forma os animais podem perceber os ruídos ao seu redor sem necessitar desviar a cabeça ou direcionar o olhar, comportamento importante para manter presas e predadores em alerta (DYCE *et al.*, 2002; HORST e HANS, 2011). A orelha externa é também composta por mais duas cartilagens, que são a cartilagem anular, que é unida por um tecido elástico de modo a formar três partes de um anel, que abraça o meato acústico externo com sua parte cartilaginosa e parte inferior da cartilagem auricular e a cartilagem escutiforme que é irregular, apoiada no musculo temporal. A base da cartilagem auricular na face superficial é

ligeiramente convexa e na face profunda é ligeiramente côncava, de extremidade fina e arredondada e base larga e mais espessa (GETTY, 1981).

O formato da aurícula é determinado pela cartilagem auricular de sustentação, rígida o suficiente para manter a aurícula sempre ereta (DYCE *et al.*, 2002).

A face côncava do pavilhão auricular é dividida em concha proximal (*concha auriculare*) e cavidade conchal da escafa, plana e situada mais distalmente. Contém uma faixa cartilaginosa separada, que é a cartilagem anular (*cartilago anularis*) que se encaixa na base da tuba conchal que se sobrepõe e se fixa ao meato acústico externo. Este por sua vez possui uma parte cartilaginosa distal e uma óssea proximal, iniciando-se do estreitamento da cartilagem auricular e terminando no tímpano (DYCE *et al.*, 2002).

O meato acústico externo é recoberto por um epitélio estratificado escamoso, com glândulas sebáceas e ceruminosas tubulares, as quais secretam cerume (cerúmen), e são situadas na parte cartilaginosa do meato acústico externo (DYCE *et al.*, 2002).

A pele na face convexa da pina não se apresenta com características especiais, ela é fixa à cartilagem por uma quantidade considerável de tecido subcutâneo, com sua exceção no ápice. O tecido que forra a parte côncava é intimamente aderido à cartilagem. Existem três ou quatro cristas cutâneas que se seguem quase que paralelamente com as bordas da cartilagem auricular, mas não têm sua extensão até o ápice ou a cavidade da pina. Nas partes mais superiores, nas margens e nas cristas encontram-se cobertas com pelos longos, mas a pele entre as cristas e abaixo é delgada, com uma cobertura bem delgada de uma pelagem muito fina, e com um suprimento de numerosas glândulas sebáceas. No meato acústico externo, a pele passa a ser mais delgada, com numerosas glândulas ceruminosas suprimindo a parte cartilaginosa, grandes e espiraladas, e cobertas com uma pelagem muito escassa e fina. As glândulas são pequenas e menos numerosas ou ausentes nas partes ósseas e não têm nenhuma pelagem (GETTY, 1981).

Os músculos auriculares podem ser subdivididos em dois grupos, como músculos extrínsecos que têm sua origem na cabeça e partes adjacentes no pescoço e assim movimentam a orelha externa; e os músculos intrínsecos, que são confinados à orelha. Neste contexto em particular a cartilagem escutiforme pode ser considerada uma cartilagem sesamóide, que está intercalada no decurso de alguns desses músculos (GETTY, 1981).

2.2. Principais afecções da orelha externa

As principais afecções da orelha externa em equinos estão relacionadas ao parasitismo por *Anocentor nitens*, papilomatose cutânea equina (placa aurial) e às otites bacterianas. Os parasitismos por carrapatos e a papilomatose, além das diversas causas de traumatismo, podem resultar em alterações da cartilagem auricular e deformidades do órgão vestibulococlear. Tais alterações predispoem ao desenvolvimento de otites secundárias, além de gerar prejuízos estéticos (ADORNO *et al.*, 2008).

O carrapato *Anocentor nitens* é mundialmente conhecido como o carrapato da orelha dos equídeos (FLECHTMANN, 1985), por ser o local mais comum do parasito ser encontrado (LAVINA, 2014). É um parasito de ciclo monoxeno que pode acometer o homem e a maioria dos animais causando grandes prejuízos à saúde de ambos (BITTENCOURT *et al.*, 1999). Os animais infectados por esses parasitos sofrem lesões que culminam em invasões bacterianas, espoliação sanguínea e predisposição a miíase, causando deformações, perda da conformidade, rigidez e assimetria do pavilhão auricular e até a queda parcial do órgão em casos mais severos (BITTENCOURT *et al.*, 1999 ; CUNHA *et al.*, 2007).

A papilomatose equina é causada por três tipos de vírus, contudo somente dois, o *Papilomavírus equino* (EPV) e o *Papilomavírus* tipo 1 (EcPV-1), são causadores da papilomatose cutânea e das placas aurais. A forma de contágio entre os cavalos ainda não é totalmente conhecida. As placas formadas nos pavilhões auriculares variam de um milímetro a dois centímetros e podem ocupar grande parte da superfície auricular. As lesões podem ser únicas ou múltiplas e acometer uma ou ambas as orelhas. Elas têm maior incidência nos animais com idade superior a um ano, contudo, não é observada predileção por raça, nem mesmo distinção por sexo. As lesões causadas são elevadas e planas variando a coloração entre acinzentada e esbranquiçada tendendo a coalescência devido características hiperqueratóticas (ADORNO *et al.*, 2008).

As otites bacterianas podem ser definidas como infecções que acometem o conduto externo, podendo apresentar-se de um ou dos dois lados (ZAMBARDA *et al.*, 2012). Elas representam de 8 a 15% dos casos clínicos que são atendidos nos centros veterinários do Brasil (OLIVEIRA *et al.*, 2005).

As alterações auriculares, normalmente, resultam em deformidades do pavilhão auricular, predispondo às otites secundárias (ADORNO *et al.*, 2008).

Não são muito específicas, macroscopicamente, são observados pavilhão e meato acústico hiperêmicos, contendo acúmulo de secreção purulenta ou amarronzada, seca e pegajosa. Esta secreção tem uma riqueza em cerúmen, células inflamatórias e restos celulares. Quando crônica há espessamento acentuado da pele, assim estreitando o meato acústico. Quando se encontra nesta fase, à histologia, observa-se hiperplasia da epiderme com acantose, atrofia de folículos pilosos e hiperqueratose paraceratótica. Hiperplasia das glândulas ceruminosas, que são responsáveis pelo aumento de produção de cerúmen quase sempre é observada. Pode haver ulcerações (SANTOS e ALESSI, 2010).

2.3. Técnicas de Auriculoplastia

2.3.1 Plastias sem implantes

É comum o equino apresentar “orelha quebrada”, por diversos traumatismos. Para sua correção são indicados os tratamentos cirúrgicos, como por exemplo, remoção do tecido cicatrizado e aproximação da cartilagem (FLORENTINO JÚNIOR, 2014). A plastia corretiva também é utilizada em humanos. Uma das otoplastias utilizadas para remodelamento da deformidade conhecida como orelha proeminente, é realizada com raspagem da cartilagem auricular, para enfraquecê-la, possibilitando mudar sua angulação, sendo a concha fixada no processo mastoide, possibilitando um aspecto bem natural (OGNIBENE *et al.*, 2010).

Em equinos as plastias sem uso de implantes têm limitada indicação, devido aos aspectos morfológicos e funcionais, restringindo-se a correção de defeitos menores, havendo poucos relatos de seu uso para a correção de defeitos maiores relacionados à cartilagem auricular.

2.3.2 Plastias com uso de implantes

Implantes sintéticos ou biológicos são rotineiramente utilizados para o tratamento de hérnias perineais e inguinais quando não é possível ter uma adequada aproximação das bordas do anel herniário pelas suturas tradicionais (RIBEIRO, 2010). Todo implante utilizado cirurgicamente não deve ser alergênico, não pode ser alterado fisicamente por fluidos teciduais, não deve gerar reações de corpo estranho, nem liberar químicos irritantes, devem ser inertes, apresentar resistência compatível com sua finalidade e ter a possibilidade de estabilidade sem sofrer alterações de suas qualidades. Dentre todos os materiais encontrados, o polipropileno é o que mais se encaixa nesses requisitos de biocompatibilidade, sendo considerado o melhor dos implantes sintéticos (NIERI, 2005). O polipropileno

é uma matéria prima sintética que não produz considerável reação tecidual e apresenta uma resistência tênsil adequada, sendo mantida por vários anos em organismos vivos (VRIJLAND *et al.*, 2000).

3. RELATO DE CASO

Foi referido ao Hospital Veterinário da Faculdade Univértix um equino macho, castrado, da raça Mangalarga Marchador, 10 anos de idade, pesando 410 kg. A queixa principal do proprietário foi a presença de deformidade da orelha externa direita do animal, de curso desconhecido, devido a traumatismo na região. Procedeu-se o exame clínico geral e especial do equino e realização de exames laboratoriais que asseguraram a higidez do mesmo. O exame clínico especial revelou fratura da cartilagem auricular no seu terço médio, sem presença de tecido fibroso excessivo ao redor do sítio de fratura (Fig. 1), o que tornou possível a extensão da aurícula para a posição vertical, sem restrições mecânicas. Indicou-se então a técnica experimental de auriculoplastia com implante de tela em polipropileno como possível método corretivo para a deformidade apresentada.



FIGURA 1. Equino apresentando fratura da cartilagem auricular no terço médio da pina.

Para o treinamento das técnicas necessárias para a execução da cirurgia experimental no equino, previamente foi realizado um estudo piloto *ex vivo*. Duas peças anatômicas de orelhas externas equinas foram preparadas com tricotomia em ambas as faces. Duas técnicas diferentes de incisões foram testadas, em “s” e em parábola (FIGURA 2-A), nas faces da pina. Divulsão romba do subcutâneo foi empregada respeitando-se a rede vascular, para preparo da área de implantação da

tela, em posição distal e proximal à região de uma fratura horizontal previamente preparada no terço médio do dorso das aurículas (FIGURA 2-B). Segmentos de tela de polietileno, em formato elíptico de 3x4 cm de extensão, foram aplicados sobre a interface das fraturas das cartilagens auriculares e fixados na porção proximal, por meio de suturas em padrão simples separado com fio de náilon 2-0 (FIGURA 2-C). Os pontos na cartilagem auricular não atravessaram a pele da escafa. Após a fixação da tela na porção basal, aproximou-se o fragmento apical para a posição correta, tracionando-se a tela em sentido contrário ao das linhas de tensão, produzindo um efeito de banda de tensão no fragmento apical em sentido caudal. Pontos simples separados fixaram a tela ao fragmento apical da cartilagem auricular. Procedeu-se a dermorrafia com pontos simples separados, utilizando-se de fio de náilon 3-0 (FIGURA 2-D). Apenas após o treinamento piloto e ajustes de técnica, procedeu-se a cirurgia experimental *in vivo*.

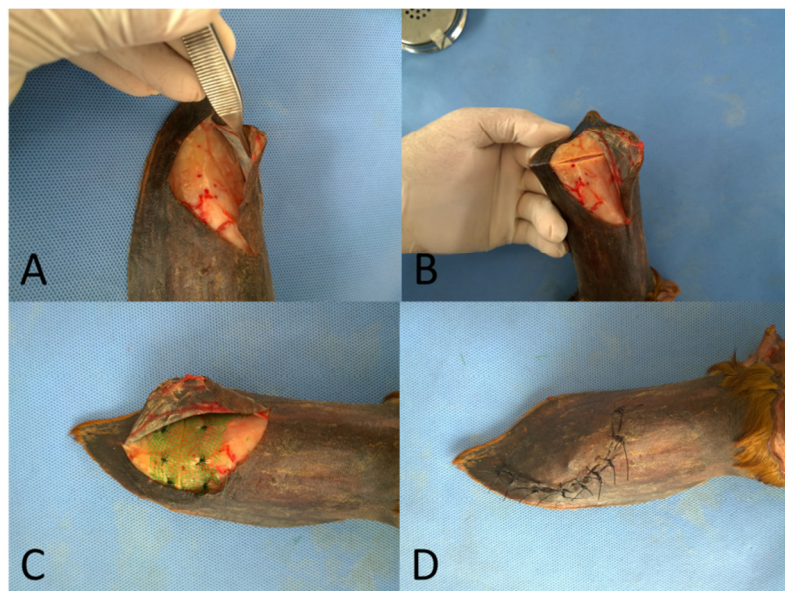


FIGURA 2 – Em A, diérese em parábola e dissecação romba do flap de pele. Em B, fratura transversal da cartilagem auricular. Em C, Colocação da tela de polietileno e fixação com suturas. Em D, dermorrafia.

A cirurgia experimental foi realizada no Hospital Veterinário da Faculdade Univértix, Campus Matipó-MG, com consentimento do proprietário do equino. O animal foi previamente examinado, realizando-se além do exame clínico, avaliação hematológica e bioquímica sérica, para atestar condições para a realização de anestesia geral. Ambas as aurículas foram fotografadas antes e após a realização dos procedimentos cirúrgicos a cada 48 horas, para registro da evolução do pós-cirúrgico. O animal teve alta médica em 30 dias e foi acompanhado por 60 dias após a realização dos procedimentos.

A técnica cirúrgica utilizada foi auriculoplastia com tela de polipropileno (BARD Mesh Size 3"x 6" / 7.6cm x 15cm), sob anestesia geral. Procedeu-se sedação com Detomidina na dose de 20µg/Kg, indução anestésica com Cloridrato de Quetamina na dose de 2 mg/kg IV, manutenção da anestesia geral inalatória com Isoflurano, aporte ventilatório e anestesia loco-regional com lidocaína 2%. O animal foi devidamente preparado com técnica cirúrgica asséptica, limpeza da orelha, todo o corpo, boca e cascos, tricotomia da aurícula e seu entorno. Um garrote elástico foi colocado na base da aurícula para diminuir o sangramento durante a diérese.

Após antisepsia cirúrgica e colocação dos panos de campo, foi realizada uma incisão em parábola, de 10 cm de comprimento, no dorso da aurícula do paciente (FIGURA 3-A).

A pele foi dissecada de forma romba, cuidadosamente, da cartilagem auricular, tomando-se cuidado para preservar a rede vascular, em especial a artéria auricular medial (FIGURA 3-A). Após dissecação dos planos, a área da fratura foi identificada. Um fragmento de tela de polipropileno de aproximadamente 3x4 cm de extensão em formato elíptico foi preparado, implantado e suturado (Fig. 3-B e C) com fio poliglecaprone 2-0, segundo a mesma técnica cirúrgica desenvolvida no estudo piloto. Dermorrafia em padrão simples separados com fio de Náilon 3-0 foi empregada (FIGURA 3-D).

Após o retorno da anestesia geral o paciente foi medicado com Gentamicina 4% na dose de 6,6 mg/kg por SID por 5 dias, Meloxicam 2% na dose de 0,6 mg/kg SID por 5 dias. A aurícula foi imobilizada com auxílio de ataduras e haste de polipropileno externa para manutenção do posicionamento correto durante processo cicatricial e para redução da possibilidade de traumas adicionais na região. O curativo foi retirado a cada 48 horas para limpeza da ferida cirúrgica com iodopovidine tópico, seguido de aplicação tópica de Rifamicina e recolocação de bandagem, até a retirada dos pontos de pele após 14 dias do ato cirúrgico.

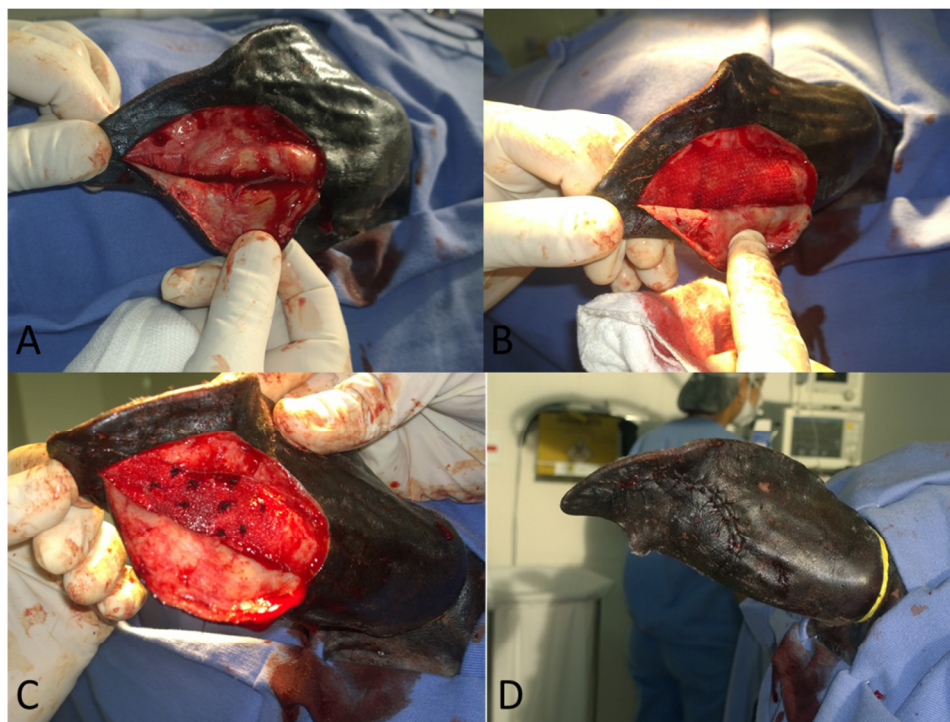


FIGURA 3 – Em A, diérese em parábola, com rebatimento do flap. Note a artéria auricular engorgitada. Em B, Colocação da tela de polipropileno sobre a área de fratura. Em C, fixação da tela com pontos simples separados. Em D, dermorráfia e resultado final.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. ESTUDO PILOTO

O estudo piloto *ex vivo* orientou o desenvolvimento da técnica cirúrgica a ser aplicada *in vivo*, ao evidenciar as dificuldades técnicas para o implante da tela de polietileno e sua fixação, o que conduziu as adaptações necessárias que tornaram possíveis sua execução. A preocupação inicial com relação à melhor face da aurícula a ser abordada levou em consideração a possibilidade do acesso, a qualidade do leito de implantação (espaço, tensão e suprimento vascular), aspectos estéticos relacionados ao possível espessamento do órgão pela presença da tela e proliferação de tecido fibroso, além da possibilidade de ocorrência de comprometimentos funcionais e estéticos em função de complicações cirúrgicas, como reação de corpo estranho, deiscência da ferida cirúrgica ou rejeição do implante.

A tentativa de implantação da tela na escafa constituiu a abordagem inicial, justificando-se pela menor visibilidade dessa região e pela presença natural de pelos em maior quantidade que no dorso da aurícula, o que contribuiria para uma menor possibilidade de identificação do implante no pós-cirúrgico, mesmo em caso de

complicações menores, como proliferação excessiva de tecido fibroso. Porém, logo a abordagem pela escafa mostrou-se ineficiente, já que há grande intimidade conectiva entre pele e cartilagem auricular nesse aspecto, sendo a região desprovida de tecido subcutâneo, o que tornou impossível a dissecação romba para exposição da cartilagem auricular na mesma.

Devido ao insucesso da dissecação pela escafa, optou-se pela abordagem do dorso da aurícula, em detrimento das preocupações estéticas iniciais. A dissecação dessa face para exposição da cartilagem auricular mostrou-se factível e de baixo grau de dificuldade, dada a menor intimidade entre os tecidos e presença de tecido subcutâneo, que provê espaço para a implantação da tela. Adicionalmente, foi possível visualizar a riqueza da rede vascular que, durante a dissecação, permanecia conectada à tela subcutânea, deixando apenas sua impressão na cartilagem auricular. Na peça anatômica, foi possível dissecar a vascularização sem lacerá-la. Essa riqueza vascular da face convexa garante o suprimento sanguíneo necessário para o reparo tecidual, fator primordial relacionado à qualidade do leito de implantação da tela. Independentemente do padrão de incisão de pele realizado (em “S” e parábola) não houve aumento do grau de dificuldade para a dissecação romba dos flaps de pele para exposição da cartilagem auricular no dorso da aurícula.

Foram realizados dois padrões de incisões de pele no estudo piloto, uma em “S” e outra em parábola, para dissecação e exposição de uma ampla área de cartilagem auricular para o implante. Entre os dois padrões de incisões testados *ex vivo*, elegeu-se para a técnica *in vivo* o padrão em parábola, pois este produziu um flap de pele e uma área de cartilagem auricular suficientes e com menor extensão de diérese quando comparado ao padrão em “S”, que produziu dois flaps de pele para uma área de exposição de cartilagem similar ao padrão em parábola.

4.2. SELEÇÃO DO CASO CLÍNICO

O equino referido apresentou em seu exame clínico características de lesão da cartilagem auricular favoráveis ao emprego da técnica proposta nesse trabalho. A fratura da cartilagem localizava-se no terço médio da aurícula, em plano transversal, bastante regular, sem presença de tecido fibroso que restringisse o reposicionamento do fragmento apical por manipulação manual. Não havia indícios de envolvimento infeccioso ou parasitário, que em geral acarretam desenvolvimento de intenso tecido fibroso que dificulta a diérese e o reposicionamento do fragmento

distal. Certamente casos que cursem com fibrose intensa e impossibilidade de extensão manual do fragmento distal não responderiam bem a abordagem proposta nesse trabalho, devido as grandes forças de tensão a que se submetem o implante e a cartilagem.

4.3. **TRANS E PÓS CIRÚRGICOS *IN VIVO***

O equino foi submetido a anestesia geral e loco-regional para realização do procedimento. Não foram verificadas complicações anestésicas no trans ou no pós-cirúrgico, recuperando-se o paciente sem intercorrências. O protocolo anestésico empregado proveu as condições necessárias para a realização da técnica, que exigia ambiente cirúrgico asséptico e imobilização do paciente para a execução da mesma, dada a delicadeza dos tecidos a serem abordados.

A antibioticoterapia profilática e terapêutica empregada, associada à manutenção da técnica cirúrgica asséptica, foi fundamental para o sucesso do procedimento. O risco de infecção cirúrgica relacionado ao uso de implantes em equinos é uma preocupação frequente na literatura, devido sua alta incidência e ao fato de propiciar aumento das chances de reação de corpo estranho e rejeição dos mesmos. Durante toda a evolução do quadro, não foram observados indícios de infecção, como presença de supuração ou deiscência da ferida.

A hemostasia preventiva pelo uso do garrote elástico na base da aurícula contribuiu substancialmente para o controle da hemorragia durante a diérese em parábola. Adicionalmente, a estase sanguínea pelo uso do garrote tornou a rede vascular mais proeminente e visível, fato que contribuiu para sua identificação, tornando mais fácil sua dissecação, evitando-se o risco de lacerações inadvertidas da rede vascular. Todo o cuidado foi tomado durante o rebatimento do flap de pele para evitar-se a secção das artérias auriculares, sob-risco do comprometimento definitivo do suprimento sanguíneo da região apical da pina, o que acidentalmente ocorreu de forma parcial nesse estudo. A complicação no pós-operatório observada em função da secção parcial da artéria auricular medial caracterizou-se pela diminuição da temperatura do ápice da pina nos primeiros cinco dias após o ato cirúrgico. Não houve diminuição da sensibilidade dolorosa local, ou mesmo desenvolvimento de necrose tecidual, o que foi a maior preocupação nesse período, devido aos indícios de hipoperfusão regional. Após o quinto dia, houve progressivo retorno à temperatura normal, sem maiores complicações relacionada ao suprimento sanguíneo da pina.

A técnica de implante *in vivo* da tela de polipropileno seguiu o mesmo padrão do realizado no estudo piloto *ex vivo*. A área de exposição da cartilagem auricular pela dissecação em parábola foi suficiente para a colocação do implante em região basal e apical à linha da fratura. Pontos simples separados com fio Poliglecaprone 2-0, distando 4 mm entre si, foram ancorados primeiramente no fragmento apical, seguindo-se o posicionamento com tensão da tela e fragmento apical da fratura e sua fixação. Imediatamente após a fixação e previamente à dermorrafia, já foi verificada estabilidade do implante, que proveu resistência às tentativas de flexão manual da linha de fratura.

Durante todo o período pós-operatório não foram observados sinais de desenvolvimento de reação de corpo estranho ao implante, presença de supuração ou deiscência da ferida cirúrgica. Edema de baixa intensidade foi observado na primeira semana após o ato cirúrgico, além de sensibilidade dolorosa, compatíveis com qualquer intervenção cirúrgica. Após 14 dias, os sinais de inflamação, como edema e dor não mais estavam evidentes e os pontos de pele foram retirados nesse período.

O curativo de sustentação da pina realizado foi eficiente em protegê-la contra as intervenções do paciente, servindo também para manter a ferida limpa. Além disso, o discreto edema apresentado pode estar relacionado ao caráter compressivo moderado do curativo de sustentação, que conteve a formação de edema como método adjuvante às demais medidas terapêuticas, sendo mantido até o vigésimo dia do pós-operatório.

Após a retirada do curativo o paciente foi acompanhado por mais dez dias, sendo verificada nesse período a correção da deformidade auricular, com sustentação da pina em posição ereta apenas pela presença do implante, independente do curativo de sustentação (FIGURA 4), evolução positiva do processo cicatricial da pele sem complicações, crescimento dos pelos da região e motricidade normal da orelha submetida ao ato cirúrgico, sem déficits perceptíveis.



FIGURA 4 – Equino submetido à auriculoplastia com tela de polipropileno, no vigésimo dia de pós-operatório, evidenciando correção da flexão da pina direita por fratura da cartilagem auricular e simetria entre as referidas.

5. CONCLUSÃO

Foi verificado que a utilização da tela de polipropileno como implante na cartilagem auricular do equino selecionado, como método reconstrutivo da deformidade auricular do tipo fratura de cartilagem auricular, teve resultado positivo durante o período avaliado, não havendo nenhum tipo de reação adversa ou complicação devido à plastia, proporcionando resultado estético e funcional satisfatórios.

REFERÊNCIAS BIOGRÁFICAS

ADORNO, V. B.; BORGES, A. S.; AMORIM, R. L.; CONCEIÇÃO, L. G.; FILHO, J. P. O.; MARCONDES, J. S.; SOUSA, N. R. Características clínicas e histopatológicas da placa auralem eqüinos das raças Mangalarga e Quarto de Milha. **Pesq. Vet. Bras.** Botucatu, v. 28 f.6, p. 279-284, junho. 2008.

BITTENCOURT, V. R. E. P.; MENEZES, G. C. R.; MASCARENHAS, A. G.; MONTEIRO, S. G. Ação dos fungos *BEAUVERIA BASSIANA* (Balsamo) Vuillemin, 1912 e *METARHIZIUM ANISOPLIAE* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1882 sobre larvas do carrapato *ANOCENTOR NITENS* (Acari: Ixodidae). **Parasitologia al Dia**, Santiago, Chile, v. 23, n. 3-4, p. 82-86, 1999.

BOJRAB, M. J. **Técnicas atuais em cirurgias de pequenos animais.** 3.ed. São Paulo: Roca, 2008.

CUNHA, A. P. da; BELLO, A. C. P. de P.; LEITE, R. C.; RIBEIRO, A. C. C. L.; FREITAS, C. M. V. de; BASTIANETTO, E.; OLIVEIRA P. R. Efeito do controle estratégico de *Amblyomma cajannense* (FABRICIUS, 1787) (acari: ixodidae) sobre a população de *anocentor nitens* (NEUMANN, 1897) (acari: ixodidae) em equinos. **Revista Bras. Parasitol. Vet.** Belo Horizonte, v.16 f.4, p.215-219, 2007.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C.J.G. **Tratado de anatomia veterinária**. 3.ed. Rio de Janeiro. 2002.

GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5.ed. Rio de Janeiro. Interamericana, 1981.

FLECHTMANN, C. H. W. **Ácaros de importância médico veterinária**. 3.ed. São Paulo, 1985.

FLORENTINO JUNIOR, José Braulio. **Cirurgia plástica é opção em animais**. Disponível em: Revistagloborural.globo.com/GloboRural/0,6993,EEC461739-1936,00.html. Acesso em: 20.abr.2015.

HORST, E. K.; HANS, G. L. **Anatomia dos animais domésticos**. Tradução. BUASSALY, F.; SUMMMA, M. E. L. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

LAVINA, M. S.; SOUZA, A. P. de; BELLATO, V.; SARTOR, A. A.; MOURA, A. B. & FAMADAS, K. M. Ixodídeos coletados em equinos e caninos no estado de Santa Catarina. **Revista Bras. de Med. Vet.** Santa Catarina, v. 36, f. 1, p. 79-84, jan/mar. 2014.

LIMA, R.A.S.; SHIROTA, R.; BARROS, G.S.C. Estudo do complexo do agronegócio do cavalo. **Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada**. São Paulo, p. 36-37, junho. 2006.

MAZZINI, D. L., MANTOVANI, M. Fechamento da parede abdominal com afastamento parcial das bordas da aponeurose utilizando sobreposição com telas de vicryl e marlex em ratos. **Acta Cir. Bras. Serial online**. São Paulo, v.14, f. 1, p. 1-4, janeiro. 1999.

NIERI, T.M. **Modelo experimental para o estudo do comportamento óptico da parede abdominal e sua interação com um material protético por biospeckle**. Biblioteca Digital da Unicamp. SP. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=vtls000389599>. Acesso em: 05.agos.2014.

OGNIBENE, S. F.; SPERLI, A. E.; FREITAS, J. O. G. de; OGNIBENE, S. de F. Otoplastia com técnica de raspagem de cartilagem auricular e remodelação com pontos no pericôndrio e fixação na mastoide. **Rev. bras. cir. plást.** São Paulo, v.25, f.2, p.271-277, abril - junho. 2010.

OLIVEIRA, L. C.; MEDEIROS, C. M. O.; SILVA, I. N. G.; MONTEIRO, A. J.; LEITE, C. A. L. & CARVALHO, C. A. M. Susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas de otite externa em cães. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** Fortaleza, v.57, f.3, p. 405-408, 2005.

RIBEIRO, J. C. S. Hérnia perineal em cães: Avaliação e resolução cirúrgica – artigo de revisão. **Revista Lusófona de Ciência e Medicina Veterinária**. Lisboa, v.3, p.26-35, 2010.

SANTOS, R. L.; ALESSI, A.C. **Patologia veterinária**. 1.ed. São Paulo, Roca, 2010.

SILVA, L. C. L. C. da; IDA, K. K.; OLIVEIRA, S. L. P. de; ISOLA, H.; CHAVES, K. A.; LEIRIA, P. A. T. Auriculoplastia com haste de polipropileno em equino – relato de caso. **Departamento de Cirurgia FMVZ/USP**. São Paulo, 2005.

SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3ed. Barueri: Manole, 2007.

VRIJLAND W. W., BONTHUIS F., STEYERBERG E. W., MARQUET R. L., JEEKEL J., BONJER H. J. Peritoneal adhesions to prosthetic materials: choice of mesh for incisional hernia repair. **Surg Endosc**. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4388102/> Acesso em: 10.abr.2015

ZAMBARDA, T. T.; COSTA, A. L.; FONTOURA, E. G.; MUELLER, E. N. & NOBRE, M. O. Tratamento de otite externa infecciosa experimental com *triticum aestivum* – resultados parciais. In: **21º CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA/ 4º MOSTRA CIENTÍFICA/ UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**, 2012, Pelotas: P. 1-2.

AVALIAÇÃO DO BLOQUEIO SENSITIVO E MOTOR DA LIDOCAÍNA E LIDOCAÍNA ASSOCIADA À METADONA POR VIA EPIDURAL EM CÃES

Acadêmica: Camila Rocha Toledo

Orientadora: Vanessa Guedes Pereira

RESUMO:

Objetivou-se avaliar a duração e extensão do bloqueio anestésico promovido pela lidocaína isolada ou associada à metadona por via epidural em cães conscientes. Foram utilizados oito cães adultos hípidos, SRD, utilizados nos dois tratamentos com intervalo de 7 dias. Foi realizada indução anestésica com propofol (6mg/kg IV) para punção do espaço epidural lombo-sacro. A anestesia epidural foi realizada com lidocaína 2% com vasoconstritor, na dose de 4mg/kg (grupo L) e metadona 0,3 mg/kg associada à lidocaína 2% na dose de 4 mg/kg com vasoconstritor (grupo LM). Foram avaliadas frequência cardíaca (FC), pressão arterial sistólica (PAS), frequência respiratória (FR), pressão parcial de dióxido de carbono ao final da expiração (EtCO₂), saturação de oxihemoglobina (SpO₂), temperatura corporal (TC), duração do bloqueio sensitivo e motor e extensão do bloqueio anestésico. Não houve diferença significativa entre os tratamentos quanto a FC, PAS, SpO₂, EtCO₂, TC, duração do bloqueio motor e sensitivo. O grupo LM apresentou diminuição da FC em M5 e M6, diferindo de M1 e M2 e da FR em M3 e M4 com relação ao valor basal. O grupo L apresentou diminuição da FR em M1. A associação metadona-lidocaína promove extensão mais cranial do bloqueio anestésico em comparação ao uso isolado da lidocaína.

PALAVRAS-CHAVE: lidocaína, metadona, epidural, cães.

1. INTRODUÇÃO

A anestesia epidural é uma técnica de anestesia regional, que consiste na deposição de anestésico local ao redor da dura-máter, normalmente empregada para a realização de procedimentos cirúrgicos retro umbilicais, bem como adjuvante da anestesia geral para o controle da dor intra e pós-operatória (MASSONE, 2003). Em pequenos animais, os principais fármacos empregados nessa modalidade são os anestésicos locais que possuem baixa seletividade, promove tanto bloqueio sensitivo quanto motor, o que torna esta técnica pouco atrativa para o controle da dor por períodos prolongados (KEEGAN *et al.*, 1995; HERPERGER, 1998; SKARDA & TRANQUILLI, 2014b).

A administração de opioides por via epidural promove menor incidência de efeitos adversos associado à profunda e prolongada analgesia, permitindo o uso de doses menores, quando comparadas à administração parenteral devido à presença de receptores específicos localizados na coluna dorsal da medula espinhal (TORSKE & DYSON, 2000; SKARDA & TRANQUILLI, 2014b).

A associação de opioides e anestésicos locais na anestesia epidural pode oferecer vantagens, pois o anestésico local promove o bloqueio motor somático e sensitivo imediato, aliviando a dor e permitindo posteriormente, a ação analgésica de longa duração do opioide (VALADÃO *et al.*, 2002b). Além disso, alguns estudos têm sugerido a possibilidade da extensão cranial do bloqueio anestésico, em função da adição de opioides aos anestésicos locais (CAMPAGNOL *et al.*, 2004; CASSU *et al.*, 2010a).

A metadona é um opioide sintético com propriedades farmacológicas semelhantes à da morfina, apesar de sua estrutura química diferir significativamente desta última (CODA, 2001). É um agonista dos receptores opioides μ , delta e kappa e paralelamente, atua como antagonista dos receptores N-metil D-aspartato (NMDA), bloqueando a recaptção de serotonina e noradrenalina, contribuindo para incrementar a analgesia promovida por este fármaco (SNYDER, 1980).

Embora a metadona apresente características farmacológicas peculiares e ação em diversos receptores que afetam a nocicepção, informações sobre seus efeitos por via epidural em cães ainda são escassas na literatura, demonstrando a importância de estudos que procurem esclarecer a segurança e eficácia analgésica deste opioide.

Sendo assim, objetivou-se com este estudo avaliar a duração e extensão do bloqueio anestésico promovido pela lidocaína isolada ou associada à metadona, administradas pela via epidural, em cães conscientes.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Lidocaína

Sintetizada em 1948, a lidocaína é um dos anestésicos mais versáteis e amplamente utilizados na medicina veterinária (MAMA, 2009).

Apresenta-se comercialmente na forma de cloridrato de lidocaína, em concentrações que variam de 0,5 a 5%, associado ou não a substâncias vasoconstritoras, sendo que para a anestesia epidural, recomenda-se a concentração de 2% com ou sem vasoconstritor (SKARDA & TRANQUILLI, 2014a; MAMA, 2009).

A lidocaína é um anestésico local do tipo amida, que possui constante de ionização (pKa) de 7,9 e baixa ligação às proteínas plasmáticas (64%) que lhe conferem o curto período de latência e período hábil (VALVERDE, 2008). Seu início

de ação ocorre cerca de dez minutos após a administração epidural, com ação por 45 a 90 minutos (MASSONE, 2003) ou 60 a 120 minutos na presença de vasoconstritor, por isso, seu uso é indicado para a realização de procedimentos cirúrgicos de curta duração (FUTEMA, 2010).

Segundo Skarda & Tranquilli (2014b), a administração epidural de 0,5 a 1 ml de lidocaína a 2% promove imediata dilatação do esfíncter anal externo, seguida de relaxamento da cauda e ataxia dos membros pélvicos com cerca de 3 a 5 minutos. Aproximadamente 0,2 ml/kg do anestésico local promove anestesia do membro pélvico e abdômen caudal após 10 a 15 minutos da administração epidural, sendo, portanto, eficaz para cirurgias abdominais.

Por outro lado, Cruz *et al.*, (1997) e Gasparini *et al.*, (2007) observaram que a lidocaína utilizada isoladamente e empregada em doses de até 0,25 ml/kg confere bloqueio sensitivo entre a quarta e a sexta vértebras lombares, inviabilizando a realização de procedimentos acima da cicatriz umbilical em cães, já que os ovários são inervados pelo terceiro e quarto nervos lombares (BAILEY, 1988).

2.2 Metadona

A descoberta de receptores opioides na medula espinhal permitiu a aplicação direta destes fármacos sobre seus receptores, promovendo prolongada e intensa analgesia com o emprego de doses reduzidas, minimizando os efeitos sistêmicos, quando comparado com a administração parenteral (TORSKE & DYSON, 2000; SKARDA & TRANQUILLI, 2014b).

Fármacos opioides exercem seus efeitos, através da interação com seus receptores específicos μ , δ e κ sendo estes, estruturalmente e funcionalmente relacionados com a ação de neurotransmissores e neuropeptídeos responsáveis pela modulação da atividade das células nervosas, através da inibição da atividade da enzima adenilciclase, do influxo íons cálcio e efluxo de íons potássio na fibra nervosa (LAMONT & MATHEWS, 2007).

A ação dos opioides em seus receptores inibem a transmissão de impulsos nociceptivos aferentes para o SNC, através de receptores pré e pós-sinápticos localizados no nervo sensorial aferente primário e medula espinhal. Paralelamente, estes fármacos modulam as vias inibitórias descendentes da dor (WAGNER, 2009).

A metadona é um opioide sintético introduzido em 1940, com propriedades farmacológicas semelhantes à da morfina apesar de sua estrutura química ser substancialmente distinta desta (BLEY *et al.*, 2004). Apresenta-se na forma de

mistura racêmica com seus dois enantiômeros: S-metadona (ou isômero d) e R-metadona (ou isômero l) (INTURRISSI, 2005).

Apresenta atividade agonista nos receptores opioides μ , δ e κ localizados em sítios centrais e periféricos, no entanto, apresenta maior afinidade e seletividade com os receptores μ (PECKHAM & TRAYNOR, 2006).

Além da ativação dos receptores opioides, a metadona apresenta atividade antagonista nos receptores NMDA, característica farmacodinâmica relacionada à eficácia deste fármaco no tratamento da dor neuropática e crônica e no tratamento de pacientes com síndrome de abstinência à morfina e heroína (GORMAN *et al.*, 1997). Outro mecanismo que contribui para o efeito antinociceptivo da metadona é a atividade monoaminérgica, promovendo a inibição da recaptação de noradrenalina e serotonina (CODD *et al.*, 1995). Por essas características farmacológicas peculiares com ação em diversos receptores que afetam a nocicepção, a metadona exerce um importante papel no controle da dor.

Poucos estudos sobre a utilização deste opioide por via epidural em cães foram encontrados. Leibetseder *et al.* (2006) compararam o uso da metadona por via intravenosa e por via epidural em cães submetidos à reconstrução de ligamento cruzado cranial e constataram que a administração epidural do opioide reduziu o consumo de isoflurano e promoveu efetiva analgesia pós-operatória. Em equinos, a administração de metadona por via epidural, na dose de 0,1mg/kg, proporcionou analgesia no períneo, região lombo-sacral e torácica, com duração de 5 horas e ausência de efeitos adversos (OLBRICH & MOSING, 2003). Em gatos, a metadona administrada por via epidural proporcionou analgesia de duração similar à meperidina (TUNG & YAKSH, 1982) e segundo Bernardi (2008), diminuiu o requerimento de analgésico pós-operatório após a realização de OSH.

3. METODOLOGIA

Este projeto foi aprovado pela Comissão no Uso de Animais – CEUA/UFV sob o protocolo nº 58/2014.

O projeto foi desenvolvido em colaboração institucional da Sociedade Educacional Gardingo– SOEGAR/FACULDADE VÉRTICE - UNIVÉRTIX com o Hospital Veterinário do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (UFV), representado pela Professora Dr^aLukiya Silva Campos Favarato, no qual disponibilizaram as instalações e equipamentos necessários. Os animais foram cedidos por proprietários que se interessaram pelo projeto e assinaram o termo de autorização (ANEXO 1).

3.1 Animais:

Foram utilizados oito cães adultos hígidos, sem raça definida, com peso médio de 20 Kg, clinicamente saudáveis, avaliados por meio de exame físico e hemograma completo. Os mesmos cães foram utilizados nos dois tratamentos com intervalo de 7 dias entre cada experimento.

3.2 Preparação dos animais

Previamente ao procedimento, os animais foram submetidos a jejum alimentar de 8 horas e hídrico de 4 horas. Foi realizada tricotomia da região lombo-sacral, para a realização da anestesia epidural e da região da veia cefálica, para acesso venoso.

3.3 Protocolo experimental

Previamente a indução anestésica, foi realizada a cateterização da veia cefálica com cateter de calibre 20G e administração de solução de NaCl a 0,9% na velocidade de 6 ml/kg/h. Neste momento, foi realizada indução anestésica com propofol na dose de 6mg/kg por via intravenosa, atingindo plano anestésico superficial para punção do espaço epidural lombo-sacral, entre a sétima vértebra lombar (L7) e primeira vértebra sacral (S1). Os animais foram posicionados em decúbito esternal, estendendo-se os membros pélvicos cranialmente para punção do espaço epidural, cuja localização foi confirmada pela aspiração de uma gota do anestésico, depositada no canhão da agulha (CRUZ *et al.*, 1997).

A partir deste momento os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais. No grupo L (GL), foi empregada lidocaína 2% com vasoconstritor na dose de 4mg/kg. No grupo LM (GLM), a metadona na dose de 0,3 mg/kg foi

associada à lidocaína 2% na dose de 4 mg/kg com vasoconstritor. Ambos os grupos foram preparados em volumes iguais, acrescentando NaCl a 0,9%, perfazendo um volume total de 0,23 ml/kg.

Após a anestesia epidural, os animais foram mantidos em decúbito esternal até o final da avaliação dos parâmetros cardiovasculares e respiratórios.

3.4 Variáveis mensuradas

3.4.1 Frequência cardíaca: obtida em batimentos por minuto (bpm), através do oxicapnógrafo, cujo sensor foi posicionado entre os dígitos do membro torácico.

3.4.2 Pressão Arterial Sistólica (PAS): obtida em mmHg, pelo método oscilométrico, sendo o manguito colocado imediatamente abaixo da articulação umeroradioulnar.

3.4.3 Frequência Respiratória (FR): mensurada em movimentos por minuto (mpm) e obtida pela contagem dos movimentos da parede do tórax em um minuto.

3.4.4 Pressão parcial de Dióxido de Carbono ao Final da Expiração (EtCO₂): mensurada em mmHg, por leitura direta em oxicapnógrafo, conectado no animal através de sonda intranasal ou máscara.

3.4.5 Saturação da Oxihemoglobina (SpO₂): mensurada em %, por leitura direta do oxicapnógrafo, sendo o sensor posicionado entre os dígitos do membro torácico.

3.4.6 Temperatura Corporal: registrado em graus Celsius (°C), por meio de termômetro digital posicionado no reto.

3.4.7 Duração do bloqueio anestésico

A duração do bloqueio sensitivo foi avaliada através de estímulos nociceptivos somáticos, aplicados a cada 15 minutos, na prega interdigital dos membros pélvicos e região perianal, imediatamente após a mensuração das variáveis fisiológicas. O estímulo foi aplicado com a pinça de Kelly, cujas ranhuras foram protegidas por borracha, sendo então realizado o pinçamento da prega interdigital até a primeira cremalheira da pinça até resposta positiva do animal, detectada pelo movimento da

cabeça em direção ao estímulo. A duração do bloqueio motor foi determinada por meio de retorno da capacidade do animal em se manter em estação.

3.4.8 Extensão do bloqueio anestésico

A extensão do bloqueio anestésico foi avaliada através de estímulos nociceptivos somáticos, aplicados a cada 15 minutos na região do dorso, iniciando-se na região lombo-sacral em direção cranial às vértebras lombares e torácicas, imediatamente após a mensuração do reflexo interdigital. O estímulo foi aplicado com a pinça de Kelly, cujas ranhuras foram protegidas por borracha, até a resposta positiva no teste do panículo. Dessa forma, o estímulo foi aplicado em cada uma das vértebras, sendo registrado o processo espinhoso da respectiva vértebra em que o animal apresentava sensibilidade (GASPARINI *et al.*, 2007; CASSU *et al.*, 2010a).

3.4.9 Tempo para mensuração das variáveis

Os tempos estabelecidos para mensuração das variáveis foram:

- *M0 (basal)*, anteriormente indução anestésica;
- *M1 (indução)*, após a indução anestésica;
- *M2 (epidural)*, imediatamente após a anestesia epidural;
- *M3 (15 min)*, 15 minutos após M2;
- *M4 (30min)*, 30 minutos após M2;
- *M5 (45min)*, 45 minutos após M2;
- *M6 (60min)*, 60 minutos após M2.

Após este período foram avaliadas apenas a duração e extensão do bloqueio anestésico a cada 15 minutos após M6 até a recuperação do reflexo interdigital.

3.5 Análise estatística

Para verificar a normalidade dos dados, foi realizado o teste Kolmogorov-Smirnov. Os dados que atenderam a normalidade foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e apresentando diferença estatística foi realizado teste de Tukey. Para os dados que não atenderam a normalidade, bem como para a análise da extensão do bloqueio anestésico foi realizado o teste não paramétrico Mann-Whitney. Todos os testes foram realizados por meio do programa estatístico SigmaPlot 12.5, sendo adotado o grau de significância de 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados dos parâmetros cardiovasculares e respiratórios estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Média e desvio padrão da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura corporal (TC), saturação de oxihemoglobina (SpO₂), concentração parcial de dióxido de carbono ao final da expiração (EtCO₂) e pressão arterial sistólica (PAS) de cadelas submetidas à anestesia epidural com lidocaína (L) e lidocaína associada a metadona (LM).

	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6
FC							
L	91±14 ^{Aa}	117±29 ^{Aa}	126±23 ^{Aa}	113±35 ^{Aa}	103±27 ^{Aa}	94±18 ^{Aa}	97±17 ^{Aa}
LM	110±22 ^{Aab}	118±20 ^{Aa}	120±23 ^{Aa}	103±26 ^{Aab}	92±24 ^{Aab}	83±13 ^{Ab}	80±16 ^{Ab}
FR							
L	24±5 ^{Aa}	14±6 ^{Ba}	16±9 ^{Aa}	15±5 ^{Aa}	21±7 ^{Aa}	19±7 ^{Aa}	19±5 ^{Aa}
LM	29±25 ^{Aa}	28±11 ^{Aab}	25±8 ^{Aab}	19±3 ^{Ab}	17,5±3 ^{Ab}	18±7 ^{Aab}	21±7 ^{Aab}
TC							
L	38,5±0,2 ^{Aa}	38,1±0,2 ^{Aab}	38,0±0,4 ^{Aab}	37,8±0,5 ^{Aab}	37,6±0,5 ^{Ab}	37,0±0,5 ^{Ab}	37,5±0,6 ^{Ab}
LM	38,5±0,2 ^{Aa}	38,2±0,5 ^{Aab}	37,9±0,3 ^{Aab}	37,8±0,4 ^{Ab}	37,7±0,5 ^{Ab}	37,7±0,6 ^{Ab}	37,7±0,3 ^{Ab}
SpO₂							
L	93±3 ^{Aa}	90±4 ^{Aa}	90,5±3 ^{Aa}	95,5±3 ^{Aa}	97,5±3 ^{Aa}	96±2 ^{Aa}	96±2 ^{Aa}
LM	95±3 ^{Aa}	91±2 ^{Aa}	92,5±3 ^{Aa}	95±2 ^{Aa}	95±3 ^{Aa}	97±2 ^{Aa}	93±3 ^{Aa}
EtCO₂							
L	24±5 ^{Aa}	32±8 ^{Aa}	33,5±9 ^{Aa}	34,5±6 ^{Aa}	32±6 ^{Aa}	30±6 ^{Aa}	32±6 ^{Aa}
LM	25±7 ^{aa}	27±10 ^{Aa}	28±8 ^{Aa}	31±7 ^{Aa}	32±7 ^{Aa}	31±8 ^{Aa}	34±6 ^{Aa}
PAS							
L	123±16 ^{Aa}	141±20 ^{Aa}	134±23 ^{Aa}	122±25 ^{Aa}	124±28 ^{Aa}	128±23 ^{Aa}	142±27 ^{Aa}
LM	142±16 ^{Aa}	132±11 ^{Aa}	120±12 ^{Aa}	127±17 ^{Aa}	121±17 ^{Aa}	124±14 ^{Aa}	137±19 ^{Aa}

Letras iguais maiúsculas na coluna, os tratamentos não diferem entre si e letras iguais minúsculas nas linhas, os tratamentos não diferem na comparação entre os tempos, segundo o teste de Tukey (p<0,05).

A anestesia epidural lombo-sacral é uma técnica conhecida por sua simplicidade, segurança e eficácia, sua associação a fármacos opioides promove analgesia de longa duração com mínimos efeitos sistêmicos (SKARDA & TRANQUILLI, 2014b)

A frequência cardíaca não apresentou diferença significativa entre os grupos L e LM (TABELA 1). Este resultado difere do relatado por Bosmans *et al.* (2011) que observaram valores menores de frequência cardíaca no grupo de associação de metadona ao anestésico local. Com relação à administração da lidocaína isolada por via epidural não houve diminuição significativa da frequência cardíaca em comparação ao basal e esses resultados corroboram com os dados de Cassu *et al.* (2010b) que em seu estudo, também não observaram alterações cardíacas associadas a lidocaína.

Na análise dos grupos ao longo do tempo o grupo LM apresentou menores médias de FC nos tempos M5 e M6, diferindo-se estatisticamente de M1 e M2 (TABELA 1). Resultado semelhante foi observado por Bosmans *et al.* (2011), que relataram médias de frequência cardíaca menores em comparação ao grupo placebo, em cães anestesiados com isoflurano, e Leibetseder *et al.* (2006), que observaram diminuição da frequência cardíaca sem a ocorrência de bradicardia em cães anestesiados com isoflurano, que receberam 0,3 mg/kg de metadona por via epidural. Esta alteração cardiovascular pode ser justificada pela absorção dos opioides no espaço epidural. O uso de opioides lipofílicos por via epidural promovem rápido efeito analgésico, porém de curta duração, pois são rapidamente absorvidos pelos vasos sanguíneos do espaço epidural, resultando também em efeitos similares aos observados quando administrados por via sistêmica (VALVERDE, 2008; BOSMANS *et al.*, 2011). No entanto, a diminuição da frequência cardíaca não caracterizou bradicardia, estando dentro dos limites fisiológicos da espécie.

A PAS também não apresentou diferença significativa na comparação entre os grupos e em ambos os grupos não foram observadas variações significativas ao longo do tempo (TABELA 1). Após a anestesia epidural é esperada hipotensão pela utilização de anestésico local, que promove bloqueio pré-ganglionar simpático e redução da atividade vasoconstritora na região afetada, no entanto, o grau com que isso ocorre depende da condição cardiovascular do animal (VEERING, 2003). Já os opioides, promovem poucos efeitos sobre a pressão arterial, a menos que sejam administrados por via intravenosa e em bólus (VALADÃO *et al.*, 2002b; MUIR III, 2009).

A depressão respiratória é o principal efeito adverso da anestesia epidural, tanto com o uso de anestésicos locais quanto de opioides (FANTONI & MASTROCINQUE, 2010; FUTEMA, 2010). Na análise comparativa entre os grupos, houve alteração no grupo L, que apresentou menores médias deste parâmetro logo

após a indução anestésica (TABELA 1), resultado que pode estar associado ao uso do propofol. O efeito mais pronunciado após a utilização do propofol é a redução da FR devido à depressão do centro respiratório e diminuição da resposta da pressão parcial de CO₂, no entanto, mesmo apresentando menores médias, a FR se manteve dentro dos parâmetros fisiológicos para a espécie (CORREA *et al.*, 2013). Na comparação ao longo do tempo o grupo LM apresentou menores médias deste parâmetro nos tempos M3 e M4, diferindo-se significativamente dos valores basais (TABELA 1). Segundo Wagner (2009), a administração de opioides associados a anestésicos gerais podem causar depressão respiratória dose dependente. Este efeito é chamado de depressão respiratória precoce e está relacionado à absorção do opioide pelos vasos sanguíneos epidurais e sua distribuição até o sistema nervoso central (FANTONI & MASTROCINQUE, 2010). Mesmo apresentando valores mais baixos a frequência respiratória se manteve dentro da normalidade para a espécie, corroborando com resultados de Monteiro *et al.* (2008) que em seu estudo com metadona isolada pela via epidural não observaram alterações respiratórias significativas.

A pressão parcial de CO₂ ao final da expiração (EtCO₂) pode ser empregada para estimar a pressão parcial de CO₂ no sangue arterial (PaCO₂) em pacientes normais (NUNES, 2010; LICHTENBERGER, 2007), e seus valores variam entre 35 a 45 mmHg para pequenos animais acordados (HASKINS, 2014). A EtCO₂ é utilizada na anestesiologia com o objetivo de monitorar a ventilação espontânea e mecânica, sendo um método confiável para detectar hipo ou hiperventilação. Neste trabalho, em todos os momentos de ambos os grupos experimentais, os valores deste parâmetro se apresentaram abaixo dos valores de referência (TABELA 1), caracterizando hipocapnia, devido à hiperventilação dos animais após a colocação da máscara ou cateter intranasal.

A saturação de oxiemoglobina (SpO₂) é um método não invasivo de avaliação da capacidade dos pulmões de oxigenar o sangue, sendo um importante método para prevenção de hipóxia (HASKINS, 2014; NUNES, 2010). Neste estudo, todos os animais apresentaram valores de SpO₂ normais (TABELA 1), que segundo Haskins (2014) variam de 90 a 100%. A normalidade dos valores de SpO₂ e EtCO₂, neste trabalho, demonstram que apesar da diminuição da frequência respiratória no grupo LM, esta não caracterizou depressão respiratória e não promoveu prejuízo da perfusão tecidual.

Com relação à temperatura corporal, não foram observadas alterações significativas na comparação entre os grupos. Tanto o grupo L quanto o LM apresentaram redução progressiva da temperatura ao longo do tempo, diferindo estatisticamente do momento basal a partir de M4 (TABELA 1). A diminuição da temperatura corporal pode estar relacionada à diminuição da atividade muscular, metabólica e dos mecanismos hipotalâmicos que realizam a manutenção da temperatura, em decorrência do uso de anestésicos gerais, bem como pelo bloqueio motor promovido pelo anestésico local (HASKINS, 2014). Estes resultados corroboram os achados de Cassu *et al.* (2010b), que observaram diminuição da temperatura corporal após a anestesia epidural com lidocaína isolada ou associada a clonidina, diferindo do momento basal.

Com relação à duração do bloqueio anestésico, o tempo médio de bloqueio interdigital promovido pela lidocaína com vasoconstritor foi de 150 minutos e de lidocaína associada à metadona foi de 188 minutos. Estes resultados diferem dos descritos por outros autores que compararam o bloqueio sensitivo promovido pela lidocaína isolada ou associada a opioides (Monteiro *et al.*, 2008; Cassu *et al.*, 2010a). O uso de doses maiores de lidocaína (5mg/kg) sem vasoconstritor resultou em 88 minutos de bloqueio sensitivo, enquanto a associação da lidocaína-metadona (0,3mg/kg) promoveu tempo menor de bloqueio (77 minutos) ao uso isolado do anestésico local (Monteiro *et al.*, 2008). Cassu *et al.* (2010a) relatam que a lidocaína promoveu 69 minutos de bloqueio sensitivo, enquanto a associação lidocaína-fentanil promoveu tempo máximo de 98 minutos.

Além disso, como foi observado, o uso da metadona não prolongou a duração do bloqueio sensitivo promovido pela lidocaína. Segundo Wetmore & Glowaski (2000), a associação de anestésicos locais e opioides pela via epidural visa, além da obtenção de efeito analgésico mais prolongado, aumentar a duração do bloqueio sensitivo e estendê-lo a segmentos mais craniais. Entretanto, as diferenças observadas entre os estudos com a associação de anestésicos locais e opioides por via epidural pode estar relacionada à afinidade de cada fármaco com seus receptores opioides e sua lipossolubilidade, o que, segundo Valadão *et al.* (2002a), são características que influenciam no período de latência, período hábil e na ocorrência de efeitos adversos dos opioides.

O retorno do reflexo motor foi de 134 minutos no grupo L e 149 minutos no grupo LM, tempo este semelhante ao retorno do reflexo perianal que foi de 135 minutos no grupo L e de 153 minutos no grupo LM. Neste estudo, em ambos os

tratamentos, o bloqueio motor apresentou menor duração que o bloqueio sensitivo estando de acordo com o descrito por Massone & Cortopassi (2010) e Skarda & Tranquilli (2014b). O bloqueio sensitivo e motor ocorrem de acordo com a seletividade do anestésico local pelas fibras nervosas em função de suas características neurofisiológicas. Nas fibras não mielinizadas como as fibras C, o impulso nervoso ocorre de forma contínua e quanto maior for a espessura e mielina presente em uma fibra, maior será a perda da corrente capacitiva transmitida ao decorrer da membrana, com isso, qualquer interferência é suficiente para bloquear a fibra. Já nas fibras mielinizadas (A- α , A- β , A- γ , A δ e B) esses impulsos ocorrem de forma saltatória pelos nodos de Ranvier, que por sua vez são rápidos. Devido à composição das fibras e seletividade dos anestésicos, o bloqueio ocorre primeiro nas fibras nociceptivas e pós-ganglionares simpáticas (fibras C), fibras pré-ganglionares autônomas (B) realizando bloqueio simpático, em seguida fibras térmicas (A- δ), fibras de alta pressão (A- β), fibras motoras (A- α) e por último fibras de sensibilidade vibratória e impulsos proprioceptivos (A- γ) (MASSONE & CORTOPASSI, 2010; SKARDA & TRANQUILLI, 2014b).

Na avaliação da altura do bloqueio anestésico o grupo L apresentou extensão máxima do bloqueio em T10, no entanto, o grupo LM alcançou maior altura de bloqueio chegando a T8. Foi observada diferença estatística em M6, M9 a M11, onde o grupo LM apresentou maior extensão do bloqueio (FIGURA 1).

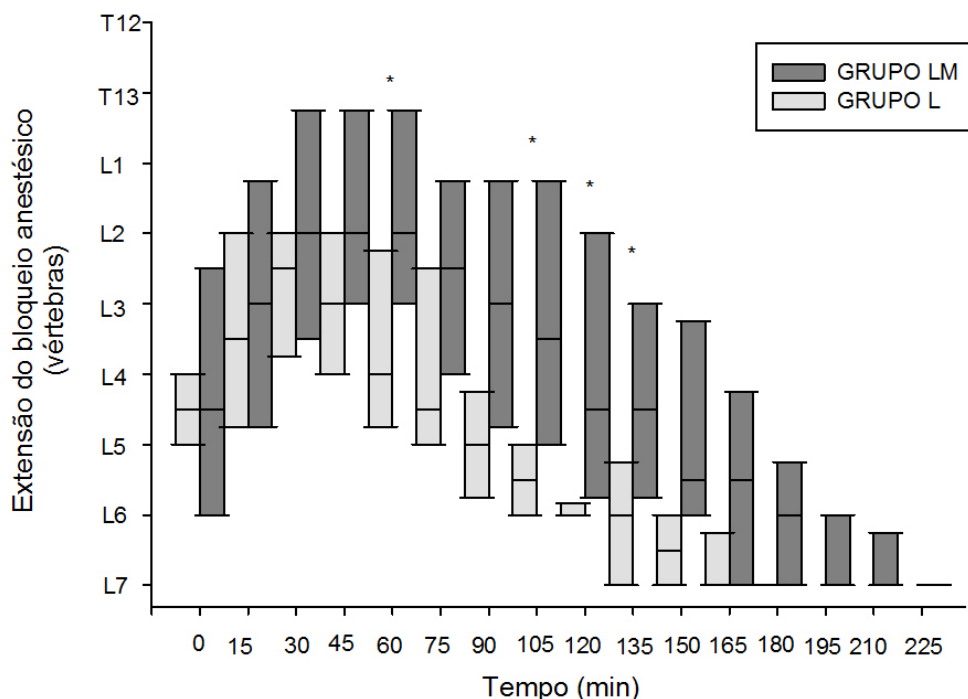


Figura 1: Representação da extensão cranial do bloqueio anestésico ao longo de tempo em cadelas submetidas à anestesia epidural com lidocaína (L) e lidocaína associada à metadona (LM). (*), $p < 0,05$ na comparação entre os grupos.

Estudos com administração de lidocaína a 2% por via epidural demonstram que a altura máxima do bloqueio anestésico não ultrapassa a quarta vértebra lombar (CASSU *et al.*, 2010b; GASPARINI *et al.*, 2007). Porém, no presente estudo, o grupo de administração da lidocaína a 2% alcançou médias de bloqueio na terceira vértebra lombar, corroborando os achados de Monteiro *et al.*, (2008), que utilizando lidocaína isolada a 2% também alcançou o mesmo bloqueio. Um animal do grupo L alcançou altura máxima de bloqueio na décima vértebra torácica.

Observou-se no presente estudo que a associação de 0,3 mg/kg de metadona a 4 mg/kg de lidocaína a 2% com vasoconstritor, promoveu um bloqueio mais cranial, atingindo entre a segunda e primeira vértebras lombares. Resultado semelhante foi observado por Monteiro *et al.*, (2008), que também observaram bloqueio anestésico mais cranial, quando associaram metadona a lidocaína sem vasoconstritor, por via epidural, apesar da dose de lidocaína utilizada ter sido superior à utilizada neste estudo.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A associação de metadona a lidocaína promoveu extensão mais cranial do bloqueio anestésico, comparado ao uso da lidocaína a 2% com vasoconstritor.

A associação de metadona à lidocaína não promoveu maior duração do bloqueio motor e sensitivo quando comparado ao uso da lidocaína isolada.

O uso da lidocaína isolada ou associada à metadona não promove alterações cardiovasculares e respiratórias prejudiciais em cães conscientes.

6. REFERÊNCIAS

BAILEY, C. S *et al.* Spinal nerve root origins of the cutaneous nerves of the canine pelvic limb. **American Journal of Veterinary Research**, v. 49, p. 115-119, 1988.

BERNARDI, C. A. **Comparação do efeito analgésico da metadona via intramuscular ou epidural em gatas submetidas à ovariossalpingohisterectomia**. f. 48. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, 2008.

BLEY, C. R. *et al.* Comparison of perioperative racemic methadone, levo-methadone and dextromoramide in cats using indicators of post-operative pain. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 31, p.175-182, 2004.

BOSMANS, T. *et al.* Cardiovascular effects of epidural administration of methadone, ropivacaine 0.75% and their combination in isoflurane anaesthetized dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 38, p. 146-157, 2011.

CAMPAGNOL, D. *et al.* Efeitos cardiorrespiratório e analgésico da clonidina, xilazina, butorfanol, buprenorfina e tramadol, associados à lidocaína, na anestesia epidural de cães. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v.41, p.41-42, 2004.

CASSU, R.N. *et al.* Lidocaína com vasoconstritor isolada e associada ao fentanil via peridural em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 40, p. 580-586, 2010a.

CASSU, R. N., *et al.* Anestesia peridural com lidocaína isolada ou associada à clonidina: efeito cardiorrespiratório e analgésico em cães. **Ciência Rural**, v.10, n. 10, p. 2129-2134, 2010b.

CODA, B. A. Opioids. In: BARASH, P. G.; CULLEN, B. F. STOELTING, R. K. **Clinical Anesthesia**, 4ª Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001.

CODD, E. E. *et al.* Serotonin and Norepinephrine Uptake Inhibiting Activity of Centrally Acting Analgesics: Structural Determinants and Role in Antinociception. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 274, n. 3, p. 1263- 1270, 1995.

- CORREA, A. L. *et al.* Efeitos clínicos e cardiorespiratórios do propofol em microemulsão em cães. **Ciência Rural**. v. 43, n. 6, p. 1107-1113, 2013.
- CRUZ, M. L. *et al.* Epidural anaesthesia using lignocaine, bupivacaine or a mixture of lignocaine and bupivacaine in dogs. **Journal of Veterinary Anaesthesia**, v. 24, p. 30-33, 1997.
- FANTONI, D. T.; MASTROCINQUE, S. Fisiopatologia e Controle da Dor Aguda. In: **Anestesia em Cães e Gatos**. 2ª Ed., São Paulo: Roca, p. 521-541, 2010.
- FUTEMA, F. Técnicas de anestesia local: Tronco e Membros. In: FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. G. **Anestesia em cães e gatos**. 2ª Ed., São Paulo: Roca, p. 298-309, 2010.
- GASPARINI, S. S. *et al.* Anestesia epidural com ropivacaína, lidocaína ou associação de lidocaína e xilazina em cães. Efeitos cardiorrespiratório e analgésico. **Ciência Rural**, v. 37, p. 418- 424, 2007.
- GORMAN, A. L.; ELLIOTT, K. J.; INTURRISSI, C. E. The d- and l-isomers of methadone bind to the non-competitive site on the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor in rat forebrain and spinal cord. **Neuroscience Letters**. v. 223, p. 5-8, 1997.
- HASKINS, S. C. Monitoração de Pacientes Anestesiados. In: TRANQUILLI, W.J.; THURMON, J.C.; GRIMM, K.A. **Lumb & Jones Veterinary Anesthesia and Analgesia**. 4ª Ed. São Paulo: Roca, p. 582- 608, 2014.
- HERPERGER, L. J. Posoperative urinary in a dog following morphine with bupivacaine epidural analgesia. **Canadian Veterinary Journal**. v. 3, p. 650 – 652, 1998.
- INTURRISSI, C. E. Pharmacology of methadone and its isomers. **Minerva Anestesiologica**. v. 71, p. 435-437, 2005.
- KEEGAN, R. D.; GREENE, S. A.; WEIL, A. B. Cardiovascular effects of epidurally administered morphine and a xilazine-morphine combination in isoflurane anesthetized dogs. **American Journal Veterinary Research**, v. 56, n.4, p. 496-500, 1995.
- LAMONT, L. A.; MATHEWS, K. A. Opioids, Nonsteroidal Anti-inflammatories, and Analgesic Adjuvants. In: TRANQUILLI, W. J.; THURMON, J. C.; GRIMM, K. A. **Lumb & Jones Veterinary Anesthesia and Analgesia**. 4ª Ed. Iowa: Blackwell Publishing, p. 241-272, 2007.
- LEIBETSEDER, E. N.; MOSING, M.; JONES, R. A comparison of extradural and intravenous methadone on intraoperative isoflurane and postoperative analgesia requirements in dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 33, p. 128–136, 2006.
- LICHTENBERGER, M.; KO, J. Critical Care Monitoring. **Veterinary Clinics Exotic Animal Practice**, p. 317-344, 2007.

MAMA, K. R. Anestésicos locais. In: GAYNOR, J. S.; MUIR III, W. W. Manual do controle da dor em Medicina Veterinária. 2ª Ed. São Paulo: Medvet, p. 231-248, 2009.

MASSONE, F. Anestesia local. In: **Anestesiologia Veterinária: Farmacologia e Técnicas**. 4ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 33-42, 2003.

MASSONE, F.; CORTOPASSI, S. R. G. Anestésicos Locais. In: FANTONE, D. T.; CORTOPASSI, S. R. G. **Anestesia em cães e gatos**. 2ª Ed. São Paulo: Roca, p. 303-306, 2010.

MONTEIRO, E. R. *et al.* Efeitos da metadona ou do neostigmine, associados à lidocaína administrados pela via epidural em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 60, n. 6, p.1439-1446, 2008.

MUIR III, W. W. Drogas utilizadas para tratar a dor. In: GAYNOR, J. S. & MUIR III, W. W. **Manual de controle da dor em Medicina Veterinária**. 2ª Ed. São Paulo: Medvet, p. 141-162, 2009.

NUNES, N. Monitoração da Anestesia. In: FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. G. **Anestesia em Cães e Gatos**. 2ª Ed. São Paulo: Roca, p. 83 – 101, 2010.

OLBRICH, V. H. MOSING, M. A comparison of the analgesic effects of caudal epidural methadone and lidocaine in the horse. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 30, p 156 – 164. 2003.

PECKHAM, E. M.; TRAYNOR, J. R. Comparison of the antinociceptive response to morphine and morphine-like compounds in male and female Sprague-Dawley rats. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, n. 316, p. 1195-1201, 2006.

SKARDA, R. T.; TRANQUILLI, W. J. Anestésicos Locais. In: TRANQUILLI, W. J.; THURMON, J. C.; GRIMM, K. A. **Lumb & Jones' Anestesiologia e Analgesia Veterinária**. 4ª Ed. São Paulo: Roca, p. 428 – 454, 2014a.

SKARDA, R. T; TRANQUILLI W. J. Técnicas de Anestesia e Analgesia Local e Regional: Cães. In: TRANQUILLI, W. J.; THURMON, J. C.; GRIMM, K. A. **Lumb & Jones' Anestesiologia e Analgesia Veterinária**. 4ª Ed., São Paulo: Roca, p. 615-644, 2014b.

SNYDER, E. W. *et al.* Prolonged electrophysiological and behavioral alterations following a single injection of methadone in cats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. v. 12, p. 893-898, 1980.

TORSKE, K. E.; DYSON, D. H. Epidural analgesia and anesthesia. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 30, p. 859 – 874, 2000.

TUNG, A. S.; YAKSH, T. L. The antinociceptive effects of epidural opiates in the cat: studies of pharmacology and the effects of lipophilicity in spinal analgesia. **Pain**, v. 12, p. 343-356, 1982

VALADÃO, C. A. A.; DUQUE, J. C.; FARIAS, A. Administração epidural de opioides em cães. **Ciência Rural**, v. 32, p. 347-355, 2002a.

VALADÃO, C. A. A.; MAZZEI, S.; OLESKOVICZ, N. Injeção epidural de morfina ou cetamina em cães: avaliação do efeito analgésico pelo emprego de filamentos de von Frey. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 54, p. 383-389, 2002b.

VALVERDE, A. Epidural Analgesia and Anesthesia in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animals**. v. 38, p. 1205-1203, 2008.

VEERING, B. TH. Cardiovascular and pulmonary effects of epidural anaesthesia. **Minerva Anesthesiol.** v. 69, n. 5, p. 433-437, 2003.

WAGNER, A. N. Opioides. In: GAYNOR, J. S.; MUIR III, W. W. **Manual de controle da dor em Medicina Veterinária**. 2ª Ed. São Paulo: Medvet, p.164-182, 2009.

WETMORE, L. A.; GLOWASKI, M. M. Epidural analgesia in veterinary critical care. **Clinical Techniques Small Animal. Practice**, v. 15, p. 177-188, 2000.

ANEXO 1

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA USO DE ANIMAIS EM ESTUDO

Eu, _____, portador do documento de identidade _____ autorizo a participação do animal de minha propriedade/responsabilidade de nome _____, canino, fêmea, _____ de idade, raça _____ no estudo "Avaliação do bloqueio sensitivo e motor da lidocaína e lidocaína associada à metadona por via epidural em cães" a ser realizado no Hospital Veterinário da Instituição _____.

Estou ciente de que:

- Será utilizado o protocolo anestésico pré-estabelecido no estudo;
- O animal permanecerá no Hospital Veterinário até o término do estudo;
- Não haverá custos quanto a participação do animal no referido estudo;
- O meu animal não sofrerá, em hipótese alguma, maus tratos.

Todas as minhas dúvidas à respeito da participação do meu animal no referido estudo foram esclarecidas e concordo com os termos acima.

Proprietário

Médico Veterinário

_____, _____ de _____.

CULTURA E CARACTERIZAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS DERIVADAS DO TECIDO ADIPOSEO E DA MEDULA ÓSSEA DE RATOS LEWIS: ESTUDO COMPARATIVO IN VITRO

Acadêmico: Adriano Sílvio Neto

Orientador: Bruno Santos Candido de Andrade

RESUMO

Células-tronco mesenquimais (CTM) caracterizam-se pela multipotencialidade e estão presentes nas regiões perivasculares de diversos tecidos adultos, com função de regeneração tecidual. No presente trabalho foi realizada a comparação do cultivo e caracterização das CTM provenientes do tecido adiposo e da medula óssea de ratos Lewis transgênicos para a proteína verde fluorescente (GFP). As células foram cultivadas até a quarta passagem e avaliadas quanto a cinética de crescimento, imunofenotipagem e pluripotência através de diferenciação *in vitro* em três linhagens mesodermiais. As CTM obtidas do tecido adiposo apresentaram maior taxa de proliferação celular quando comparadas as células da medula óssea. Ambas as linhagens apresentaram o mesmo padrão fenotípico e capacidade de diferenciação em linhagens osteogênica, condrogênica e adipogênica. Conclui-se que tanto o tecido adiposo quanto a medula óssea são fontes de CTM, contudo o tecido adiposo permite obter maior quantidade de CTM em menor tempo de cultivo quando comparado à medula óssea.

PALAVRAS-CHAVE: células-tronco mesenquimais, medula óssea, tecido adiposo, cultura celular.

1. INTRODUÇÃO

Células-tronco (CT) são células indiferenciadas que multiplicam-se continuamente durante a vida do organismo (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1998) e classificam-se de acordo com sua capacidade de diferenciação em totipotentes, pluripotentes, multipotentes e unipotentes, sendo que as primeiras diferenciam-se em qualquer tipo celular e as últimas possuem, respectivamente, capacidade cada vez mais restrita de diferenciação (WAGERS & WEISSMAN, 2004).

As pesquisas com terapia celular em medicina veterinária utilizam principalmente as células-tronco mesenquimais (CTM) obtidas da medula óssea e do tecido adiposo, classificadas como multipotentes (BARRY & MURPHY, 2003). As CTM podem ser isoladas do sangue periférico, sangue do funículo umbilical, tecido adiposo e medula óssea (SCHWINDT *et al.*, 2005), dentes, pâncreas, fígado (AL-NBAHEEN *et al.*, 2012) e tela subcutânea (GUERCIO *et al.*, 2015). Uma vez isoladas, essas células podem ser cultivadas *in vitro* para pesquisas e ensaios pré-clínicos.

A cultura *in vitro* das CTM requer condições mais próximas das encontradas no organismo. Os meios de cultivo mais utilizados são o *Dulbeccos Modified Medium* (DMEM) e o Meio Essencial Mínimo (α -MEM), ambos constituídos de sais inorgânicos, aminoácidos e vitaminas, suplementados com soro fetal bovino (SFB) (LINDROOS *et al.*, 2011). O SFB é associado aos meios de cultura por fornecer

fatores de crescimento, proteínas de transporte, fatores de adesão, fatores de detoxificação, inibidores de proteases, fatores para manutenção do pH e pressão osmótica (BRUNNER *et al.*, 2010).

O interesse nas CTM vem aumentando no campo da medicina regenerativa devido às descobertas sobre sua maior plasticidade, principalmente quando se trata de CTM. Com isso aumenta-se o leque de possibilidades de aplicações clínicas para reparação ou regeneração de tecidos (BARRY & MURPHY, 2003).

O objetivo deste trabalho é comparar o isolamento, cultivo, caracterização fenotípica e capacidade de diferenciação em linhagens mesodermis de células obtidas do tecido adiposo e da medula óssea de ratos Lewis transgênicos para a proteína verde fluorescente (*greenfluorescentprotein*– GFP).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A medicina regenerativa é uma área de pesquisa emergente que envolve a terapia celular e engenharia de tecidos com o objetivo de regenerar órgãos e tecidos lesados ou perdidos (IKADA, 2006). Trata-se de um campo interdisciplinar que aplica os conhecimentos da engenharia e das ciências da vida no desenvolvimento de substitutos biológicos com o intuito de restaurar, manter ou melhorar a função de um tecido (LANGER & VACANTI, 1993). Nesse contexto, as células-tronco constituem importante fonte para terapia e reposição celular (OKAMOTO & CAMPOS, 2004).

Células-tronco são células primordiais, auto-renováveis e indiferenciadas, capazes de gerar tipos celulares especializados (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1998). São definidas segundo três propriedades: I) auto-renovação, ou seja, capacidade de originar outra célula-tronco com características idênticas; II) habilidade de se diferenciar em mais de uma linhagem celular; III) capacidade de originar células funcionais nos tecidos derivados da mesma linhagem (SCHWINDT *et al.*, 2005)

A fonte de células empregadas na medicina regenerativa exerce papel crucial para seu sucesso. Estas podem ser classificadas quanto ao tipo de doador e quanto ao grau de diferenciação (PAULA, 2011). Em relação ao tipo de doador são classificadas em autólogas, alogênicas e xenogênicas.

De acordo com seu grau de diferenciação as células-tronco podem ser classificadas basicamente em totipotentes, pluripotentes e multipotentes (WAGERS & WEISSMAN, 2004). São chamadas de totipotentes as células capazes de gerar todos os tipos celulares embrionários e extra-embrionários, como o zigoto e o

blastômero (SCHWINDT *et al.*, 2005). Após a fecundação as células que originam a mórula são capazes de formar um indivíduo completo (FISCHBACH & FISCHBACH, 2004). As células-tronco embrionárias, isoladas da massa interna do blastocisto são capazes de se diferenciar em células de origem dos três folhetos embrionários (endoderme, mesoderme e ectoderme), sendo consideradas pluripotentes. Suas características de proliferação prolongada e pluripotência motivaram enorme expectativa para seu uso terapêutico, porém, sua capacidade de provocar teratomas e o envolvimento das questões éticas, políticas e religiosas, decorrentes do uso de embrião tem limitado sua utilização (MOUNTFORD, 2008).

As células-tronco pluripotentes induzidas (iPS) podem ser uma forma de contornar os problemas relacionados às células-tronco embrionárias (TAKAHASHI *et al.*, 2007). Através da reprogramação de células somáticas por transferência nuclear de alguns fatores de transcrição é possível reverter e obter o estado de pluripotência. Isso é feito por meio da introdução exógena de genes característicos das células embrionárias através de vetores virais. A utilização das iPS é alvo de muitos estudos devido suas vantagens sobre as outras fontes de células-tronco. As questões éticas e religiosas não se aplicam a este método, e, além disso, pelo fato de serem autólogas sua utilização minimiza o potencial risco de rejeição durante o tratamento e a terapia pode ser dirigida ao indivíduo (TAKAHASHI & YAMANAKA, 2006). Contudo, ainda é necessário mais pesquisas sobre esse método, porque muitas questões moleculares e funcionais que envolvem a utilização das células-tronco de pluripotência induzida ainda são desconhecidas (VOLAREVIC *et al.*, 2011).

A maioria das pesquisas com células-tronco são realizadas com células-tronco adultas, multipotentes, caracterizadas por serem capazes de originar diversos tecidos, mas não todos os tecidos dos folhetos embrionários. Elas podem dar origem a tipos celulares de origem embrionária diferente, através de um processo denominado plasticidade (RAFF, 2003). E as mais estudadas são as células-tronco mesenquimais e hematopoiéticas (SCHWINDT *et al.*, 2005).

Friedenstein (1968) foi o primeiro a descrever a capacidade de auto-renovação e diferenciação em linhagens de origem mesodérmica (osteoblastos, condroblastos e adipócitos) das HSC. Células com características semelhantes às MSC da medula óssea foram isoladas em diversos tecidos: tecido adiposo (ZUK *et al.*, 2001; SCHWINDT *et al.*, 2005), dentes, pâncreas, fígado (AL-NBAHEEN *et al.*,

2012), pele (TOMA *et al.*, 2001), sistema nervoso (KRUGER *et al.*, 2002) e líquido amniótico (DE COPPI *et al.*, 2007).

Para a classificação das células como CTM a Sociedade Internacional para Terapia Celular definiu critérios mínimos, quais sejam, aderência à superfície plástica, multipotência, ou seja, *in vitro* devem ser capazes de diferenciar em condroblastos, osteoblastos e adipócitos sob condições adequadas e devem expressar um conjunto de marcadores: CD105, CD73 e CD90 e não expressar outros: CD34, CD14, CD45 ou CD79 alfa, CD11b ou CD19 e HLA- classe II (DOMINICI *et al.*, 2006).

Em medicina veterinária a principal aplicação do uso de CTM é em medicina equina (GUERCIO *et al.*, 2015), tendo início há cerca de 10 anos com a utilização de células-tronco mesenquimais do tecido adiposo (DAHLGREN, 2005). O potencial de diferenciação das células-tronco permitiu seu uso no tratamento de lesões tendíneas e ligamentares em equinos atletas por promoverem regeneração tecidual (SMITH *et al.*, 2008), uma vez que os métodos terapêuticos atuais, como injeções intralesionais de glicosaminoglicanos, aplicação sistêmica ou local de anti-inflamatórios, crioterapia, *ultra-som*, *laser* e, mais recentemente, a terapia com ondas de choque extra-corpórea (CAMINOTO, 2003), possuem apenas efeitos marginais, não promovendo melhora na qualidade ou na velocidade do reparo e resultando apenas na formação de um tecido cicatricial (MADISON, 1995).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ISOLAMENTO, CULTIVO E EXPANSÃO DE CTM

Utilizaram-se quatro ratos de quatro meses de idade, da linhagem Lewis transgênico para o GFP (LEW-TgeGFP F455/Rrrc) para colheita do tecido adiposo e medula óssea. A colheita, o cultivo e as avaliações *in vitro* foram realizadas no Laboratório de Imunologia Celular e Molecular do Departamento de Bioquímica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, (ICB/UFMG), Belo Horizonte – MG.

Os animais foram submetidos à eutanásia por inalação de CO₂. Procedeu-se a tricotomia e antissepsia da região abdominal e dos membros pélvicos com álcool 70%. Em cabine de fluxo laminar realizou-se celiotomia mediana retro-umbilical para obtenção de tecido adiposo. O tecido colhido foi transferido para tubo Falcon contendo 20ml de tampão salina fosfato (*phosphate buffer saline* – PBS).

Os membros pélvicos foram incisados longitudinalmente na face medial da articulação coxofemoral à articulação tibiotársica. A musculatura foi cuidadosamente afastada para expor os fêmures e os mesmos foram cirurgicamente removidos e transferidos para tubo Falcon contendo 30ml de meio de cultura *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM).

Os tubos contendo as amostras de tecido adiposo e os fêmures foram transferidos para a sala de cultura celular para processamento sob condições assépticas. Em cabine de fluxo laminar de segurança biológica grau II, o tecido adiposo foi transferido para tubo de 50ml.

Na cabine de fluxo transferiu-se a gordura peritoneal para tubo de Falcon contendo 20ml de solução de colagenase a 0,5% em PBS e a mesma foi fragmentada com tesoura reta. A digestão enzimática foi realizada durante 60 minutos em estufa a 37°C , 5% de CO₂ com homogeneização da solução a cada 15 minutos. Após a digestão enzimática a colagenase foi inativada pela adição de meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino. Após centrifugação a 1500rpm por 10 minutos, o sobrenadante foi descartado e o *pellet* ressuspendido em 1ml de DMEM e plaqueado em garrafa de cultivo de 75cm³ incubado em estufa a 37°C a 5% de CO₂ por 24 horas. Posteriormente o sobrenadante foi aspirado, centrifugado e o *pellet* ressuspendido e plaqueado em outra garrafa T75. O meio DMEM completo (DMEM + 10% SFB) foi adicionado em ambas as garrafas e as mesmas foram mantidas na estufa com troca de meio a cada três dias.

Para colheita das células dos fêmures, os mesmos tiveram suas epífises distais seccionadas e uma agulha de 21G foi introduzida na epífise proximal e acoplada a uma seringa contendo 10ml de meio de cultura. A cavidade medular foi lavada com a solução e armazenada em novo tubo Falcon. O tubo foi centrifugado nas mesmas condições anteriores, o sobrenadante descartado e o *pellet* ressuspendido e plaqueado em duas garrafas T75. As garrafas foram mantidas na estufa e o meio de cultura foi trocado a cada três dias.

3.2 IMUNOFENOTIPAGEM E CITOMETRIA DE FLUXO

Uma alíquota de células da quarta passagem foi obtida para caracterização das CTM. As células de ambas as culturas foram desprendidas com tripsina, centrifugadas e ressuspendidas em PBS, contadas em câmara de Neubauer, e distribuídas na concentração de 1×10^6 células/poço em PBS. Os poços contendo as células foram incubados individualmente com os anticorpos primários anti-CD45

(clone 69 mouse - BD Bioscience, San Jose, Califórnia, EUA), anti-CD90 (clone Ox-7 mouse - AbCam, Cambridge, Massachusetts, EUA), anti-CD73 (clone 5 F/B9 mouse - AbCam), anti-CD54 (clone 1A29 mouse - AbCam), anti-CD 34 (Santa Cruz Biotechnology), anti-MHC I (AbCam) e anti-MHC II (AbCam), por 30 minutos à 4°C. Em seguida, as células foram lavadas com PBS, e incubadas com o anticorpo secundário conjugado com fluorocromo AlexaFluor 555, sob as mesmas condições anteriores.

As amostras foram analisadas no citômetro de fluxo FACScan e software CellQuest®, obtendo-se 30.000 eventos por amostra testada. Os testes foram realizados em triplicata para cada cultivo celular.

3.3 DIFERENCIAÇÃO *IN VITRO*

Para comprovação da multipotência das células cultivadas, foram realizadas a diferenciação osteogênica, condrogênica e adipogênica. As células aderentes foram desprendidas com tripsina, contadas e replaqueadas em placas de seis poços (TPP - Zollstrasse, Trasadingen, Suíça) com lamínulas de 22 mm de diâmetro (Sarstedt). Para diferenciação osteogênica, foi utilizado o meio de cultura DMEN enriquecido com 10% de SFB, 10⁻⁸mol/ml de dexametasona (Sigma-Aldrich), 5,0µg/ml de ácido ascórbico 2-fosfato (Sigma-Aldrich), e 10,0mmol/l de β-glicerofosfato (Sigma-Aldrich). As células foram mantidas por 21 dias em estufa umidificada com 5% de CO₂, a 37° C, e o meio osteogênico trocado a cada três dias. Após o término do período, as lamínulas foram lavadas em PBS, fixadas em paraformaldeído 4% em tampão fosfato, e coradas pelo método de Von Kossa para observar a deposição de cálcio na matriz extracelular.

Na diferenciação adipogênica as células foram plaqueadas como anteriormente e o meio DMEM foi suplementado com 10% de SFB, 1x10⁻⁸M de dexametasona, 2,5µg/ml de insulina de pâncreas bovino, e 100µM de indometacina (Sigma-Aldrich) e 5µM de rosiglitazona (Sigma-Aldrich). As células foram mantidas por 21 dias em estufa umidificada com 5% de CO₂, a 37° C, e o meio trocado a cada três dias. No término do período as lamínulas foram lavadas em PBS, fixadas em paraformaldeído 4% em tampão fosfato, e coradas com OilRed para visualização dos vacúolos de gordura.

Na diferenciação condrogênica, as células desprendidas pela ação da tripsina foram centrifugadas, contadas e plaqueadas na concentração de 1x10⁴ células/ml em tubos falcon de 15ml. As amostras foram centrifugadas para obtenção de um

pellet celular, o sobrenadante foi descartado e o meio de cultivo DMEM suplementado com 6,25µg/ml de insulina de pâncreas bovino (Sigma-Aldrich), 10ng/ml de TGF-β1 (Transforminggrowthfactor-β1 – Sigma-Aldrich), e 50nM de ácido ascórbico 2-fosfato foi adicionado a cada tubo. As células foram mantidas por 21 dias em estufa umidificada com 5% de CO₂, a 37° C, e o meio trocado semanalmente. Procedeu-se a inclusão do *pellet* celular em paraplast e processamento histológico rotineiro com coloração das lâminas com Hematoxilina e Eosina e Alcian Blue para identificação da matriz extracelular rica em glicosaminoglicanos sulfatados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As técnicas de coleta do tecido adiposo e da medula óssea são métodos reprodutíveis e simples, no entanto a obtenção do tecido adiposo no presente experimento se mostrou mais rápida e de fácil execução, assim como relataram Bravo *et al.*, (2012) em seu trabalho. Comparativamente o método de obtenção através do tecido adiposo apresenta maior custo devido à necessidade de digestão enzimática com colagenase tipo I realizada previamente ao plaqueamento inicial.

As culturas primárias, obtidas após o processamento do tecido adiposo e da medula óssea, eram compostas por uma população heterogênea de células, apresentando células aderentes a superfície plástica das garrafas de cultura, de formato fusiforme e células não aderentes, de formato arredondado.

As culturas começaram a apresentar células aderentes, com morfologia fibroblastóides, 24 horas após o plaqueamento no meio DMEM completo (FIGURA 1A e 1B). Ao longo do cultivo, com a expansão celular e com a troca dos meios de cultura, o número de células não aderentes diminuiu em ambas as culturas, predominando a população de células aderentes de formato fusiforme, com potencial de auto-renovação e formação de colônias.

Comparativamente a cultura de células obtidas do tecido adiposo apresentou alta relação de células aderidas quando comparadas com a cultura obtida da medula óssea. Sabe-se que em trabalhos realizados com seres humanos 2% do lipoaspirado corresponde a CTM (KINGHAM *et al.*, 2007), enquanto que a cada 100.000 células do estroma da medula óssea apenas uma pode ser considerada CTM (HENG *et al.*, 2004), isso justifica a população maior de células aderidas na placa provenientes do tecido adiposo.

As células provenientes do tecido adiposo e da medula óssea de ratos Lewis eGFP^{+/+} cresceram em monocamada e assumiram morfologia fibroblastóide (FIGURA 1B-C) sendo este o passo primordial para inclusão em cultura aderente e o primeiro critério requerido para categorizar o cultivo como de células-tronco mesenquimais (DOMINICI *et al.*, 2006).

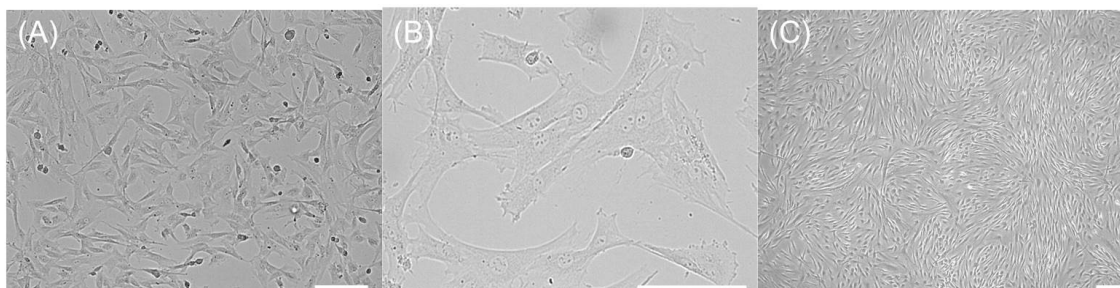


Figura 1. Fotomicroscopia das células em cultura. (A) Células com aspecto fibroblastóide distribuídas em toda extensão das garrafas de cultura evidenciando a adesão com a superfície de cultivo. Notar presença de células arredondadas. (B) Maior aumento das células fibroblastóides com evidência do núcleo e prolongamentos citoplasmáticos responsáveis pela adesão celular. (C) Menor aumento de uma cultura em quarta passagem demonstrando confluência das células acima de 80%. Barra = 100µm.

As trocas de meio permitiram a remoção das células não aderentes da cultura. Após 3 dias de cultura foi observada confluência de 80% nas células provenientes do tecido adiposo, sendo então realizada a primeira passagem. Foram necessários intervalos de 3-5 dias para os demais plaqueamentos até a obtenção da quarta passagem na cultura de células obtidas do tecido adiposo.

A primeira passagem das células obtidas da medula óssea ocorreu apenas 12 dias do cultivo primário, quando as células atingiram 80% de confluência. As demais passagens foram obtidas a cada 5-7 dias até a obtenção da quarta passagem (TABELA 1).

Tempo de Cultivo (dias)	Tecido adiposo	Medula óssea
1 ^ª Passagem	3	12
2 ^ª Passagem	3-5	5-7
3 ^ª Passagem	3-5	5-7
4 ^ª Passagem	3-5	5-7

Tabela 1. Comparação entre o tempo de cultivo da CTM do tecido adiposo e da medula óssea de ratos Lewis. A primeira passagem da CTM do tecido adiposo foi realizada em três dias após o plaqueamento e da medula óssea aos 12 dias após o plaqueamento.

A análise do imunofenótipo das populações de CTM foi realizada na 4^a passagem. A citometria de fluxo demonstrou que as células cultivadas a partir do

tecido adiposo e da medula óssea, apresentaram expressão negativa para o marcador de superfície CD45 (96,98% e 93,3%), CD11 (97,48% e 93,62%), CD 34 (100% e 96,53%) MHC-I (76,98% e 97,9%) e MHC-II (95,5% e 80,3%) e positiva para os marcadores CD54 (66,26% e 97,7%), CD73 (86,82 e 95,1%) e CD90 (90,3% e 99,2%). Estes resultados são compatíveis aos observados por Nardi e Meireles (2003), caracterizando as células cultivadas como CTM (DOMINICI *et al.*, 2006).

Ambas as culturas foram submetidas às diferenciações osteogênicas, condrogênica e adipogênica, demonstrando alterações morfológicas e de matriz extracelular (FIGURA 2) condizentes com os resultados de Nardi e Meireles (2003) e Ocarino (2008). A diferenciação osteogênica foi confirmada através da deposição de cálcio meio extracelular, assim como demonstrado por Sreejit (2012) e Boeloni (2012). A diferenciação em adipócitos foi confirmada a partir da coloração de OilRed para visualização das gotículas de gordura corroborando com os resultados encontrados por Sreejit (2012). A diferenciação condrogênica foi confirmada a partir da coloração com Hematoxilina e Eosina e Alcian Blue onde foi identificada a presença de matriz extracelular rica em glicosaminoglicanos sulfatados, corroborando ao encontrado por Nardi e Meireles (2003), Ocarino (2008) e Boeloni (2012).

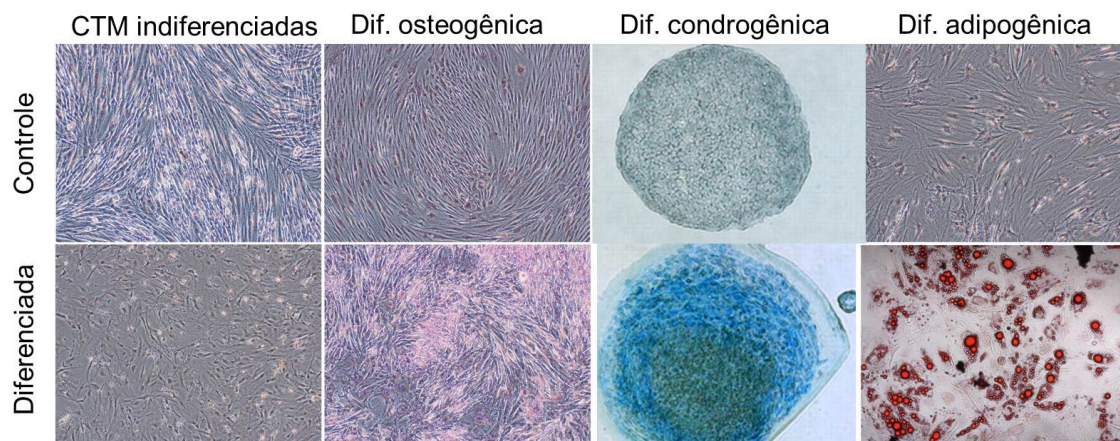


Figura 2. Fotomicroscopia das células submetidas à diferenciação osteogênica, condrogênica e adipogênica. A diferenciação osteogênica foi confirmada através da deposição de cálcio meio extracelular. A diferenciação em adipócitos foi confirmada a partir da coloração de OilRed para visualização das gotículas de gordura. A diferenciação condrogênica foi confirmada a partir da coloração com Hematoxilina e Eosina e Alcian Blue onde foi identificada a presença de matriz extracelular rica em glicosaminoglicanos sulfatados.

Confirmando o que foi descrito por Kinghan *et al.*, (2007) a coleta das CTM do tecido adiposo foi de fácil acesso e houve maior expansão destas em cultura quando comparado com CTM oriundas da medula óssea. No entanto, devido à necessidade

de digestão enzimática com colagenase tipo I a obtenção de CTM provenientes do tecido adiposo é mais dispendiosa.

5 CONCLUSÃO

Conclui-se que tanto o tecido adiposo quanto a medula óssea são fontes de CTM, contudo o tecido adiposo permite a obtenção de maior quantidade de CTM em menor tempo de cultivo.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-NBAHEEN, M. *et al.* Skin-derived multipotent stromal cells – an archival mesenchymal stem cells. **Cell Tissue**, p.1-12, 2012.

BARRY & MURPHY. Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, Baltimore, p.568-584, 2003.

BOELONI, J. N. **Efeitos *in vivo* e *in vitro* dos hormônios tireoidianos na diferenciação osteogênica de células tronco mesenquimais da medula óssea e do tecido adiposo de ratas ovariectomizadas e não ovariectomizada.** 226f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

BRAVO, M.O. Isolamento, expansão e caracterização de células-tronco do tecido adiposo de equinos. **Ars VETERINÁRIA**, Jaboticabal, São Paulo, v.28, n.22, 66-74, 2012.

BRUNNER, D. *et al.* Serum-free Cell Culture: The Serum-free Media Interactive Online Database. **Altex**, v. 27, p. 53-62, 2010.

CAMINOTO, E.T.C. **Efeito das ondas de choque extracorpóreas na desmíte experimentalmente induzida em equinos.** 97fl. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2003.

DAHLGREN, L.A. **Review of treatment option for equine tendon and ligament injuries: What’s new and how do they work?** In: American Association of Equine Practitioners. Lexington. p.2668. 2005.

DE COPPI, P. *et al.* Isolation of Amniotic Stem Cell Lines with Potential for Therapy. **Nature Biotechnology**, v. 25, p. 100-106, 2007.

DOMINICI, M. *et al.* Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The international Society or Cellular Therapy position statement. **Cytotherapy**, vol.8, n.4, 315-317, 2006.

FISCHBACH, G.D.; FISCHBACH, R.L. Stem Cells: Science, Policy and Ethics. **The Journal of Clinical Investigation**, v.114, p.1364-1370, 2004.

FRIEDENSTEIN, A. *et al.* The Development of Fibroblast Colonies in Monolayer Cultures of Guinea-pig Bone Marrow and Splenn Cells. **Cell and Tissue Kinectics**, v.3, p.393-403, 1968.

GUERCIO. A. *et al.* Mesenchymal Stem Cells Derived from Subcutaneous Fat and Platelet-Rich Plasma Used in Athletic Horses With Lameness Of the Superficial Digital Flexor Tendon. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.35, p.19-26, 2015.

HENG, B.C.; CAO, T.; LEE, E.H. Directing stem cell differentiation into the chondrogenic lineage in vitro. **Stem Cells**, v.22, p.1152-67, 2004.

IKADA, Y. Challenges in Tissue Engineering. **Journal of the Royal Society Interface**. v.3, p.589-601, 2006.

JUNQUEIRA, L. C., CARNEIRO, José. **Biologia Celular e Molecular**, 8.ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

KINGHAM, P. J. *et al.* Adipose-derived stem cells differentiate into a Schwann cell phenotype and promote neurite outgrowth in vitro. **Experimental Neurology**, v.207, n.2, p.267–274, 2007.

KURGER, G. M. *et al.* Neural Crest Stem Cells Persist in the Adult Gut but Undergo Changes in Self-Renewal, Neuronal Subtype Potential, and Factor Responsiveness. **Neuron**, v.35, p.657-669, 2002.

LANGER, R.; VACANTI, J.P. Tissue Engineering. **Science**. v.260, p.920-926, 1993.

LINDROOS, B. *et al.* The Potential of Adipose Stem Cells in Regenerative Medicine. **Stem Cell Reviews**, v. 7, p. 269-291, 2011.

MADISON, J.B. Acute and chronic tendonitis horses. **The Comp**. V.6, p.853-856, 1995.

MOUNTFORD, J.C. Human Embryonic Stem Cells. Origins, Characteristics and Potential for Regenerative Therapy. **Transfusion Medicine**, v.18, p.1-12, 2008.

NARDI, N.B.; MEIRELLES, L.S. Mesenchymal cells: Isolation, in vitro expansion and chacacterization. **Handobook Experimental Pharmacology**, v.174, n.6, p.249-282, 2003.

OCARINO, Natália de Melo. **Células Tronco Mesenquimais: diferenciação osteogênica in vitro estimulada pela atividade física in vivo com e sem bloqueio da óxido nítrico sintase e sua aplicação no tratamento local da osteoporose de ratas**.116f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

OKAMOTO, O.K.; CAMPOS, A.H. Perspectivas em terapia celular: células-tronco. **Einstein**. 2(4), p.355-358, 2004.

PAULA, A.C.C. **Osteogênese de células-tronco humanas em matriz tridimensional de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato utilizando meio**

suplementado com soro humano. 104f. Tese (Mestrado em Bioquímica e Imunologia) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

RAFF, M. Adult Stem Cell Plasticity. Fact or Artifact? **Annual Review os Cell and Developmental Biology**, v.19, p.1-22, 2003.

SCHWINDT, T.T *et al.* Proliferar ou diferenciar: Perspectivas de destino das células-tronco. **Jornal Brasileiro de Neurocirurgia**, São Paulo, p. 13-19, 2005.

SMITH, R.K. Mesenchimal stem cell therapy for equine tendinopath. **Disabil. Rehabil.** v.30, p.1752-1758, 2008.

SREEJIT, P. *et al.* Generation of mesenchymal stem cells lines from murine bone marrow. **Cell Tissue**, 350 (1), pag.55-68, 2012.

TAKAHASHI, K. *et al.* Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblastys by defined factors. **Cell**, 131(5) 861-72, 2007.

TAKAHASHI, K.;YAMANAKA, S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. **Cell**, v.126, p.663-676, 2006.

TOMA, J. G. *et al.* Isolation of Multipotent Adult Stem Cells from the Dermis of Mammalian Skin. **Nature Cell Biology**, v. 3, p. 778-784, 2001.

VOLAREVIC, V. *et al.* Human Stem Cell Research and Regenerative Medicine- Present and Future. **British Medicam Bulletin**, p.1-14, 2011.

WAGERS, A.J.;WEISSMAN, I.L. 2004. Plasticity of Adult Stem Cells. **Cell**, v.116, p. 639-648, 2004.

ZUK, P. A. *et al.* Multilineage Cells from Human Adipose Tissue: Implications for Cell-Based Therapies. **Tissue Engineering**, v.7, p.211-228, 2001.

ESTUDO DAS AFECÇÕES DENTÁRIAS E PERIODONTAIS EM EQUINOS DA RAÇA CAMPOLINA SUBMETIDOS A DIFERENTES MANEJOS.

Acadêmico: Hélio Augusto Chicareli Gomes

Orientador: Bruno Santos Candido de Andrade

RESUMO

Cuidados preventivos periódicos em equinos para manutenção de sua saúde bucal, não é prática comum no Brasil. Este trabalho teve por objetivo realizar um levantamento epidemiológico sobre a prevalência de afecções dentárias e periodontais em uma população de equinos da raça campolina submetidos a diversos manejos de criação. Foram utilizados 35 cavalos da raça Campolina, proveniente do Haras São João e Haras Ares do valle, sem sinais clínicos de doenças prévias e sem histórico de realização de exames ou procedimentos odontológicos no último ano. Os animais foram distribuídos em três grupos, de acordo com os diferentes manejos empregados na criação: animais alimentados com dieta volumosa de feno de Tifton e concentrada ração comercial, animais criados em regime de confinamento em baias, recebendo como dieta volumosa capim picado e concentrada ração comercial e animais criados em regime extensivo tendo como dieta volumosa o pastejo voluntário. Após identificação e registro das afecções, esses animais foram submetidos a procedimentos odontológicos para correção das alterações de desgaste dentário presentes. Foi encontrada uma alta prevalência de diversas alterações do desgaste dentário além de afecções de maior gravidade relacionadas a cavidade oral, como fraturas dentárias, doenças infundibulares e periodontais.

1. INTRODUÇÃO

O rebanho equino brasileiro é expressivo no cenário mundial, situando-se em 2º lugar em número de animais, muito próximo dos EUA, que detêm a vanguarda mundial com um rebanho em torno de 6.931.000 equinos (ALVES, 2004). O estudo sobre o complexo do agronegócio do cavalo, divulgado pela Confederação de Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA), mostrou que a indústria equina brasileira movimenta valor superior a R\$ 7,3 bilhões/ano, permitindo concluir que as atividades relativas aos produtos e serviços ligados ao setor apresentam dimensões econômicas e sociais relevantes (LIMA *et al.*, 2006). Este mercado apresenta relevância mundial. Nos EUA, por exemplo, movimenta uma quantia de 25,3 bilhões de dólares ao ano. O interesse por equinos tem crescimento gradativo em diversas modalidades como, por exemplo, a equitação, esporte e lazer, com isso a

necessidade de intensificar os cuidados médico-veterinários nessa área (SOUZA, 1999).

A população de equinos da região de Matipó-MG segue a tendência mundial numa crescente constante, já com considerável rebanho e numerosos haras das raças marchadoras. Contudo, ainda é incipiente a prática dos cuidados preventivos periódicos que devem ser direcionados ao equino para manutenção de sua saúde bucal, seja pela falta de esclarecimento dos proprietários sobre o assunto, seja pela escassez de profissionais especializados na área. Fato é que não se conhece o real impacto das afecções odontológicas em equinos nessa região, devido a falta de dados epidemiológicos.

O presente trabalho teve por objetivo realizar um levantamento epidemiológico qualitativo e quantitativo sobre a prevalência de afecções dentárias e periodontais em uma população de equinos da raça Campolina submetidas a diversos manejos de criação, bem como buscar associações entre as lesões encontradas e os fatores de risco associados a cada tipo de manejo.

Devido à pouca prática em cuidados odontológicos em cavalos na região de Matipó-MG e à inexistência de dados retrospectivos, o presente trabalho trouxe benefícios consideráveis para os criadores e veterinários que atuam na região, uma vez que gerou dados importantes sobre a epidemiologia, prevalência, profilaxia e tratamento das principais afecções dentárias que acometem os equinos, possibilitando a implementação de práticas de manejo de rebanho e medidas profiláticas necessárias para se amenizar, ou até mesmo prevenir, o surgimento das afecções dentárias nesses animais.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.

Os equinos possuem uma dentição desenvolvida para se alimentar 18 horas por dia, sendo esta alimentação composta por forragens abrasivas para a superfície dentária, devido aos seus constituintes como sílica, hemicelulose, celulose e lignina (DIXON, 2002). Para suportar esta abrasão, os dentes possuem coroa longa com dentina, esmalte e cimento na face oclusal, que se remodelam constantemente devido a diferença de resistência destes tecidos (LOWEDER e MULLER, 1998; DIXON, 2002). Os dentes incisivos possuem função desenvolvida para apreensão, enquanto os pré-molares e molares para a trituração, funcionando sob maior estresse durante a mastigação (BRIGHAM e DUNCANSON, 2000).

O ciclo mastigatório no equino pode ser subdividido em quatro fases – abertura, fechamento, atrito e retorno, que são definidos pelos movimentos mandibulares. A fase de impacto e atrito é a que envolve mais força durante a mastigação e ocorre no sentido transversal. A conformação dos dentes pré-molares e molares e do palato facilita a progressão do alimento em espiral em direção a orofaringe, enquanto é triturado alternadamente nas arcadas dentária (BAKER, 2002). O tipo de alimento possui ligação direta com o tipo de mastigação, onde forragens necessitam maior trituração, estimulando uma movimentação lateral da mandíbula, enquanto que rações estimulam movimentação vertical (DIXON, 2000a).

Os equinos são animais que possuem erupção dentária contínua ao longo da vida, processo fisiológico equilibrado pelo desgaste dentário, também contínuo e presente durante os processos mastigatórios (BORGENDORFF, 2009). Esta erupção segue uma dinâmica de dois a três milímetros por ano (LOWEDER e MULLER, 1998; DIXON, 2002). Outros fatores anátomo-fisiológicos, como a diferença de tamanho entre as maxilas e mandíbulas, inclinação das mesas dentárias e os componentes tissulares dos dentes dos equinos também estão relacionados ao equilíbrio fisiológico entre os mecanismos de desgaste e erupção dentária (DIXON, 2000).

É sabido que alterações dentárias e de componentes anatômicos relacionados à cavidade oral são frequentes na espécie equina. Contudo, nem sempre são diagnosticadas a tempo de serem tratadas com bom prognóstico. Tal fato se deve à grande dificuldade técnica de observação dos dentes pré-molares e molares dos equídeos, devido à cavidade oral ser estreita e profunda e esses animais possuírem língua musculosa de grande mobilidade, o que dificulta ainda mais a visualização direta. Por esses fatores, a inspeção da cavidade oral dos equídeos demanda instrumental especial, sedação e equipamentos de proteção e contenção do paciente (PAGLIOSA *et al.*, 2006).

Distúrbios da normalidade da mastigação, como tempo reduzido de mastigação e menor amplitude dos ciclos mastigatórios em função da oferta de dietas concentradas, tenras ou cominuídas, são fatores predisponentes para o desenvolvimento das alterações mais comumente encontradas na espécie, as Alterações de Desgaste Dentário (ADD) (DIXON, 2000b).

Diversas são as alterações odontológicas relacionadas ao tecido dentário e periodontal encontradas em equinos. A maioria delas pode desenvolver-se a partir das ADD, que na maioria das vezes apresentam-se de forma subclínica, o que faz com que sejam imperceptíveis ao leigo e, muitas vezes, também ao médico

veterinário, se este não aprofundar o exame odontológico específico. Por terem esse comportamento silencioso, podem passar despercebidas por longos períodos e, quando não tratadas de forma adequada, podem predispor ao desenvolvimento de afecções de maior gravidade e pior prognóstico, como as doenças periodontais, formação de diastemas, doenças periapicais, cáries, doenças infundibulares, fraturas, entre outras. Por isso, é de singular importância a realização do exame odontológico e a execução das correções das ADD de forma periódica na espécie, para prover a sanidade bucal do equino ao longo de sua vida (PAGLIOSA *et al.*, 2006).

As ADD mais comuns são as rampas, que são projeções dorsais além da superfície oclusal para os dentes pré-molares e molares inferiores e para os dentes pré-molares e molares superiores (CARMALT & RACH, 2003). Os ganchos ocorrem com maior frequência na face mesial dos dentes segundos pré-molares superiores e na face caudal dos dentes terceiros molares inferiores, podendo variar essa localização. Sua ocorrência está relacionada à alteração do hábito natural da alimentação como fornecimento da alimentação em altura elevada em relação ao solo (LIMA *et al.*, 2011).

As ondas são o desenvolvimento de relevos irregulares nas faces oclusais em função de desgastes anormais, formando depressões e relevos na face oclusal de arcadas opostas, seja por extração ou doença periodontal em um ou mais dentes (PAGLIOSA *et al.*, 2006).

Os degraus são um tipo de alteração que pode ocorrer em qualquer dente das arcadas por falta de oclusão recíproca, se tornando mais elevado devido a uma perda de contato e desgaste, devido a extração ou perda de seu opositor, assim como doença periodontal e a retenção de dentes decíduos (PAGLIOSA *et al.*, 2006).

As pontas excessivas de esmalte dentário, que são projeções do tecido dentário nas faces vestibulares dos dentes pré-molares e molares superiores e lingual dos dentes pré-molares e molares inferiores, que se formam em função da escassez de movimentos lateralizados de mastigação (déficit do desgaste), em associação à característica anatômica dos equinos de não oclusão parcial das arcadas inferior e superior (anisognatia) (CARMALT & RACH, 2003; PAGLIOSA *et al.*, 2006).

As cristas transversais excessivas são projeções dentárias acentuadas que se desenvolvem nos dentes pré-molares e molares, em sentido vestibulo-lingual, o que impede o ciclo mastigatório da mandíbula no sentido rostro-caudal, causando lesões

na articulação têmporo-mandibular (DIXON 2005). Esse tipo de ADD se desenvolve predominantemente em animais estabulados que se alimentam de fibras curtas e ração peletizada (BORGDORFF, 2009).

O impacto das afecções odontológicas na espécie não se restringe à cavidade oral. Podem-se observar repercussões à distância, em outros aparelhos e sistemas. Efeitos diretos da presença de ADD incluem diminuição da digestibilidade, com menor aproveitamento de nutrientes, maior predisposição às cólicas, devido a trituração inadequada das fibras vegetais, dor e reações defensivas à embocadura, ulcerações da língua e mucosa vestibular, sinusites, fístulas, entre outros (RALSTOM, 2005).

Um conceito até certo ponto incontestável é que as mudanças dos hábitos alimentares dos equinos, após a sua domesticação e, mais recentemente, a maior disponibilidade de rações concentradas e forragens tenras de alta qualidade e pouco variadas, influenciam a distribuição das afecções da cavidade oral na espécie, em especial as ADD. Esse fato reforça a necessidade de periodicidade e regularidade da execução de procedimentos odontológicos na espécie (TRIGUEIRO *et al.*, 2010).

Diversos são os tipos de manejo de criação empregados em haras de criação. Em geral, doadoras e garanhões são criados de forma intensiva ou semi-intensiva e permanecem a maior parte do tempo confinados em baias e recebem ração e feno. Éguas receptoras e sua progênie são criadas de forma extensiva em regime de pastagens e recebem na maioria das vezes suplementação em forma de capim elefante picado nos cochos. Essas diferenças de manejo podem certamente interferir na distribuição de algumas doenças periodontais, devido a fatores predisponentes particulares a cada tipo de manejo. A identificação desses fatores de risco pode servir de base para o exercício da medicina veterinária preventiva, conduta preferível de ser implantada em sistemas de criação (CARMALT e RACH, 2003).

As alterações do desgaste dentário estão intimamente ligadas ao manejo alimentar, seja pelo fornecimento de rações e forrageiras demasiadamente macios e tenros, seja pelo tempo de fornecimento e mastigação, seja pela altura dos cochos em relação ao solo ou livre pastejo (CARMALT e RACH, 2003). Éguas doadoras de embrião, garanhões e cavalos de alto valor zootécnico e comercial são criados normalmente de forma intensiva, se alimentam de ração e feno, tendo reduzido tempo de mastigação e modificação do ciclo mastigatório, com movimentos mastigatórios mais verticais em relação aos laterais, propiciando o aparecimento

precoce de alguns tipos de ADD e diminuição da quantidade de forragens, que faz com que tenha uma diminuição do tempo de ingestão de alimentos, que em um sistema extensivo chega a até 18 horas. Além disso, o fornecimento de alimentos em lugares altos também modifica tal biomecânica, trazendo prejuízos para a excursão da mandíbula dos animais (CARMALT e RACH, 2003; LIMA *et al.*, 2011).

3. METODOLOGIA

O trabalho foi desenvolvido em colaboração institucional da Faculdade Vértice – UNIVERTIX com o Haras São João e Haras Ares do Valle.

3.1. TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um levantamento epidemiológico (estudo transversal), onde foram avaliadas e descritas as afecções da cavidade oral da população de cavalos da raça Campolina de dois haras da Zona da Mata Mineira, sob diferentes manejos.

3.2. ANIMAIS

Foram utilizados 35 equinos da raça Campolina, proveniente do Haras São João e Haras Ares do Vale, sem sinais clínicos de doenças prévias e sem histórico de realização de exames ou procedimentos odontológicos no último ano. Os animais foram distribuídos em três grupos experimentais, de acordo com os diferentes manejos empregados de criação. Todos os animais foram submetidos a exame clínico completo e exame da cavidade oral para identificação e registro das alterações dentárias e periodontais presentes. Após identificação e registro das afecções, esses animais foram submetidos a procedimentos odontológicos para correção das Alterações de Desgaste Dentário presentes.

O estudo foi feito em equinos alojados e manejados de acordo com o indicado pelo sistema de criação do próprio haras e todas as particularidades de manejo, de nutrição e de alojamentos foram catalogadas.

3.3. GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram incluídos e distribuídos, de acordo com as características de manejo, em três grupos experimentais:

- Grupo 1 (G1): animais criados em regime de confinamento em baias, recebendo como dieta volumosa feno de Tifton e concentrada ração comercial, com 19 animais, sendo 7 fêmeas e 12 machos;

- Grupo 2 (G2): animais criados em regime de confinamento em baias, recebendo como dieta volumosa capim picado e concentrada ração comercial, com 12 animais, sendo 9 fêmeas e 3 machos;
- Grupo 3 (G3): animais criados em regime extensivo tendo como dieta volumosa o pastejo voluntário, com 4 animais, sendo 4 fêmeas;

O experimento foi obtido considerando-se três grupos experimentais. Para a execução dos exames odontológicos, os animais foram sedados.

3.4. EXAMES ODONTOLÓGICOS E PROCEDIMENTOS

O exame odontológico foi realizado por inspeção direta da cavidade oral, utilizando-se um abre-bocas modelo Haussman, um fotóforo elétrico e sondas de aço inox de 44,5cm, após a cavidade oral ter sido lavada.

Todas as lesões dentárias e periodontais foram registradas em fichas odontológicas (ANEXO 1), específicas e individuais, e após esse registro, os dados foram dispostos em planilhas para análise estatística.

Após a identificação e registro das lesões dentárias e periodontais, todos os equinos foram submetidos a correções das mesmas, por meio de desgaste dentário com equipamento específico.

3.5. ANÁLISE E PROCESAMENTO DE DADOS

Os dados foram tabulados em planilhas do *Microsoft.Office Excell*. Após a tabulação, foram submetidos à análise de variância do programa estatístico (ANOVA).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As pontas de esmalte dentário estiveram presentes em todos os animais estudados dos três grupos (TABELA 1), acometendo os dentes pré-molares e molares das arcadas inferiores e superiores. Essa alta ocorrência também foi citada por Dixon (2000) e Baker (2002). As pontas de esmalte dentário são uma consequência da mudança do hábito alimentar e implementação de manejos intensivos após a domesticação dos equinos, o que trouxe a adição de alimentos

concentrados e a diminuição do volume de forragens na dieta dos equinos, levando à redução do tempo de mastigação, além de estimular ciclos mastigatórios mais verticais e menos laterais, o que favorece o aparecimento dessas pontas (PAGLIOSA *et al.*, 2006).

TABELA 1: Prevalência das afecções da cavidade oral divididas por grupos.

Afecções	G1 -19 animais	G2 - 12 animais	G3 - 4 animais
Pontas	100%	100%	100%
Doença Periodontal	42%	83,30%	75%
Diastemas	36,80%	83,30%	25%
Fraturas	36,84%	50%	50%
Doença infundibular	15,70%	41,60%	50%
Gancho Rostral/Caudal	26,30%	41,60%	50%
Ondas	26,30%	41,60%	75%
Capas	42%	8,30%	0%
Degraus	42%	33,30%	0%
Rampas	10,52%	25%	25%

A prevalência de 100% de pontas nos grupos como mostra a TABELA 1 esta relaciona as alterações de manejo dos animais. Este resultado concorda com os achados de Baker (2002).

As doenças periodontais também estiveram presentes em grande parte dos animais dos grupos, totalizando 60% dos casos (TABELA 2). Estes resultados estão de acordo com GREENE & BASILE (2002). A localização variou entres os dentes pré-molares e molares da arcada superiores e inferiores. Eisenmengger e Zetner (1985) relatavam que a má oclusão dental favorece o aparecimento de lesões nos tecidos moles da cavidade oral, como a doença periodontal. O grande número de animais com doença periodontal pode ter relação com a alta prevalência de animais com pontas excessivas de esmalte dentário, uma vez que estas vão ocasionar má oclusão dental (PAGLIOSA *et al.*, 2006).

TABELA 2: Prevalência do total de animais acometidos por afecção.

Afecção	Animas portadores	Prevalência
Pontas	35 animais	100%
Doença periodontal	21 animais	60%
Diastemas	18 animais	51,40%
Fraturas	15 animais	42,90%
Ondas	11 animais	31,40%
Degraus	11 animais	31,40%
Ganchos rostral/cauda	11 animais	31,40%
Doença infundibular	10 animais	28,60%
Capas	9 animais	25,70%
Rampas	5 animais	14,30%

Quando avaliados separadamente por grupos, notou-se uma alta prevalência de doenças periodontais no G2 e G3 assim como diastemas e fraturas (TABELA 1). Supõe-se que a ocorrência destas doenças esteja interligada uma vez que o capim picado favorece a compactação nos espaços interdentários e associado ao alimento concentrado, aumentam a fermentação bacteriana o que predispõe ao aparecimento de doenças periodontais e conseqüentemente fraturas, uma vez que doenças periodontais causam o enfraquecimento da poupa dentária que corrobora com os achados de Eisenmengger e Zetner (1985).

A doença infundibular apareceu em 28,6% dos animais (TABELA 2), estando presente nos dentes pré-molares e molares da arcada superiores e inferiores. Nos dentes incisivos não foi encontrada doença infundibular. Segundo Baker e Easley (2005) a ausência de ocorrência se dá pelas suas particularidades morfológicas e funcionais em relação aos pré-molares e molares.

Os ganchos rostral e caudal estiveram presentes em 31,4% dos animais (TABELA 2), ocorrendo sempre nos dentes 106/111, 206/211, 306/311, 406/411. Segundo Pagliosa (2006), assim como as pontas de esmalte dentário, os ganchos aparecem devido à mudança de hábito alimentar com a adição de alimentos concentrados e menor oferta de forragens, diminuindo o tempo de ingestão e alterando o ciclo mastigatório. Também foi constatado que a maioria dos animais alimentava-se em cochos altos em relação ao solo, fato que diminui o movimento caudo-rostral da mandíbula durante os ciclos mastigatórios, contribuindo, assim, para o desenvolvimento de áreas de não oclusão rostral e caudal nas fileiras de dentes molares e pré-molares (LIMA *et al.*, 2011).

As ondas estiveram presentes em 31,4% dos animais (TABELA 2) e, assim como as pontas e ganchos, supõe-se que elas apareçam devido à mudança de hábito alimentar e devido ao retardo da erupção de um ou mais dentes decíduos ou

pela perda de dentes opostos que fazem oclusão com os que foram acometidos (PAGLIOSA *et al.*, 2006).

As doenças infundibulares, os ganchos e as ondas estiveram presente no G2 e G3, porém a grande prevalência em G3 pode ser explicada pelo fato de ser um grupo consideravelmente menor e tais alterações geralmente estão mais presentes em animais estabulados pela modificação dos ciclos mastigatórios e animais mais velhos (Pagliosa, 2006). Por este motivo sugere-se a alta prevalência no G2.

As fraturas ocorreram em 42,9% dos animais (TABELA 2) e a média das idades foi de 10 anos. Em 66,7% dos casos de dentes fraturados também foi observada no mesmo dente, a presença de doença periodontal e/ou doença infundibular. Este fato é esperado, já que fraturas dentárias podem estar relacionadas a lesões no periodonto, além de possivelmente exporem a polpa dentária à ação de bactérias da cavidade oral, resultando em doença infundibular.

As capas estiveram presentes em 25,7% dos animais (TABELA 2) e a média das idades em que elas estiveram presentes foi de 2,5 anos. A presença das capas nestes animais é explicada pelo fato de, nessa faixa etária, ainda possuir dentes decíduos que muitas vezes ficam retidos, originando as capas.

Os degraus estiveram presentes em 31,4% dos animais (TABELA 2) e segundo Dixon (1997), a sua ocorrência pode estar correlacionada à presença de doenças periodontais associadas à retenção de dentes decíduos. O degrau é comumente encontrado quando a ausência do dente oposto não realiza o desgaste do dente opositor como foi dito por Pagliosa (2006). Porém, não foi encontrada ausência de nenhum dente pré-molar e/ou molar. Dos animais portadores de degraus, 63,6% também apresentaram doença periodontal, doença infundibular e retenção de capas dentárias, o que corrobora os achados descritos por Pagliosa (2006).

As capas e degraus estiveram mais presentes no G1 como mostra a tabela 1, e essa maior prevalência de 42% de capas e degraus é explicada pelo fato de capas estarem presentes somente em animais jovens uma vez que ainda estão em fase de muda dos dentes. A retenção de capas dentárias predispõe ao aparecimento de degraus explicando assim a alta prevalência das duas afecções no grupo, como foi descrito por Pagliosa (2006).

Houve presença de rampas em 14,3% dos animais. Acredita-se que a ocorrência dessa afecção pode estar relacionada ao tipo de alimentação que é oferecida aos animais, uma vez que dos que apresentaram essa afecção apenas

20% deles viviam em regime de pasto e os outros 80% eram mantidos em baias e se alimentava de ração e feno, o que diminui o tempo de ingestão.

Outras afecções de relevância encontradas foram os diastemas, com prevalência de 51,4% na população estudada. Os diastemas comprometem a eficiência do processo de mastigação, uma vez que espaços aumentados entre os dentes pré-molares e molares podem diminuir a superfície útil de oclusão durante a trituração do alimento fibroso. A diminuição da eficiência do processo de mastigação pode diminuir o aproveitamento nutricional dos alimentos, além de predispor à ocorrência de cólicas por compactação, doenças periodontais, fermentação, entre outros, como foi citado por GREENE & BASILE (2002). Adicionalmente, tais espaços interdentários aumentados predispõem à compactação de alimentos nos espaços interdentários com posterior fermentação bacteriana, o que pode explicar a prevalência de 60% de doenças periodontais.

O número de animais não foi suficiente para que as variáveis paramétricas demonstrassem relevância estatística para a maioria dos testes aplicados, contudo a análise descritiva dos dados, juntamente com a avaliação clínica dos animais examinados, relevaram altas taxas de prevalência de diversas afecções da cavidade oral de impacto para a sanidade dos animais. Muitas dessas afecções podem estar relacionadas entre si, levando-se em consideração a etiopatogenia das mesmas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se concluir que os equinos da população estudada apresentaram alta prevalência de diversas alterações do desgaste dentário, além de afecções de maior gravidade relacionadas à cavidade oral, como fraturas dentárias, doenças infundibulares e periodontais. Tal constatação está relacionada às mudanças do manejo nutricional, com implementação de dietas que diminuem o tempo de mastigação, ao passo que modificam os ciclos mastigatórios, com verticalização dos mesmos, em detrimento dos movimentos laterais. Outro fator que se relaciona é o fato de os animais avaliados não terem sido submetidos a procedimentos odontológicos corretivos periódicos durante suas vidas, fato que contribui para o avanço subclínico das afecções dentárias.

REFERÊNCIAS

ALVES, G.E.S. Odontologia como parte da gastroenterologia: sanidade e digestibilidade. **In: Cong. Bras. Cir. Anest. Vet. Mini Curso de Odontologia Equina**, 6, 2004, Indaiatuba, p.7-22, 2004.

BAKER, G. J. Dental physiology. In: EASLEY, K. J.; BAKER, G. J. **Equine dentistry**. London:Saunders.p.29-34.2002.

BORGDORFF, P. Dental care guide. www.equinedentalpractice.com 20 Jun 2015.

BRIGHMAM, E. J.; DUNCANSON, G. R. **Anequine postmortem dental study: 50 cases**. Equine Vet. Educ., v.12, p.59-62, 2000.

CARMALT, J.; RACH, D. Equine Dentistry – Moving into the 21st Century. **Large Animal Veterinary Rounds**, v. 3, n. 5, 2003.

DIXON, P. M. Dental extraction in horses: indications and preoperative evaluation. **Equine Vet. Educ.**, v.19, p.366-375, 1997.

DIXON, P. M. Removal of equine dental overgrowths. **Equine veterinary education**, v. 12, n. 2, p. 68-91, 2000a.

DIXON, P. M.; TREMAINE, W. H.; PICKLES, K.; et al. Equine dental disease: a long-term study of 400 cases: Part 3 – Disorders of wear, traumatic damage, other fractures, tumours and miscellaneous disorders of the cheek teeth. **Equine Vet. J.**, v.32, p. 9-18, 2000b.

DIXON, P.M. The gross, histological, and ultrastructural anatomy of equine teeth and their relationship to disease. In: **ANNUAL CONVENTION OF THE AAEP**, 2002. p.421-437.

DIXON, P.M.; DACRE, I. A review of equine dental disorders. **Vet. J.**, v.169, p.165-187, 2005.

EISENBERGER, E. E.; ZETNER, K. Orthodontics . **Veterinary dentistry**. Philadelphia: Lea e Febiger, 1985. p. 68-82.

GREENE, S. & BASILE, T. **Recognition and Treatment of Equine Periodontal Disease. Proceedings of the 48 th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners**, Orlando, Florida, USA, 48, 463-466. 2002. Acedido em 5 Abr 2010, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/AAEP/2002/910102000463>.

LIMA, J.T.M.; et al. Ocorrência de doença infundibular, sobremordida e ganchos em equinos de cavalaria militar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, p. 6-11, 2011.

LIMA, R.A.S., SHIROTA, R., BARROS, G.S.A.C. ESTUDO DO COMPLEXO DO AGRONEGÓCIO CAVALO NO BRASIL. **Centro de estudos avançados em economia aplicada da ESALQ, Confederação da Agricultura e Pecuária da Brasil. – Brasília: CNA; MAPA**, 68p.: il. 2006. – (Coletânea Estudos Gleba; 40)

LOWDER, Q.M.; MUELLER, P.O.E. Dental embryology, anatomy, development and aging. **Vet.Clin.** North Am., v.14, p. 227-246, 1998.

PAGLIOSA, G.M.; ALVES, G.E.S.; FALEIROS, R.R. et al. Influência das pontas excessivas de esmalte dentário na digestibilidade e nutrientes de dietas de equinos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58, p.94-98, 2006.

RALSTON, S.L. Feeding dentally challenged horses. **Clin. Tech. Equine. Pract.**, v.4, p.117-119, 2005.

SOUSA, F.A.A. Uma visão de agrobusiness. **Revista Educação Continuada**, CRMV-SP, v.2, n.3, p.38-45, 1999.

TRIGUEIRO, P. H. C ; URBANO, S. A; LIMA, S. M; COSTA. I. C. C. Alterações morfodentárias que influenciam a saúde dos equinos. **Revista Verde** v.5, n.4, p. 01 – 10, 2010.

ANEXO I

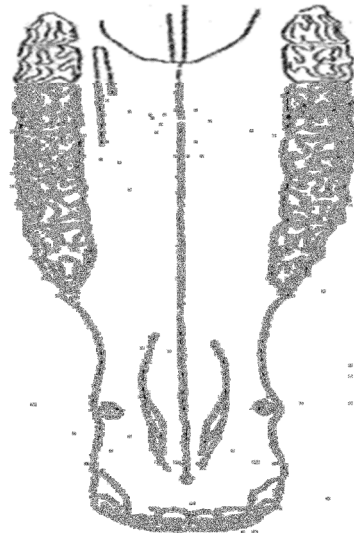
Ficha Odontológica Equina

Nome: _____	Peso: _____	Idade: _____	Sexo: M()F()
Data / / _____			
Ulceras na Mucosa: Ausente () Presente ()			
Ulceras na língua: Ausente() Presente()			
Obs: _____			

Maxila

201	
202	
203	
204	
205	
206	
207	
208	
209	
210	
211	

ESQUERDA **DIREITA**

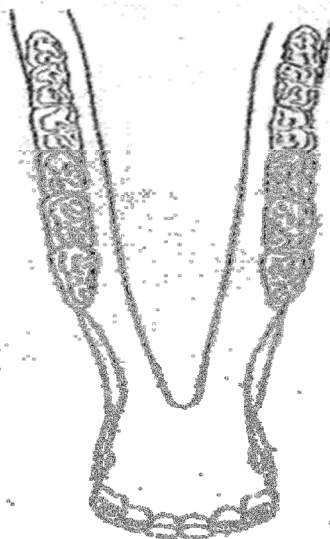


101	
102	
103	
104	
105	
106	
107	
108	
109	
110	
111	

Mandibula

401	
402	
403	
404	
405	
406	
407	
408	
409	
410	
411	

DIREITA **ESQUERDA**



301	
302	
303	
304	
305	
306	
307	
308	
309	
310	
311	

ADD –Lado direito

	Dente
Ausência de pré-molar/molar	
Capas	
Degrau	
Doença Infundibular	
Doença periodontal	
Fraturas	
Ganchos Rostral/Caudal	
Ondas	
Pontas	
Rampas	

ADD – Lado esquerdo

	Dente
Ausência de pré- molar/Molar	
Capas	
Degrau	
Doença Infundibular	
Doença Periodontal	
Fraturas	
Ganchos Rostral/Caudal	
Ondas	
Pontas	
Rampas	

Alterações De Incisivos	Dente
Curvatura dorsal	
Curvatura ventral	
Fraturas	
Incisivos desalinhados	
Mordidas em digonal	
Retenção de deciduos	
sobremordida	
Supranuerarios ou ectropicos	
underjet	

Excursão da Mandibula	ED	EE
Cm		
Medida da pinça		

Alimentação: _____

Ambiente onde vive : Baia () Piquete () Sistema extensivo ()

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO COM REDUÇÃO DO TEMPO DE PERMANÊNCIA DE IMPLANTE DE PROGESTERONA EM VACAS EM ANESTRO E BAIXO ESCORE CORPORAL

Acadêmicos: Amarildo Monteiro Esperança Júnior e Rogério Soares de Freitas

Orientadora: Vívian Rachel de Araújo Mendes

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar os resultados obtidos a partir do emprego de um protocolo hormonal de IATF onde reduziu-se a permanência do implante de progesterona em relação ao protocolo padrão, em vacas em anestro e com baixo escore corporal. Foram utilizadas 18 vacas da raça Tabapuã, primíparas e múltíparas, não lactantes, com mais de seis meses pós-parto, que se encontravam em anestro, com escore de condição corporal (ECC) entre 1,5 e 3,75 distribuídas em dois grupos de 9 animais por protocolo de IATF. Os animais foram submetidos à dieta *flushing* de suplementação em curto prazo, visando melhor resposta no desenvolvimento folicular e ovulação. Foram confirmadas cinco fêmeas gestantes pertencentes ao grupo controle (55,5%) e duas (22,2%) no grupo testado. O folículo dominante aferido no dia da inseminação artificial foi relativamente maior no grupo controle (10,90mm) em relação ao tratamento (8,74mm), apesar deste fator não ter influenciado o número de ovulações, que foi semelhante entre os protocolos utilizados, 7 e 6 respectivamente. Diante dos resultados, conclui-se que apesar da baixa taxa de concepção alcançada, a utilização de protocolo de IATF com redução de tempo de permanência do implante de progesterona é possível, uma vez que foi verificada taxa de ovulação semelhante à observada no protocolo padrão. Porém, o baixo ECC e o anestro são condições que reduzem a eficiência dos protocolos hormonais utilizados para sincronização da ovulação, resultando em baixas taxas de concepção.

PALAVRAS CHAVE: IATF; Reprodução; Anestro; *Flushing* nutricional.

1. INTRODUÇÃO

A pecuária mundial se desenvolve buscando alcançar a máxima eficiência reprodutiva dos rebanhos bovinos, que gera um retorno econômico satisfatório aos criadores. Deste modo, o melhoramento genético é uma importante ferramenta que contribui para otimizar a eficiência reprodutiva e a produtividade dos rebanhos (PEREIRA, 2014; RIBEIRO FILHO *et al.*, 2013). A inseminação artificial (IA), assim como outras biotecnologias, tais como produção *in vitro* de embriões (PIVE), transferência de embriões (TE) e sexagem de espermatozoides, são utilizadas com o intuito de acrescentar melhorias nesses aspectos (BARUSELLI *et al.*, 2004).

Mesmo a IA sendo considerada uma importante ferramenta para se obter melhoramento genético, a diminuição da expressão e falhas na detecção de estros são fatores limitantes para o emprego desta biotécnica na bovinocultura (RIBEIRO FILHO *et al.*, 2013; SOUZA, 2008). Um dos principais problemas do uso da IA no Brasil tem relação com a dificuldade de detecção de estro, o que afeta diretamente a obtenção de resultados reprodutivos desejáveis das fêmeas. Com o objetivo de minimizar estas falhas, foram desenvolvidos protocolos hormonais que controlam o ciclo estral e eliminam a necessidade da detecção do estro. Desta forma, todos os animais submetidos a este tratamento hormonal são inseminados em um mesmo momento, caracterizando a técnica de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) (BARUSELLI *et al.*, 2006).

Os protocolos de IATF têm como meta sincronizar a ovulação a partir da administração de hormônios, induzindo a emergência de uma nova onda de crescimento folicular, controlando a duração do crescimento folicular até o estágio pré-ovulatório, sincronizando a inserção e a retirada da fonte de progesterona exógena (implante auricular ou dispositivo intravaginal) (BARUSELLI *et al.*, 2006).

Essa biotécnica permite que um maior número de animais seja inseminado em período de tempo pré-determinado sem estabelecer programas intensivos para detecção de cio (ALVES e JACKSON, 2006), encurtando a estação de monta e concentrando a estação de nascimento em um período favorável (CREPALDI, 2009). Ou seja, trabalhos como este permitem visualizar as vantagens provenientes da realização da biotécnica IATF em relação à inseminação artificial comumente utilizada (PEREIRA, 2014).

Contudo, o objetivo deste trabalho é avaliar os resultados obtidos a partir da geração de protocolo hormonal de IATF onde reduz-se a permanência do implante de progesterona em relação ao protocolo padrão, em vacas em anestro e com baixo escore corporal.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é uma biotécnica que se baseia na sincronização da ovulação em vacas a partir da administração de hormônios (BARROS e FERNANDEZ, 1998). Este controle farmacológico do ciclo estral das fêmeas tem sido utilizado visando excluir a necessidade de detecção de estro e desta forma aumentar a quantidade de animais sujeitos à utilização da biotécnica,

visto que um dos objetivos principais da biotécnica é atingir o máximo desempenho reprodutivo dos animais, que seria o desejável em um rebanho comercial, ou seja, a produção ideal de um bezerro por vaca a cada ano (THOMAS, 1992).

É essencial destacar a importância econômica que representa uma vantagem na utilização da IATF, que inclui a redução da mão de obra e concentração das atividades; a eliminação da necessidade de detecção do estro; a redução do período de serviço e intervalo entre partos; a possibilidade de padronizar os lotes de bezerros e aumentar a eficiência no índice de desmame. Com o uso correto da técnica é possível obter resultados positivos em relação ao custo/benefício da atividade (BARUSELLI *et al.*, 2006).

2.2. Ciclo estral e função ovariana na vaca

A fêmea bovina apresenta um ciclo estral com intervalo de 18 a 24 dias, em média 21 dias. Cada ciclo estral compreende uma série de eventos que ocorrem entre um estro e o subsequente, controlados pelos hormônios secretados pelo hipotálamo, hipófise, ovários e útero (FERREIRA, 2010).

Os hormônios responsáveis pela ocorrência dos eventos que ocorrem durante o ciclo estral são: o GnRH, hormônio liberador de gonadotrofinas; as gonadotrofinas FSH (hormônio folículo estimulante) e LH (hormônio luteinizante); estradiol e progesterona; e a prostaglandina F2 α (PGF2 α). O GnRH é produzido pelo hipotálamo e regula a liberação das gonadotrofinas FSH e LH que são produzidas pela hipófise e são responsáveis pelo desenvolvimento folicular e ovulação. Os hormônios estradiol, produzido pelo folículo e a progesterona, produzida pelo corpo lúteo são responsáveis pela manifestação do estro e manutenção da gestação, respectivamente. A PGF2 α é uma substância produzida pelo útero e sua ação é responsável pelo mecanismo de luteólise (VALLE, 1991).

Cada ciclo estral pode ser dividido em duas fases, folicular e luteínica. A fase folicular (proestro e estro) possui o estrógeno como hormônio predominante, e é caracterizado pelo desenvolvimento do folículo que culmina na ovulação. O estro, considerado o dia zero do ciclo estral, é o período em que a fêmea apresenta os sinais de receptividade sexual, com duração média de aproximadamente 12 horas e é seguido pela ovulação, 12 a 16 horas após o término do estro. Já a fase luteínica (metaestro e diestro) está relacionada ao desenvolvimento e manutenção do corpo lúteo (CL), que se forma após a ruptura do folículo, e é o responsável pela produção de progesterona (VALLE, 1991). Se o ovócito for fecundado, o corpo lúteo será

mantido durante toda a gestação, caso contrário ocorrerá a luteólise (VALLE, 1991), que ocasionará a redução das concentrações de progesterona e, com o crescimento do folículo dominante, a concentração de estradiol aumenta. Esses acontecimentos levam ao comportamento de cio e ao pico pré-ovulatório de GnRH/LH seguido de ovulação 28 a 32 horas depois (TEIXEIRA, 2010).

2.3 Funções dos hormônios utilizados na IATF

Os principais fatores limitantes para realização do controle farmacológico do ciclo estral de vacas é o comportamento fisiológico reprodutivo da vaca, sendo que este sofre influência direta do seu estado nutricional, o que torna essencial compreender as funções fisiológicas dos mecanismos aplicados. A IATF busca por meio do controle farmacológico: o desenvolvimento de folículos ovarianos, indução da ovulação e formação de um CL capaz de manter a gestação sem que haja a necessidade da detecção de estro (PEREIRA, 2014).

Os hormônios empregados atualmente na IATF, como produtos farmacológicos com objetivo de sincronização do estro e a ovulação de bovinos são: prostaglandinas (PG) e seus equivalentes; esteróides (progesterona e estradiol 17β ; e peptídeos pequenos (hormônio liberador de gonadotrofina - GnRH) e glicoproteínas (gonadotropinas coriônica humana hCG, gonadotropinas coriônica equina - eCG) (PEREIRA, 2014).

2.3.1 Prostaglandina F 2α

A PGF 2α é sintetizada principalmente no útero, mas também é produzida pelo próprio corpo lúteo (CL), e é o mais relevante fator luteolítico. Sua atividade luteolítica mais importante é promover a vasoconstrição seguida de uma cascata apoptótica. A sincronização do estro com PGF 2α depende do acompanhamento de um CL, considerando que a ação da mesma é estimular a regressão morfológica e funcional do mesmo. A maturidade do CL no momento da administração de PGF 2α influencia a resposta luteolítica. Deste modo, a PGF 2α não induz efetivamente a luteólise durante os primeiros cinco ou seis dias após o estro (PEREIRA, 2014).

Nas fêmeas em que se comprova a luteólise, o acontecimento do estro é compartilhado num intervalo de cinco ou mais dias, o que torna impossível os programas de inseminação artificial em tempo fixo (BO *et al.*, 2002). A variância entre o intervalo da aplicação da PGF 2α , o estro e a ovulação, é decorrente do estágio de prosseguimento dos folículos no momento do tratamento.

Conseqüentemente, se o tratamento for efetuado quando o folículo dominante estiver na fase final do seu crescimento, ou no início da sua fase estática, a ovulação irá ocorrer 5 a 7 dias mais tarde, após o crescimento do folículo dominante da próxima onda folicular (KASTELIC; GINTHER, 1991).

2.3.2. Progestágenos

Nos anos 50 começaram a ser desenvolvidos progestágenos por via oral e, a partir dos anos 60, começaram a ser utilizados na sincronização do cio de bovinos. Tratamento por períodos prolongados com o uso de progestágenos (até vinte dias) sincronizavam o estro com precisão, porém, após o estro sincronizado resultaram em baixas taxas de prenhez nas inseminações artificiais (MADUREIRA *et al.*, 2006).

Acredita-se que após o parto, para desenvolver um corpo lúteo com vida funcional, as vacas necessitem de um primeiro contato com a progesterona. Desde então, os progestágenos foram utilizados com objetivo de simular uma fase luteal por períodos que permitam a regressão espontânea do CL, levando a uma sincronização do estro de aproximadamente quatro dias após a remoção do agente gestacional (PEREIRA, 2014).

Anderson e Day (1998) propuseram que a exposição aos progestágenos reduz a concentração de receptores de estrógeno (E2) no hipotálamo, diminuindo o *feed back* negativo sobre a liberação de GnRH, possibilitando o aumento na secreção de LH. O tratamento com progestágenos estimula o desenvolvimento e maturação de folículos dominantes, em vacas em anestro, por aumentar a secreção de LH, estimular o desenvolvimento de receptores de LH e a síntese de estradiol.

No mercado existem dois tipos de implantes de progesterona e/ou progestágenos para a sincronização de cio e ovulação: implantes vaginais e via auricular subcutânea. Os progestágenos hoje em dia estão sempre associados a outros hormônios nos protocolos de sincronização de cio, como por exemplo, valerato de estradiol, benzoato de estradiol, PGF2 α , GnRH e Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG) (ANDERSON e DAY, 1998).

2.3.3. 17 β estradiol

O estradiol 17 β é o estrógeno biologicamente produzido pelo ovário e em quantidades menores no estroma, sua síntese depende do aumento na expressão e atividade dos receptores de gonadotrofinas, enzimas esteroideogênicas e fatores de crescimento. O estrógeno atua nos vasos sanguíneos, crescimento glandular e crescimento epitelial, preparando a fêmea para a receptividade sexual. Altas

concentrações de estrógenos também influenciam no comportamento da fêmea e eventos copulatórios (REECE, 1996).

A utilização de estrógeno em IATF está relacionada com sua habilidade em induzir o surgimento da onda pré-ovulatória de LH, luteólise durante a fase folicular e atresia folicular. A aplicação de estrógeno causa, inicialmente, uma supressão na secreção tanto de FSH quanto de LH, levando à atresia dos folículos. Segue a liberação de um pico de FSH e, conseqüentemente, o recrutamento de uma nova onda folicular (PEREIRA, 2014).

Diferentes tipos de estrógenos vêm sendo utilizados para sincronização do estro. A maioria é utilizado como soluções injetáveis, como o valerato de estradiol, benzoato de estradiol e cipionato de estradiol.

2.3.4. Gonadotropina coriônica equina (eCG)

Produzida nos cálices endometriais da égua prenhe, a eCG é um fármaco de meia vida longa (até 3 dias), que se liga aos receptores foliculares FSH e LH e aos receptores de LH do corpo lúteo (STEWART e ALLEN, 1981). Este hormônio cria condições de crescimento folicular e de ovulação e seu uso tem-se mostrado compensador em rebanhos com baixa taxa de ciclicidade, em animais recém paridos (período pós-parto inferior a 2 meses) e em animais com condição corporal comprometida (BARUSELLI *et al.*, 2004).

A eCG administrado no final da fase de crescimento do folículo dominante, é capaz de induzir sua ovulação e/ou a luteinização. Por possuir ação folículo estimulante e luteinizante, em fêmeas bovinas é capaz de aumentar as concentrações plasmáticas de P4, principalmente quando administrado após a fase de divergência folicular. Devido a isso, ocorre um aumento na taxa de crescimento folicular, culminando com um maior folículo dominante e, conseqüentemente, maior CL, que pode resultar em aumento na taxa de concepção e de prenhez, em relação às fêmeas que não foram tratadas com eCG (PEREIRA, 2014).

A vantagem de utilização de eCG nos protocolos de sincronização é que este hormônio é administrado no momento da remoção do implante de progestágeno, evitando assim um trabalho a mais de manipulação, quando comparado a outros tipos de protocolo (MOREIRA, 2002).

2.5. Ação de hormônios e metabólitos sobre a reprodução

As limitações que levam às falhas na detecção de estro levaram ao emprego de substâncias para causar o estro em períodos pré-determinados. Geralmente, os agentes luteolíticos e as substâncias à base de progesterona são os mais utilizados com o intuito de encurtar ou prolongar a fase luteínica do ciclo estral (PORTO FILHO, 2004).

2.5.1. Progesterona e estradiol

O estradiol atua no controle da secreção pulsátil de GnRH, influenciando na neurotransmissão cerebral, aumentando os receptores de GnRH na hipófise anterior. Dessa forma, a ovulação tem relação imediata com a produção de estradiol pelo folículo dominante para estimular a liberação de gonadotrofina pré-ovulatória (PEREIRA, 2014).

Originalmente, o estradiol foi utilizado nos programas de sincronização de estro com emprego de progesterona, com a finalidade de causar a luteólise. Contudo, relatou-se que a utilização da progesterona associada ao estradiol, causou a regressão dos folículos em crescimento e sincronia de uma nova onda folicular (TEIXEIRA, 2010).

O estrógeno associado a progesterona origina o crescimento de uma nova onda folicular de 4 a 5 dias após sua administração, aproximadamente (PORTO FILHO, 2004). Porém, os tratamentos por longos períodos, além de serem efetivos para sincronizar o estro, resultam na diminuição da fertilidade da ovulação, já que ocorre a indução da ovulação de folículos persistentes (TEIXEIRA, 2010).

Existem diferentes ésteres de estradiol: 17 β -Estradiol, Benzoato de estradiol (BE), Valerato de estradiol (VE) e Cipionato de Estradiol (CE). O VE e o CE associados a progesterona, levam à regressão dos folículos antrais presentes no ovário, porém sua meia vida longa leva ao atraso na emergência da onda de crescimento folicular. Já o BE e o 17 β -Estradiol possuem meia vida mais curta e causam a emergência sincronizada de nova onda de desenvolvimento folicular (TEIXEIRA, 2010). Vários produtos sincronizadores do estro e da ovulação estão disponíveis no mercado. Alguns constituídos por progestágenos – norgestomet – associados ao VE – CRESTAR® e SYNCROMATE B® -, apresentados sob a forma de implantes subcutâneos. Outros, à base de progesterona associados ou não ao estrógeno – *Controlled Internal Drug Release* (CIDR®, CIDR-B®) e *Progesterone Releasing Intravaginal Device* (PRID®) – na forma de implantes vaginais. Há

também o *Bovine Intravaginal Device* (BID®) e o Cronipress® - também dispositivos intravaginais de liberação de progesterona (PORTO FILHO, 2004).

O protocolo para tratamento de sincronização da ovulação para IATF consiste na administração de 2 mg de BE no momento em que se faz a inserção do dispositivo intravaginal (Dia 0), retirar o dispositivo (Dias 7, 8 ou 9) e administrar PGF2 α (Dia 7) e 1 mg de BE 24 horas mais tarde (TEIXEIRA, 2010).

2.6 Anestro Pós-Parto

O anestro pós-parto pode ser definido como o período em que o animal se recupera da prenhez anterior, ou seja, retoma-se a funcionalidade do eixo que compreende o hipotálamo, hipófise, ovário e útero (MENEGHETTI, 2006). A sua duração é diretamente influenciada pela condição corporal, principalmente (FERREIRA *et al.*, 2013).

As vacas em anestro, em comparação às cíclicas, respondem de forma pior à maioria dos tratamentos de indução da ovulação, já que a fertilidade é mais baixa quando há ovulação após anestro prolongado (MACHADO *et al.*, 2007). Dessa forma, o anestro é um fator determinante no atraso da concepção de bovinos da pecuária do país, devido ao alto número de vacas com ovários inativos, dada as suas condições de subnutrição (ALMEIDA NETO, 2013).

2.7 Restabelecimento da função reprodutiva no pós-parto

As ondas foliculares recomeçam no período pós-parto com a formação de folículos dominantes, que falham em ovular devido à baixa frequência de pulso de LH, já que ocorre diminuição desse hormônio na hipófise, se restabelecendo entre quinze e trinta dias após o parto (GONÇALVES, 2004).

A condição corporal no momento do parto, juntamente ao ganho de peso e o balanço energético, são considerados os principais fatores envolvidos no retorno da ciclicidade após o parto. Vacas com baixa condição corporal na parição, perda de peso e, em consequência, balanço energético negativo (BEN) nas semanas seguintes ao parto, permanecerão por um maior intervalo de tempo em anestro pós-parto. Visto isto, o escore corporal possui relação direta com o desenvolvimento folicular no período pós-parto (GONÇALVES, 2004).

2.8 Relação entre Condição Corporal e Eficiência Reprodutiva

A condição corporal é um indicador de condição energética e também de ciclicidade em bovinos (MENEGETTI, 2006). Vacas subnutridas ou obesas dificilmente responderão com ovulação aos protocolos hormonais de IATF impostos (MACHADO *et al.*, 2007).

Os efeitos da nutrição possuem relação direta com a reprodução, sendo que o balanço energético é provavelmente o mais importante fator nutricional ligado à baixa função reprodutiva de vacas. Os níveis nutricionais baixos influenciam na atividade ovariana, afetando diretamente a atividade cíclica ovariana e, conseqüentemente, levando a um aumento do intervalo entre o parto e o primeiro estro subsequente (ALMEIDA NETO, 2013).

O escore de condição corporal adequado é recomendado como parte do manejo reprodutivo. Para obter reservas corporais adequadas para reprodução no pós-parto, as vacas devem possuir escore corporal maior ou igual a 3,5 (ALMEIDA NETO, 2013).

3. METODOLOGIA

3.1 Animais

O experimento foi conduzido no município de Matipó, estado de Minas Gerais, Brasil, no período de 23 de abril de 2015 a 13 de junho de 2015. Foram utilizadas 18 vacas da raça Tabapuã, primíparas e multíparas, não lactantes, com mais de seis meses pós-parto, que se encontravam em anestro, com escore de condição corporal (ECC) entre 1,5 e 3,75 na escala de 1 a 5. Os animais são criados em condições de manejo extensivo, em pastagens de *Brachiaria decumbens*, suplementadas com sal mineral e água *ad libitum*, distribuídas em dois grupos (controle/tratamento) de 9 animais por protocolo de IATF.

3.2 Flushing nutricional

O *flushing* nutricional foi utilizado com o intuito de aumentar a densidade energética e protéica das vacas, que foram suplementadas com 2kg de fubá vaca/dia por um período de 22 dias, compreendendo dias anteriores ao início do tratamento, durante e depois.

3.3 Protocolos de IATF

Protocolo 1 (grupo controle):

Dia 1 - Colocação de dispositivo intravaginal com 0,75 g de Progesterona micronizada (4-pregnane-3,20-diona) (Prociclar[®], Hertape Calier) e aplicação por via intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (Sincrodiol[®]; Ouro Fino);

Dia 8 - Retirada do Prociclar[®] (Hertape Calier), aplicação de 10 mg de Cloprostenol (Sincrodiol[®]; Ouro Fino), 1 mg de cipionato de estradiol (ECP[®]; Zoetis) e 400 UI de PMSG (eCG; Folligon[®]; Intervet) por via intramuscular;

Dia 10 – Inseminação Artificial cinquenta horas após a aplicação do Cloprostenol (Sincrodiol[®]; Ouro Fino) e do cipionato de estradiol (ECP[®]; Zoetis).

Protocolo 2 (grupo tratamento):

Dia 1 - Colocação de dispositivo intravaginal com 0,75 g de Progesterona micronizada (4-pregnane-3,20-diona) (Prociclar[®], Hertape Calier) e aplicação por via intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (Sincrodiol[®]; Ouro Fino);

Dia 5 - Retirada do Prociclar[®] (Hertape Calier);

Dia 8 - Aplicação de 10 mg de Cloprostenol (Sincrodiol[®]; Ouro Fino), 1 mg de cipionato de estradiol (ECP[®]; Zoetis) e 400 UI de PMSG (eCG; Folligon[®]; Intervet) por via intramuscular;

Dia 10 – Inseminação Artificial cinquenta horas após a aplicação do Cloprostenol (Sincrodiol[®]; Ouro Fino) e do cipionato de estradiol (ECP[®]; Zoetis).

3.4 Avaliação reprodutiva

No primeiro dia do protocolo, sendo o dia da colocação do dispositivo intravaginal de progesterona (DIP), foi realizada avaliação reprodutiva com auxílio de um ultrassom (Chison D600 VET), acoplado a uma probe linear transretal de sete mHz. Foram verificadas a presença de folículos e corpo lúteo nos ovários.

3.5 Mensuração do diâmetro do folículo pré-ovulatório

O diâmetro do folículo pré-ovulatório foi mensurado no início do protocolo e no dia da inseminação, com auxílio de um ultrassom (Chison D600 VET), com uma probe linear transretal de sete MHz.

3.6 Inseminação Artificial

A Inseminação Artificial foi realizada cinquenta horas após a aplicação do Cloprostenol (Sincrodiol[®]; Ouro Fino) e do cipionato de estradiol (ECP[®]; Zoetis). Os

animais que apresentaram estro antecipadamente foram inseminados 12 horas após a identificação do estro. Foram utilizadas doses de sêmen congelado do touro “Nitro”, da raça Tabapuã, previamente analisado e com qualidade comprovada.

3.7 Taxa de ovulação

Foi realizada a avaliação da taxa de ovulação 10 dias após a inseminação, com o auxílio de ultrassom (Chison D600 VET), acoplado a uma probe linear transretal de sete MHz. Foi verificada a presença de CL e após aferição da área.

3.8 Diagnóstico de gestação

O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a inseminação dos animais com o auxílio de um ultrassom (Chison D600 VET), acoplado a uma probe linear transretal de sete MHz. Foram avaliados quanto à presença ou ausência de embrião aos quais se verificava acompanhamento de batimentos cardíacos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, em que 38,8% (7:18) das vacas apresentaram prenhez (TABELA 1), o que é considerado abaixo do ideal, foi possível confirmar a tese descrita por Ferreira *et al.* (2013), ao afirmarem que é maior a taxa de prenhez em vacas com maior ECC, sendo que 86,5% (83:96) apresentaram prenhez com melhor condição corporal contra 65,9% (56:85) de gestantes com pior ECC. Estes resultados se relacionam com um acréscimo na taxa de sincronização da ovulação para fêmeas de maior CC, observado por Meneghetti (2006), em experimento realizado com vacas primíparas da raça Nelore, confirmando a relação da nutrição com o desempenho reprodutivo.

Tabela 1. Número e porcentagem de animais prenhez nos grupos testados.

	Nº PRENHEZ	% PRENHEZ
Tratamento	2:9	22,2%
Controle	5:9	55,5%
TOTAL	7:18	38,8%

De acordo com as observações de Cutaia *et al.* (2003) fêmeas de pior condição corporal (ECC entre 2,0 e 2,5) expressam menor taxa de prenhez ao compará-las àquelas de melhor condição corporal (entre 3,0 e 4,0) ao serem

submetidas a programa de IATF. Cutaia e Bó (2004) constataram correlação de 90% do efeito da CC no momento da IATF a respeito da taxa de concepção em vacas submetidas a protocolos hormonais, que também pode ser comprovado por outros trabalhos de pesquisa que demonstraram que as taxas de concepção em programas de IATF eram melhores para aquelas fêmeas de melhor CC (MENEGETTI, 2006).

Semelhante ao que foi observado neste trabalho em que as médias de ECC variaram entre 2,2 e 2,4 (escala de 1 a 5) no início e ao final do tratamento com progesterona + estradiol (TABELA 2), Meneghetti (2006) constatou que o grau de BEN em que se encontra o animal, influencia no início da nova onda folicular, ocasionando menor taxa de sincronização. Sá Filho *et al.* (2009) reforçam a influência do ECC na taxa de ovulação e prenhez, avaliando dados retrospectivos de mais de 64.000 IATF, corroborando com o presente estudo em que verificamos ovulações (12:18) e de taxa de prenhez inferiores aos protocolos utilizados em animais com ECC adequados (entre 3,0 e 4,0), sendo possível afirmar que o ECC é um preditor confiável de probabilidade de prenhez, quando são utilizados protocolos hormonais para a IATF; dessa forma recomenda-se a utilização de protocolos em animais com bom ECC.

Tabela 2. Relação entre escore inicial/final nos grupos tratamento e controle.

	ESCORE INICIAL	ESCORE FINAL
Tratamento	2,44	2,27
Controle	2,19	2,30
TOTAL	2,31	2,29

O nível de energia na dieta tem sido considerado um dos fatores nutricionais mais importantes envolvidos no crescimento folicular, dessa forma, trabalhos como o de Teleni *et al.* (1989), têm demonstrado que o aumento de energia a curto prazo na dieta *flushing* aumenta a taxa de ovulação. A utilização do *flushing* neste trabalho teve como objetivo verificar a influência do aumento de aporte de energia a curto prazo na reprodução animal em vacas Tabapuã com baixo escore corporal, visto que a nutrição e a reprodução estão complexamente correlacionadas. Foi observado que a utilização do *flushing* pode ter contribuído de forma eficaz na ocorrência das ovulações e prenhezes dos animais, mesmo não apresentando resposta significativa no aumento do escore corporal ao final dos tratamentos hormonais. Gutiérrez *et al.* (1997) sugerem que o aumento no crescimento folicular gerado pela dieta *flushing*

pode estar relacionado às concentrações sanguíneas de glicose, insulina e IGF-I (Fator de crescimento semelhante a Insulina 1), os quais são importantes mediadores entre a nutrição e a reprodução animal.

Segundo Almeida Neto (2013), vacas com baixa reserva corporal de gordura geralmente apresentarão anestro, onde apenas pequenos folículos encontram-se presentes nos ovários. A avaliação inicial das fêmeas utilizadas no presente experimento condiz com esta definição. A correlação observada entre nutrição e reprodução inclui efeitos sistêmicos que interferem nos eventos da dinâmica folicular ovariana em vacas com baixa CC, ocasionando o prolongamento do intervalo entre o parto e uma nova concepção, devido ao longo período de anestro, tanto em vacas de corte como de leite.

De acordo com Sá Filho *et al.* (2011), uma alta ocorrência de estro, além de uma alta capacidade ovulatória e uma elevada probabilidade de prenhez em vacas submetidas a protocolos de IATF estão diretamente relacionadas com a presença de folículos de maior diâmetro no momento em que se retira o dispositivo intravaginal de progesterona (DIP). A identificação de folículos dominantes com diâmetro iguais ou inferiores a 10mm no momento da inseminação (D10) corroboram com Ribeiro Filho *et al.* (2013), que correlacionaram o sucesso dos protocolos de IATF com o crescimento e desenvolvimento do folículo dominante, e sugeriram que, quanto maior o diâmetro do folículo pré-ovulatório, maior a probabilidade de ocorrer ovulação deste folículo, justificando assim a maior taxa de concepção em fêmeas com maior diâmetro folicular.

Entretanto, observamos neste experimento que a média do diâmetro dos folículos ovarianos dominantes alterou de forma inesperada nas aferições realizadas antes e ao final do tratamento hormonal no protocolo com redução do implante de progesterona em que variou de 10,29mm para 8,74mm, podendo correlacionar com a condição de anestro e não com a progesterona circulante. Porém, quanto ao protocolo com tempo normal de implante de progesterona, em que houve variação de 10,83mm para 10,90mm, podemos considerar que sofreu uma variação pouco significativa. Entretanto, estes resultados não refletiram no número final de ovulações observadas 10 dias após a realização da inseminação, em que o grupo controle apresentou 77,7% (7:9) das vacas ovuladas, enquanto o grupo tratamento apresentou 66,6% (6:9) do total de vacas ovuladas (TABELA 3). Esse fato pode ser explicado a partir da análise proposta por Xu *et al.* (1995) e Ginther *et al.* (2001), que afirmam que a ovulação também é dependente da aquisição de receptores de LH no

folículo dominante, o que acontece quando os folículos dominantes alcançam o diâmetro de, aproximadamente, 8,5mm. A capacidade ovulatória do folículo, em protocolos hormonais de IATF, depende do tamanho do folículo no momento em que o indutor da ovulação é aplicado, dessa forma pode-se causar variação significativa da resposta aos protocolos hormonais (GIMENES *et al.*, 2008).

Tabela 3: Diferenças entre os diâmetros dos folículos dominantes no início e ao final dos protocolos de IATF e taxa de ovulação nos grupos testados.

	Diâmetro do Folículo Dominante – D1 (mm)	Diâmetro do Folículo Dominante - D10 (mm)	Ovulações
Tratamento	10,29	8,74	6:9 (66,6%)
Controle	10,83	10,90	7:9 (77,7%)
MÉDIA TOTAL	10,56	9,82	13:18 (72,2%)

As concentrações de progesterona circulante influenciam nas taxas de ovulação em um protocolo de IATF, Ahmad *et al.* (1995) observaram que a utilização de progestágenos torna-se uma desvantagem por reduzir a fertilidade da ovulação sincronizada devido ao prolongamento do tempo de vida do folículo dominante e da ovulação de ovócitos subférteis.

O presente trabalho teve como uma das propostas reduzir o tempo de permanência de implante de progesterona, visando o crescimento do folículo dominante em menores concentrações de progesterona circulantes e maiores taxas de ovulação. Conforme observamos em outros trabalhos, maiores concentrações de progesterona circulante, durante o tratamento com utilização de implante de progesterona, causam reduzida pulsatilidade de LH (ROBERSON *et al.*, 1989) e reduzido crescimento folicular (SIROIS e FORTUNE, 1990). Ainda segundo Meneghetti *et al.* (2009) e Carvalho *et al.* (2008), a redução da concentração de progesterona circulante é essencial para que se dê início ao pró-estro e ocorra maior desenvolvimento e diâmetro dos folículos. Além disso, observaram que vacas com baixa concentração sérica de progesterona durante o pró-estro, desenvolveram folículos com maior diâmetro quando comparadas àquelas que possuíam concentração mais alta de progesterona circulante. Colazo *et al.* (2008) observaram também que menores taxas de ovulação foram correlacionadas com maiores concentrações de progesterona circulante, independentemente do tamanho do folículo.

O presente experimento permitiu verificar que o percentual da taxa de concepção nos animais do grupo tratamento, que apresentaram diâmetro folicular

em média de 8,74mm, foi de 22,2% (2:9). Enquanto que nos animais do grupo controle, que apresentaram diâmetro folicular em média de 10,90mm, a taxa de concepção foi de 55,5% (5:9). Corroborando, relativamente, com essas informações, nos dados de um estudo de Borsato *et al.* (2004) verificou-se que animais com folículos pré-ovulatórios entre 7 e 10mm tiveram taxa de concepção de 11,1% e aqueles com folículos de 10 a 13mm alcançaram taxa de concepção de 88,2%. Ou seja, esses dados permitem confirmar a hipótese de Sá Filho *et al.* (2010) que confirmam a relação entre o tamanho do diâmetro do folículo pré-ovulatório e a probabilidade de concepção, em vacas submetidas a protocolos de IATF.

A taxa de prenhez resultante do experimento (38,8%) encontra-se muito abaixo do esperado, quando comparada a outros trabalhos em que apresentou-se 65,9% de animais gestantes com baixo ECC (FERREIRA *et al.*, 2013), tanto no grupo controle em que 55,5% (5:9) das vacas apresentaram gestação, mas principalmente no grupo tratamento em que apenas 22,2% (2:9) dos animais ficaram gestantes. Esses resultados possivelmente estão relacionados com a condição em que se encontravam os animais no início do protocolo hormonal de IATF, já que além da baixa CC as fêmeas apresentavam anestro. Segundo Machado *et al.* (2007), vacas em anestro em comparação as cíclicas respondem de forma pior à maioria dos tratamentos de indução da ovulação, já que a fertilidade é mais baixa quando há ovulação após anestro prolongado. Além disso, a falha na sincronização da ovulação contribuiu diretamente nos resultados finais de taxa de concepção, visto que a maioria dos animais do grupo tratamento apresentaram ovulações precoces ao tempo esperado no protocolo hormonal de IATF estabelecido.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados, conclui-se que apesar da baixa taxa de concepção alcançada, a utilização de protocolo de IATF com redução de tempo de permanência do implante de progesterona é possível, uma vez que foi verificada taxa de ovulação semelhante à observada no protocolo padrão.

Porém, o baixo ECC e o anestro são condições que reduzem a eficiência dos protocolos hormonais utilizados para sincronização da ovulação, resultando em taxas de concepção aquém do esperado.

REFERÊNCIAS

AHMAD, N.; *et al.* Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. **Biology of Reproduction**, v. 52, n. 5, p. 1129-1135, 1995.

ALMEIDA NETO, R. M. **Dinâmica ovariana em vacas magras com anestro e taxa de prenhez com IATF em vacas leiteiras mestiças de diferentes escores de condição corporal.** Tese/Pós-graduação, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa. 2013.

ALVES, O.; JACKSON, L. Avaliação do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo utilizando eCG em vacas nelore puras e paridas. **Revista Eletrônica de Veterinária REDVET**, v.7, n.1, 2006. Disponível em: < <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n020206.html> > Acesso em: 2 de setembro de 2014.

ANDERSON, L. H.; DAY, M. L. Development of a progestin- bases estrus synchronization program: I- Reproductive response of cows fed melengestrol acetate for 20 days with as injection of progesterone. **Journal Animal Science**, v.76, p.1267-1272, 1998.

BARUSELLI, *et al.* The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 479-486, 2004.

BARUSELLI, P. S.; *et al.* **Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em bovino de corte.** In: 2º SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 2006, Paraná. Anais. Paraná. p. 113-128, 2006.

BARROS, C.M.; FERNANDES, P. **Inseminação artificial com tempo fixo em zebuínos.** Anais, III CONGRESSO BRASILEIRO DE ZEBU - ABCZ, Uberaba - MG, p. 112-127, 1998.

BO, G. A.; *et al.* Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tempo fijo em bovinos para carne: algunas experienciais realizadas em Argentina. **Taurus**, v. 15, n. 15, p. 17-32, 2002.

BORSATO, E. A.; *et al.* Relação entre o tamanho do folículo ovulatório e taxa de concepção em novilhas *Bos taurus* x *Bos indicus* submetidas a inseminação artificial em tempo fixo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 28, n. 3, p. 137-142, 2004.

CARVALHO, J. B.; *et al.* Effect of early luteolysis in progesterone-based time AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, n. 2, p. 167-175, 2008.

COLAZO, M. G.; *et al.* Effects of plasma progesterone concentrations on LH release and ovulation in beef cattle given GnRH. **Domestic Animal Endrocnology**, v. 34, n. 1, p. 119-117, 2008.

CREPALDI, G. A. **Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF.** Dissertação/ Pós-graduação. Reprodução animal – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2009.

CUTAIA, L.; BÓ, G. A. **Factores que afectan los resultados em programas de inseminación artificial a tempo fijo em rodeos de cria utilizando dispositivos com progesterona.** In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN BOVINA, 1., 2004, *Barquisimeto. Anales...* Barquisimeto: [s.n], 2004. p. 109-123.

CUTAIA, L.; *et al.* **Programas de inseminación artificial a tempo fijo em rodeos de cria: factores que lo afectan y resultados productivos.** In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 5., 2003, Córdoba, Argentina. *Anales..* Córdoba, Argentina: [s.n], p. 119-132.

FERREIRA, A. M. **Reprodução da Fêmea Bovina: Fisiologia Aplicada e Problemas mais Comuns (Causas e Tratamentos).** Juiz de Fora, MG: edição do Autor, 422p, 2010.

FERREIRA, M. C. N.; *et al.* **Impacto da condição corporal sobre a taxa de prenhez de vacas da raça nelore sob regime de pasto em programa de inseminação artificial em tempo fixo (IATF).** *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 34, n. 4, p. 1861-1868, jul./ago, 2013.

GIMENES, L. U.; *et al.* Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, n. 7, p. 852-858, 2008.

GINTHER, O. J.; *et al.* Follicle selection in cattle: role of luteinizing hormone. **Biology of Reproduction**, v. 64, n. 1, p. 197-205, 2001.

GONÇALVES, P. B. D. Anestro pós parto em vacas de corte. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 2004, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. **Anais.** Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2004. p. 105 - 116.

GUTIÉRREZ, C.G. *et al.* The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. **J. Anim. Sci.**, Savoy, p. 1876-1884, 1997.

KASTELIC, J. P.; GINTHER, O. J. *et al.* Factors Affecting the Origin of the Ovulatory Follicle in Heifers with Induced Luteolysis. **Animal Reproduction Science**, v. 26, n. 1-2, p. 13-24, 1991.

MACHADO, R.; *et al.* **A inseminação artificial em tempo fixo como biotécnica aplicada na reprodução dos bovinos de corte.** In: *Semana do Estudante*, 18, 2007, São Carlos, SP.

MADUREIRA, E. H.; FERNANDES, R. H. R.; ROSSA, L. A. F. **Anestro pós-parto em bovinos: a suplementação com óleos vegetais pode encurtá-los.** In: II Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada. Londrina: 2006, p.63-70.

MENEGHETTI, M. **Mês de parição, condição corporal e resposta a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte primíparas.** Dissertação/Pós-graduação, Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Botucatu – SP, Agosto 2006.

MENEGHETTI, M.; *et al.* Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. **Theriogenology**, v. 72, n. 2, p. 179-189, 2009.

MOREIRA, R. J. C., **Uso do protocolo Crestar® em tratamentos utilizando benzoato de estradiol, PGF2G, PMSG e GnRH para controle do ciclo estral e ovulação em vacas de corte.** Dissertação de Mestrado. Piracicaba, São Paulo - Brasil, 62p. 2002.

PEREIRA, Jhonata Vieira Tavares do Nascimento. **Variáveis morfológica e hormonais ovariana e sanguínea de vacas nelores submetidas a diferentes protocolos de IATF.** Viçosa, 2014. 58p. Monografia/Pós-graduação. Medicina veterinária – Universidade Federal de Viçosa – UFV

PORTO FILHO, R. M. **Sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) durante a estação reprodutiva desfavorável em fêmeas bubalinas.** Tese/Pós-Graduação. Reprodução animal Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2004.

REECE, O. W. **Fisiologia de animais domésticos.** São Paulo: ROCA, p. 289. 1996.

RIBEIRO FILHO, Antonio de Lisboa *et al.* **Diâmetro do folículo no momento da inseminação artificial em tempo fixo e taxa de concepção em vacas nelores.** *Cienc. anim. bras.*, Goiânia, v.14, n.4, p. 501-507, out./dez. 2013.

ROBERSON, M. S.; *et al.* Luteinizing hormone secretion and corpus luteum function in cows receiving two levels of progesterone. **Biology of reproduction**, v. 41, n. 6, p. 997-1003, 1989.

SÁ FILHO, O. G.; *et al.* Strategies to improve fertility in postpartum multiparous *Bos indicus* cows submitted to a fixed-time insemination protocol with gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F₂α. **Journal of Animal Science**, v.87, p. 2806-2814, 2009.

SA FILHO, M. F.; *et al.* Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin- based protocols in suckled *Bos indicus* cows. **Animal Reproduction Science**, v. 120, n. 1- 4, p. 23-30, 2010.

SÁ FILHO, M. F.; *et al.* Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. **Theriogenology**, v. 76, n. 3, p. 455-463, 2011.

SIROIS, J.; FORTUNE, J. E. Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. **Endocrinology**, v. 127, n. 2, p. 916-925, 1990.

SOUZA, A. H. de. **Inseminação em tempo fixo em vacas holandesas de alta produção.** São Paulo, 2008. Tese/Pós-graduação. Reprodução e produção animal – Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

STEWART, F.; ALLEN, W.R. Biological functions and receptor binding activities of equine chorionic gonadotrophins. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 62, p. 527-36, 1981

TEIXEIRA, A. A. **Impacto da inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de leite de alta produção**. Dissertação/Pós-graduação. Reprodução Animal – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2010.

TELENI, E.; *et al.* Lupins and energy-yelding nutrients in ewe. II. Response in ovulation rate in ewes to increased availability of glucose, acetato and aminoacids. **Reprod. Fertil. Dev.**, Melbourne, v. 1, p. 117-125, 1989.

THOMAS, V. M. **Beef cattle Production**. London: Wave Land Press, 1992. 348 p.

VALLE, E.R. O ciclo estral de bovinos e métodos de controle. Campo Grande, **EMBRAPA CNPGC**, 1991.

XU, Z.; *et al.* Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. **Biology of Reproduction**, v. 53, n. 4, p. 951-957, 1995.

PREVALÊNCIA DA CISTICERCOSE BOVINA EM ESTABELECIMENTO SOB SERVIÇO DE INSPEÇÃO FEDERAL NA ZONA DA MATA MINEIRA

Acadêmica: Renata Silva Reis

Orientadora: Letícia Ferreira da Silva

RESUMO

A cisticercose bovina vem sendo a doença de maior ocorrência em estabelecimentos sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), acarretando em riscos à saúde pública e prejuízos econômicos à indústria da carne. A inspeção *post mortem* constitui a principal fonte de informação sobre a prevalência da doença, favorecendo o direcionamento e a efetividade das medidas de controle. Apesar dos diversos estudos sobre o assunto, dados atuais referentes à Zona da Mata Mineira ainda são escassos. Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a prevalência e a evolução dos casos de cisticercose bovina em um Matadouro-Frigorífico sob SIF, situado na Zona da Mata Mineira, no período entre 2007 e 2013. Foram avaliadas as fichas da movimentação anual de abate e de causas de apreensão e destinação de carcaças bovinas do referido estabelecimento. Durante o período analisado, foram abatidos 151.036 bovinos e a prevalência da cisticercose bovina foi 1,14%, com condenação de carcaças apenas no ano de 2007, sendo que nos anos subsequentes a destinação dada foi tratamento pelo frio. Foi observada uma tendência de redução de 0,28% na prevalência ao ano. Constatou-se, então, um decréscimo na prevalência desta zoonose, mas mesmo assim tornam-se necessárias medidas de controle eficazes e erradicação.

PALAVRAS-CHAVE: *Cysticercus bovis*; inspeção *post mortem*; saúde pública; Zona da Mata Mineira.

1. INTRODUÇÃO

O rebanho bovino brasileiro nos últimos anos tem apresentado ritmo acelerado de crescimento. No primeiro trimestre de 2014 foram negociadas em torno de 382 mil toneladas de carne bovina. Este volume é 19% superior ao observado no primeiro trimestre de 2013. Além disso, neste trimestre o faturamento cresceu 14,7%, passando de US\$ 1,440 bilhões em 2013 para US\$ 1,652 bilhões nesse ano (MAPA, 2014; BEEFPOINT, 2014).

Grande parte do volume da carne bovina produzida no Brasil é exportada para a Rússia, Europa e Estados Unidos. Estes mercados exigem um produto de alta qualidade nutricional e sanitária, por isso, é constante a pressão para melhorias na qualidade, visando à segurança alimentar (ABIEC, 2010).

Dentre as zoonoses que podem comprometer a qualidade sanitária da carne e a saúde de quem a consome se destaca, no Brasil, a cisticercose bovina. Esta

doença é a responsável pelo maior número de notificações em estabelecimentos com Serviço de Inspeção Federal (SIF) no país. Reforçando, assim, sua importância com relação à saúde do consumidor e aos prejuízos econômicos para toda a indústria da carne, em decorrência do julgamento das carcaças parasitadas (FUKUDA, 2003; ALMEIDA *et al.*, 2006; SOUZA *et al.*, 2007b). Em consequência disso, são observadas grandes perdas econômicas, tanto pela depreciação do valor da carcaça, quanto pela restrição comercial imposta aos frigoríficos, principalmente em relação ao mercado externo (FUKUDA, 2003).

O controle da cisticercose bovina é realizado pela inspeção da carne, através do exame *post mortem* criterioso, com avaliação adequada das carcaças parasitadas (SOUZA *et al.*, 2007a). A inspeção sanitária de carnes é de suma importância para prevenção da teníase humana, visando destinação adequada de carcaças e vísceras de bovinos parasitados (CORRÊA *et al.*, 1997). Apesar de suas limitações a inspeção ainda continua sendo o melhor método de identificação da parasitose no animal (KYVSGAARD *et al.*, 1991; MINOZZO *et al.*, 2002).

Os dados nosográficos, provenientes de estabelecimentos de abate inspecionados, constituem a principal fonte de informação sobre a prevalência da doença, favorecendo, assim, o direcionamento e a efetividade das medidas de controle. A partir desses dados, foi observado que, no período de 2007 a 2010, entre as regiões brasileiras, o sudeste foi responsável pelo maior número de casos de cisticercose bovina no país (DUTRA *et al.*, 2012). Todavia, apesar dos diversos estudos sobre o assunto, os dados atuais referentes sobre a Zona da Mineira ainda são muito escassos.

Neste trabalho teve-se como objetivo avaliar a prevalência e a evolução dos casos de cisticercose em bovinos abatidos em um Matadouro-Frigorífico sob SIF, situado na Zona Mata Mineira, Minas Gerais. Este estudo é de grande importância para definir estratégias de manejo do rebanho bovino, visando erradicar ou reduzir ao mínimo os casos da cisticercose bovina no rebanho da região.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 EPIDEMIOLOGIA DO COMPLEXO TENÍASE-CISTICERCOSE BOVINO

A *Taenia saginata* é um parasito que pertence ao gênero *Taenia*, à família *Taeniidae*, à classe *Cestoidea* e a ordem *Cyclophyllidea* (REY, 2008).

O complexo teníase-cisticercose bovino causado pela *Taenia saginata* é uma enfermidade de caráter zoonótico, sendo de grande importância tanto do ponto de

vista médico veterinário quanto de saúde pública. Esse complexo apresenta duas formas clínicas distintas: a cisticercose, causada pela forma larvar da tênia (*Cysticercus bovis*) que compromete a musculatura e alguns órgãos dos bovinos (hospedeiros intermediários), e a teníase, causada pela forma adulta da tênia, que se desenvolve na mucosa do intestino delgado do homem (hospedeiro definitivo) (REY, 2008; CARVALHO *et al.*, 2006).

2.1.1 CICLO EVOLUTIVO DA *Taenia saginata*

O ciclo da *Taenia saginata* apresenta, necessariamente, dois hospedeiros, sendo um intermediário e outro definitivo (CARVALHO *et al.*, 2006).

Os bovinos são infectados ao ingerirem, direta ou indiretamente, os ovos de *Taenia saginata*, provenientes da matéria fecal de humanos. Na maioria das vezes, estes ovos estão contaminando pastagens e cursos d'água aos quais os animais têm acesso (CARVALHO *et al.*, 2006). Após a ingestão, os embriões (oncosferas) eclodem e libertam-se dos ovos pela ação dos sucos digestivos e da bile. Essas oncosferas, por sua vez, penetram na mucosa intestinal e, em torno de 24 a 72 horas, ganham a circulação sanguínea, alojando-se e desenvolvendo-se nos músculos esqueléticos e cardíacos. Logo após a infecção, os cisticercos já são viáveis, sendo que o seu amadurecimento completo e a sua capacidade infectante para o hospedeiro definitivo ocorre em aproximadamente 10 semanas (PFUETZENREITER e ÁVILA-PIRES, 2000; REY, 2008).

Já o homem adquire a teníase ao consumir carne crua ou mal passada contendo cisticercos viáveis (GEMMELL *et al.*, 1983). Durante a digestão da carne, os cisticercos são liberados e o escólex, sob ação da bile, desenvagina, fixando-se na mucosa do intestino delgado. As proglotes grávidas são eliminadas em torno de 60 a 70 dias após a infecção (REY, 2008).

2.1.2 PREVALÊNCIA DA CISTICERCOSE BOVINA

A cisticercose bovina é uma parasitose com distribuição cosmopolita, sendo que no Brasil a prevalência apresenta variação entre os estados e períodos de avaliação (DUTRA *et al.*, 2012). Nos últimos anos tem-se destacado como a doença de maior ocorrência em estabelecimentos com regime de Inspeção Federal (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Durante o período de janeiro 2007 a abril 2010, um total de 75.983.590 bovinos foram abatidos no Brasil, confirmando 796.941 casos de cisticercose bovina, atingindo uma prevalência de 1,05% (DUTRA *et al.*, 2012). Durante esse período a maior prevalência foi observada no estado de São Paulo (3,34%), que contribuiu com 50% da prevalência total dos animais infectados, seguido por Mato Grosso do Sul (1,34%) e Paraná (2,91%). Nesse período, Minas Gerais obteve uma prevalência de 0,65%, sendo um resultado intermediário em relação aos demais estados. Além disso, não foi diagnosticada a ocorrência da parasitose em sete estados brasileiros, Pernambuco, Distrito Federal, Amapá, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte e Maranhão. Portanto, durante os anos estudados, as regiões mais afetadas foram centro-oeste, sudeste e sul do Brasil (DUTRA *et al.*, 2012).

Entre os anos de 1990 a 2000 foi encontrada prevalência de 4,60% quando se avaliaram 1.284.788 bovinos procedentes do estado de São Paulo (FERNANDES e BUZETTI, 2001). No ano de 1992, a prevalência foi de 12,5% cisticercose entre os bovinos abatidos no referido estado (UNGAR e GERMANO, 1991). Já resultados baseados nos achados macroscópicos de um Matadouro-Frigorífico sob Serviço de Inspeção Federal (SIF) situado no município de Andradina-SP, no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2002, revelaram que foram abatidos 625.593 bovinos, dos quais 12.129 (1,94%) apresentaram cisticercose (FERNANDES *et al.*, 2002).

Em Minas Gerais, no período de 1999 a 2001, a prevalência foi de 5,02% (FUKUDA, 2003). Dados de bovinos abatidos em um Matadouro-Frigorífico sob SIF, situado no Triângulo Mineiro-MG, durante o período de 2000 a 2003, demonstraram uma prevalência de 4,60%, sendo maior no ano de 2001 (6,27%) e menor no ano de 2003 (2,73%) (CARVALHO *et al.*, 2006).

Dados nosográficos coletados em Matadouro-Frigorífico sob SIF localizado no município de Teixeira de Freitas, região sul da Bahia, referente apenas ao mês outubro de 2005, apontaram prevalência de 4,20% para a cisticercose bovina em 2.738 animais abatidos (ALMEIDA *et al.*, 2006). Na cidade de Jequié, estado na Bahia, entre agosto de 2004 e julho de 2006, foram abatidos 142.579 bovinos em Matadouro-Frigorífico sob SIF, observando-se uma prevalência geral de 1,74% de cisticercose bovina, constatando-se que 2.485 animais apresentaram o cisticerco no período estudado (SANTOS *et al.*, 2008).

Já no Rio de Janeiro, entre os anos de 1997 a 2003, foram abatidos 494.620 bovinos oriundos de 38 municípios do referente estado. Destes, o serviço de

inspeção detectou cisticercos em 9.656 (1,95%) (PEREIRA, SCHWANZ e BARBOSA, 2006).

No estado do Paraná, no período de 2004 a 2008, realizou-se um estudo retrospectivo sobre a ocorrência da cisticercose bovina no estado, onde 5.917.950 bovinos foram abatidos. Desses animais, 132.038 foram confirmados com a cisticercose bovina, gerando uma prevalência, no período estudado, de 2,23% (GUIMARÃES-PEIXOTO *et al.*, 2012).

2.2 IMPACTO ECONÔMICO DA CISTICERCOSE BOVINA

Em relação às perdas econômicas, a cisticercose bovina é uma doença que não acarreta problemas aos animais durante o sistema de criação, pois os mesmos não apresentam sintomatologia clínica. Todavia, as consequências são grandes para a balança comercial do país (UNGAR e GERMANO, 1992; SOUZA *et al.*, 2007b).

A cisticercose bovina acarreta grandes prejuízos à economia, sendo os mesmos irreversíveis para indústria da carne, seja em decorrência da condenação total ou parcial das carcaças e órgãos parasitados ou pela depreciação do valor da carne, quando a carcaça é destinada a salga, conservas ou ao congelamento (DORNY *et al.*, 2009; DUTRA *et al.*, 2012). As perdas econômicas são significativas associadas à produção de alimentos, entretanto, os Matadouros-Frigoríficos são os mais prejudicados, devido às imposições que sofrem do mercado, principalmente externo (OLIVEIRA *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2007a).

No Brasil é difícil determinar o valor decorrente das perdas, devido ao fato das publicações serem escassas; outro fator importante está relacionado com o fato dos estados não conhecerem a real taxa de prevalência da cisticercose bovina em seu rebanho (PEREIRA, SCHWANZ e BARBOSA, 2006).

2.3 DIAGNÓSTICO E CONTROLE DA CISTICERCOSE BOVINA

As medidas que visam prevenir a infecção do homem pela *T. saginata* estão relacionadas com a interrupção da propagação e o bloqueio do seu ciclo biológico na natureza (SOUZA *et al.*, 2007a).

O recurso de maior expressão para o controle da cisticercose bovina é a inspeção de carnes, a partir de um exame *post mortem* criterioso, com o julgamento e a destinação adequados das carcaças parasitadas (SOUZA *et al.*, 2007a).

Almeida *et al.* (2002) descreveram que a melhor medida de controle é a identificação macroscópica dos cisticercos pelo médico veterinário durante a rotina de inspeção *post mortem*, visando a condenação dos tecidos parasitados. Porém, alguns aspectos podem tornar difícil o seu diagnóstico, já que o *Cysticercus bovis* pode ser encontrado em locais que não são considerados de predileção, ou em casos de infecção crônica, onde o parasita já se encontra degenerado.

O diagnóstico da cisticercose bovina é realizado durante a rotina de inspeção *post mortem* nos Matadouros-Frigoríficos, que consiste basicamente na avaliação visual macroscópica de cisticercos em tecidos e órgãos da carcaça (PEREIRA, SCHWANZ e BARBOSA, 2006).

As carcaças inspecionadas são julgadas e destinadas de acordo com o disposto no Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), artigo 176. A inspeção consiste em realizar incisões em áreas consideradas de predileção para o cisticerco, como coração, músculos mastigatórios (masseteres e pterigoideo mediais e laterais), língua e diafragma, inclusive os seus pilares (BRASIL, 1997).

Ainda de acordo com este Regulamento, no julgamento das carcaças parasitadas existem quatro destinações possíveis, de acordo com o grau de infestação observado: condenação (infestações intensas, correspondendo à presença de um ou mais cistos em incisões realizadas em diferentes áreas da musculatura, ou em uma área correspondente à palma da mão); esterilização pelo calor ou salga, pelo prazo de 21 dias (infestação moderada, com número intermediário de cisticercos); rejeição parcial e congelamento, por 15 dias a uma temperatura de -10°C (em casos de infestações discretas, com até um cisticerco encontrado na rotina de inspeção); e rejeição parcial (quando um único cisticerco é encontrado e este se encontra calcificado) (BRASIL, 1997).

Atualmente, outros métodos diagnósticos estão sendo propostos para auxiliar no controle desta zoonose. Testes sorológicos para serem realizados no período *ante mortem* vêm sendo alvos constantes de pesquisas no intuito de atuarem como métodos complementares à inspeção *post mortem*, corrigindo as falhas de sensibilidade apresentadas por esta técnica (ABUSEIR *et al.*, 2007; DORNY *et al.*, 2010). Entre estes métodos destacam-se o ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent

Assay) e o Immunoblot (MONTEIRO, PINTO e DIAS, 2006; GIROTTO *et al.*, 2009; OGUNREMI e BENJAMIN, 2010; THOMAZ-SOCCOL *et al.*, 2010; SILVA, 2013). No entanto, a inspeção ainda continua sendo o melhor método de diagnóstico, apesar de suas limitações (SOUZA *et al.*, 2007a).

3. METODOLOGIA

Os dados foram coletados em um Matadouro-Frigorífico sob regime de Inspeção Federal, localizado na região da Zona da Mata Mineira, mediante aprovação do estabelecimento. Foi realizado um estudo retrospectivo, através de um levantamento epidemiológico de dados na referida instalação.

Foram utilizadas fichas relativas à movimentação anual de abate e de causas de apreensão e destinação de carcaças bovinas como fonte de informação, no período compreendido entre janeiro de 2007 a dezembro de 2013.

Os animais foram abatidos e inspecionados conforme as normas de inspeção *post mortem* previstas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 1971; BRASIL, 1997). Todas as carcaças e vísceras em que foram detectadas alterações ou lesões características de cisticercose durante as linhas de inspeção, foram encaminhadas para o Departamento de Inspeção Final (DIF) para exame anatomopatológico criterioso, realizado pelo médico veterinário Fiscal Agropecuário do SIF, conforme procedimentos regulamentares de julgamento e destinação de carcaças (BRASIL, 1997). Os dados foram anotados em papeleta específica de condenação do DIF e, em seguida transferidos para o sistema online de notificação do MAPA.

As carcaças bovinas com cisticercose, foram identificadas e tabuladas para posteriormente serem realizados os cálculos de prevalência dos casos totais e das diferentes destinações dadas pelo SIF, tratamento pelo frio e condenação, além da evolução dos casos e do prejuízo econômico ao longo dos anos. Os registros de ocorrências foram agrupados por ano.

Todos os dados coletados foram processados em planilhas do Microsoft Excel, e, para analisar a tendência da série histórica da prevalência, foi realizada a análise de regressão linear, no programa SigmaPlot 13.0.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

No período de janeiro de 2007 a dezembro de 2013 foram abatidos 151.036 bovinos no referido Matadouro-Frigorífico. Deste total, 1.721 animais apresentaram parasitismo por *Cysticercus bovis*, de acordo com os achados macroscópicos do SIF, registrando-se uma prevalência geral de 1,14%. Entretanto, a qualidade sanitária das carcaças vem melhorando nos últimos anos conforme variações nos índices de prevalência que passaram de 1,72% em 2007 para 0,15% em 2013 (FIGURA 1).

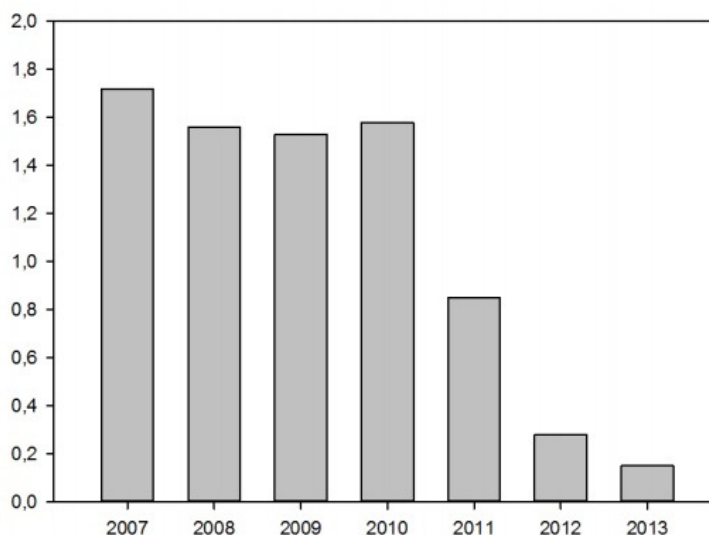


Figura 1. Prevalência da cisticercose bovina (%) diagnosticada em um Matadouro-Frigorífico da região da Zona da Mata Mineira, entre os anos de 2007 e 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal.

Os dados encontrados para a Zona da Mata Mineira foram semelhantes ao índice de prevalência de 1,05% da cisticercose bovina no Brasil, no período de janeiro de 2007 a abril de 2010, descrito por Dutra *et al.* (2012). Entretanto, estes mesmos autores relataram uma prevalência de apenas 0,65% no estado de Minas Gerais, neste mesmo período, valor consideravelmente inferior ao observado neste estudo.

Em discordância com estes resultados, Fukuda (2003) encontrou uma prevalência de 5,02% em Minas Gerais entre os anos de 1999 a 2001. Ainda, Fernandes *et al.* (2002) ao analisarem dados referentes aos anos de 2000 a 2002, encontraram uma prevalência de 2,18% no estado. Já Carvalho *et al.* (2006) ao realizarem levantamento de dados, entre 2000 e 2003, em um Matadouro-Frigorífico sob SIF situado no Triângulo Mineiro, verificaram uma prevalência de 4,60% na região.

Variações na prevalência da cisticercose bovina em uma mesma região como as descritas, podem estar associadas com as diferentes procedências dos animais, o que interfere substancialmente nos resultados encontrados (CARVALHO *et al.*,

2006). Outro ponto a ser considerado deve ser o número de estabelecimentos a ser amostrado nas pesquisas.

Estudos realizados em outros estados brasileiros e em diferentes períodos, apontaram prevalências para a cisticercose bovina acima da obtida por este trabalho. Para o estado do Rio de Janeiro, entre os anos de 1997 a 2003, a prevalência foi de 1,95% em um total de 494.620 bovinos abatidos em 38 diferentes municípios (PEREIRA, SCHWANZ e BARBOSA, 2006). Entre 2007 a 2010, a prevalência caiu para 1,13% (DUTRA *et al.*, 2012).

No Paraná, entre os meses de julho a dezembro de 2000, foram abatidos 26.465 bovinos, sendo encontrada uma prevalência de 3,83% (SOUZA *et al.*, 2007a). No período compreendido entre os anos de 2004 a 2008, a prevalência diminuiu para 2,23% em 5.917.950 bovinos abatidos (GUIMARÃES-PEIXOTO *et al.*, 2012). Já entre os anos de 2007 e 2010, houve um discreto aumento nos casos da doença, resultando em uma prevalência de 2,91% (DUTRA *et al.*, 2012).

Entre os anos de 2007 e 2010, pode-se destacar, ainda, os estados que apresentaram as prevalências mais elevadas no país: Mato Grosso do Sul (1,34%), São Paulo (3,34%), Santa Catarina (3,17%) e Rio Grande do Sul (3,12%) (DUTRA *et al.*, 2012).

Como pode ser notado, as prevalências para a cisticercose bovina variam de acordo com o período e a região estudada. Estas diferenças encontradas podem estar relacionadas à qualidade do serviço de saúde, condições de saneamento, fatores relacionados ao ambiente que propiciam a manutenção do parasita, manejo sanitário do rebanho bovino em cada região, além da representatividade da amostragem (PEREIRA, SCHWANZ e BARBOSA, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2011; DUTRA *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Além da determinação do índice de prevalência de carcaças contaminadas, nesta pesquisa foram avaliadas as destinações das mesmas, de acordo com o julgamento sanitário dado pelo médico veterinário da Inspeção Federal: condenação total e tratamento pelo frio, conforme resultados apresentados na Figura 2.

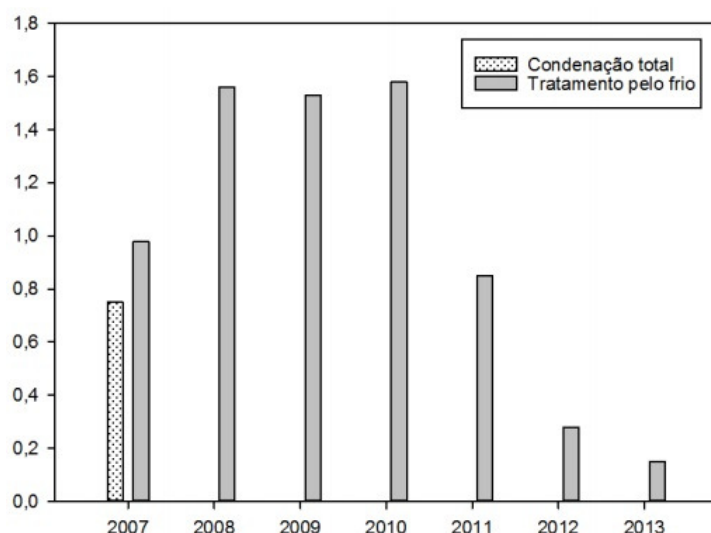


Figura 2. Prevalência da cisticercose bovina (%) diagnosticada em um Matadouro-Frigorífico da região da Zona da Mata Mineira, entre os anos de 2007 e 2013, discriminada pelas destinações de carcaças dadas pelo Serviço de Inspeção Federal.

Em 2007, das 17.832 carcaças, 133 foram condenadas totalmente por apresentarem infestações intensas, o que correspondeu a uma prevalência de 0,75% (FIGURA 2). Oliveira *et al.* (2011) encontraram, em 2000 no estado de Alagoas, 130 condenações totais de carcaças por cisticercose, havendo um decréscimo acentuado para 48 carcaças condenadas em 2001, permanecendo praticamente estável nos anos seguintes.

Ainda, pode ser observado na Figura 2, que, entre os anos de 2008 e 2013, foram observadas apenas infestações discretas na rotina de inspeção *post mortem*, sendo as carcaças, portanto, destinadas ao tratamento pelo frio antes de serem liberadas para o consumo *in natura*.

Em 2007, foram destinadas para este tratamento 174 carcaças (0,98%). Já nos anos de 2008, 2009 e 2010, a prevalência das carcaças destinadas ao tratamento pelo frio manteve-se relativamente estável (1,56%, 1,53% e 1,58%, respectivamente), sendo o maior registro observado em 2010, 1,58%, e o menor em 2013, 0,15% (FIGURA 2).

Estes achados estão de acordo com a epidemiologia da doença, uma vez que animais naturalmente infectados apresentam, na maioria das vezes, infestações discretas, em decorrência da ingestão acidental de ovos dispersos no ambiente (MONTEIRO, PINTO e DIAS, 2006; SILVA, 2013).

Possivelmente, o ano que apresentou casos de condenação por cisticercose, apresentou características higiênico-sanitárias que favoreceram a disseminação e

manutenção do ciclo do complexo teníase-cisticercose (GUIMARÃES-PEIXOTO *et al.*, 2012).

Constata-se na Figura 3, pela análise de regressão dos dados, um decréscimo nos índices de prevalências a partir de 2007 até 2013. Com redução de 0,28% a cada ano, e 85% de confiança.

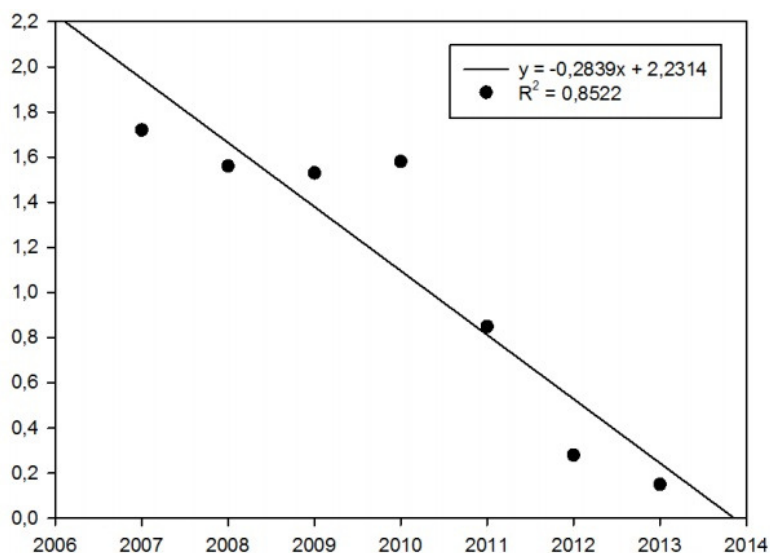


Figura 3. Análise da regressão linear da prevalência da cisticercose bovina (%) diagnosticada em um Matadouro-Frigorífico da região da Zona da Mata Mineira, entre os anos de 2007 a 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal.

Estes resultados estão em concordância com os observados por Guimarães-Peixoto *et al.* (2012). Estes autores observaram redução de 350 casos de bovinos com cisticercose a cada ano no estado do Paraná. Corroborando, ainda, com os resultados obtidos por este estudo, Dutra *et al.* (2012) demonstraram redução de 23% no número de casos de cisticercose bovina no Brasil de 2007 a 2009.

Esta redução observada pode ser atribuída a melhor tecnificação na criação comercial de bovinos de corte, além da implantação de medidas de controle e diagnóstico tanto para a cisticercose bovina, quanto para a teníase humana (DUTRA *et al.*, 2012; GUIMARÃES-PEIXOTO *et al.*, 2012).

Com relação aos dados referentes ao tratamento pelo frio, em função de um aumento inicial no número de casos, a análise de regressão linear não foi tão confiável (53%); no entanto, a tendência é que tenha ocorrido redução de 0,20% deste aproveitamento condicional ao ano (FIGURA 4).

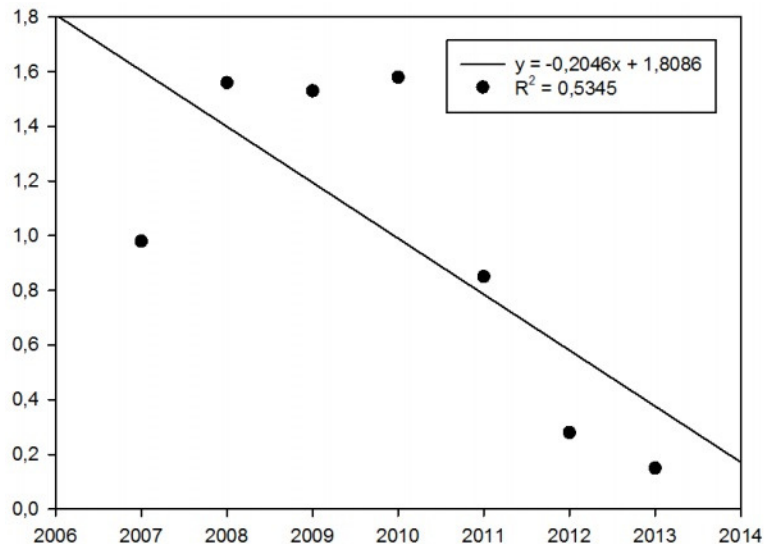


Figura 4. Análise da regressão linear da prevalência de carcaças bovinas com cisticercose destinadas ao tratamento pelo frio (%) em um Matadouro-Frigorífico da região da Zona da Mata Mineira, entre os anos de 2007 a 2013.

Este fato sugere, novamente, melhoria tanto na sanidade animal quanto na saúde humana, já que a cisticercose bovina pode ser considerada um duplo indicador, sendo os bovinos infectados com ovos de *T. saginata* provenientes de fezes humanas (PEREIRA, SCHWANZ e BARBOSA, 2006).

Por fim, com relação aos prejuízos econômicos decorrentes do julgamento das carcaças parasitadas, em 2007 foram condenados 29.925 kg de carne bovina. Admitindo-se o peso da carcaça equivalente a 225 kg (SEAB, 2012) e considerando o preço médio da arroba do boi em Minas Gerais, neste ano, de R\$ 73,00, foram perdidos R\$ 145.635,00 em decorrência da cisticercose bovina. No estado do Paraná, Guimarães-Peixoto *et al.* (2012) observaram um prejuízo de R\$ 119.626.428,00 devido a condenações de carcaças bovinas com cisticercose entre os anos de 2004 a 2008.

O tratamento pelo frio também acarreta em prejuízo para a indústria da carne, no entanto, inferior ao da condenação, uma vez que a carcaça ainda será destinada ao consumo *in natura*. Neste caso, o produto comercializado sofre depreciação de 20% no valor do traseiro com osso e de 15% no valor do dianteiro com osso (QUEIROZ *et al.*, 2000; MIRANDA, 2002).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo retrospectivo permitiu identificar prevalência geral de 1,14% de cisticercose bovina na Zona da Mata Mineira. Constatou-se, durante o período estudado, um decréscimo na prevalência desta parasitose e na intensidade

da infestação das carcaças. Isto resultou em redução dos riscos à saúde pública e dos prejuízos econômicos à indústria da carne e aos produtores.

Apesar da redução de prevalência da cisticercose bovina na região na Zona da Mata Mineira, esta ainda é superior à média identificada para o estado de Minas Gerais. Sendo assim, deve-se ressaltar a importância desta zoonose, para que não passe despercebido pelas autoridades sanitárias locais, necessitando sempre de ações eficazes de caráter preventivo buscando alcançar a erradicação.

Neste ponto, fica claro o papel da inspeção de carnes, que além de ser o principal meio de controle desta doença, retirando carcaças contaminadas do mercado, é também a principal fonte de informação sobre áreas de risco, possibilitando o direcionamento dessas medidas de controle.

6. REFERÊNCIAS

ABIEC, Associação brasileira de indústrias exportadoras de carne. Estatísticas Mercado Mundial. Publicado em 2014. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/mercado-mundial>>. Acesso em: 04. nov. 2014.

ABUSEIR, S. *et al.* Evaluation of a serological method for the detection of *Taenia saginata* cysticercosis using serum and meat juice samples. **Parasitology Research**, v.101, p.131-137, 2007.

ALMEIDA, D.O. *et al.* Cisticercose bovina em matadouro-frigorífico sob inspeção sanitária no município de Teixeira de Freitas-BA: Prevalência da enfermidade e análise anatomopatológica de diagnósticos sugestivos de cisticercose. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.13, n.3, p.178-182, 2006.

ALMEIDA, L. P. *et al.* Cisticercose bovina: Um estudo comparativo entre animais abatidos em frigoríficos com serviço de Inspeção Federal e com Inspeção Municipal. **Revista Higiene Alimentar**, v.16, n.99, p.51-55, 2002.

BEEFPOINT, Exportações de carne bovina brasileira crescem 19% no primeiro trimestre de 2014. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/cadeia-produtiva/giro-do-boi>>. Acesso em: 04. nov.2014.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Inspeção de carnes. Padronização de técnicas, instalações e equipamentos. Tomo I: Bovinos**. Brasília, DIPOA/DICAR, 1971, 183p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Aprovado pelo Decreto no 30.691, de 29-03-52, alterado pelos Decretos nos 1.255 de 25-06-62, 1.236 de 02-09-94, no 1.81 de 08-02-96 e no 2.244 de 04-06-97. Brasília, 1997. 174p.

CARVALHO, L.T. *et al.* Prevalência de cisticercose em bovinos abatidos em matadouro-frigorífico sob inspeção federal em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.13, n.2, p.109-112, 2006.

CORRÊA, G.L.B. *et al.* Prevalência de cisticercose em bovinos abatidos em Santo Antônio das Missões, RS, Brasil. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v.4, n.1, p.43-45, 1997.

DORNY, P. *et al.* Emerging food-borne parasites. **Veterinary Parasitology**, v.163, p.196-206, 2009.

DORNY, P. *et al.* Development of harmonised schemes for the monitoring and reporting of *Cysticercus* in animals and foodstuffs in the European Union. **Scientific report submitted to EFSA**, 2010.

DUTRA, L.H. *et al.* The prevalence and spatial epidemiology of cysticercosis in slaughtered cattle from Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.5, p.1887-1896, 2012.

FERNANDES, J.O.M.; BUZETTI, W.A.S. Prevalência de cisticercose bovina em animais abatidos em frigoríficos sob regime de inspeção federal, da 9ª região administrativa de Araçatuba –SP. **Revista Higiene Alimentar**, v.15, n.87, p.30-37, 2001.

FERNANDES, J. O. M. *et al.* Prevalência da cisticercose bovina em animais abatidos em estabelecimento sob regime de Inspeção Federal no município de Andradina-SP. **Ciência Agrária e Saúde**, v.2, n.1, p.14-17, 2002.

FUKUDA, R.T. **Contribuição ao estudo da epidemiologia da cisticercose bovina na região administrativa de Barretos**. Aspectos ambientais e econômicos. 2003. 127 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2003.

GEMMELL, M. *et al.* Guidelines for surveillance prevention and control of taeniasis/cysticercosis. Geneva: **World Health Organization**, 1983. 207p.

GIROTTI, A. *et al.* Detecção de peptídeos importantes para o diagnóstico da cisticercose bovina no immunoblot. **Ciência Rural**, v.39, n.4, p.1147-1151, 2009.

GUIMARÃES-PEIXOTO, R.P.M.; *et al.* Distribuição e identificação das regiões de risco para a cisticercose bovina no Estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.10, p.975-979, 2012.

KYVSGAARD, N.C. *et al.* Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of *Taenia saginata* cysticercosis in cattle. **Acta Veterinariae**, v.32, n.3, p.233-241, 1991.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Mercado interno, exportação, importação**. Publicado em 2014. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/exportacao>>. Acesso em: 04. nov. 2014.

MINOZZO, J.C. *et al.* Experimental bovine infection with *Taenia saginata* eggs: recovery rates and cysticerci location. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.45, n.4, p.451-455, 2002.

MIRANDA, Z.B. Inspeção de produtos de origem animal. **Revista CFMV**, n.26, p.21-26, 2002.

MONTEIRO, L.L.; PINTO, P.S.A.; DIAS, F.S. Evaluation of the ELISA test for the antibody detection in cattle naturally and experimentally infected with *Cysticercus bovis*. **Veterinary Parasitology**, v.141, p.260-263, 2006.

OGUNREMI, O.; BENJAMIN, J. Development and field evaluation of a new serological test for *Taenia saginata* cysticercosis. **Veterinary Parasitology**, v.169, n.1-2, p.93-101, 2010.

OLIVEIRA, A.W. *et al.* Estudo da prevalência da cisticercose bovina no estado de Alagoas. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.5, n.1, p.41-46, 2011.

OLIVEIRA, J.T.F. *et al.* Prevalência da cisticercose bovina em estabelecimento sob Inspeção Federal no município de Promissão-SP. **Revista Higiene Alimentar**, v.27, n.220-221, p.94-96, 2013.

PEREIRA, M.A.V.C.; SCHWANZ, V.S.; BARBOSA, C.G. Prevalência da cisticercose em carcaças de bovinos abatidos em matadouros-frigoríficos do estado do Rio de Janeiro, submetidos ao controle de Serviço de Inspeção Federal (SIF-RJ), no período de 1997 a 2003. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73, n.1, p.83-87, 2006.

PFUETZENREITER, M.R.; ÁVILA-PIRES, F.D. Epidemiologia da teníase/cisticercose por *Taenia solium* e *Taenia saginata*. **Ciência Rural**, v.30, n.3, p.541-548, 2000.

QUEIROZ, R.P.V. *et al.* A importância do diagnóstico da cisticercose bovina. **Revista Higiene Alimentar**, v.14, n.77, p.12-15, 2000.

REY, L. Tênia e teníases. In: REY, L. **Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 516-529.

SANTOS, I.F. **Um modelo de inspeção para a detecção da cisticercose muscular bovina em matadouros**. 1993. 73 f. Tese (Concurso para professor titular) -Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 1993.

SANTOS, V.C.R. *et al.* Prevalência da cisticercose em bovinos abatidos sob inspeção federal no município de Jequié, Bahia, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.1, p.132-139, 2008.

SEAB. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. **Análise da Conjuntura Agropecuária**. Publicado em 2012. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/corte_2012_13.pdf>. Acesso em: 01 jun. 2015.

SILVA, L.F. **Diagnóstico imunológico da cisticercose bovina utilizando antígenos de *Taenia crassiceps*: avaliação de protocolos laboratoriais**, 2013. 92f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

SOUZA, V.K. *et al.* Prevalência da cisticercose bovina no estado do Paraná, sul do Brasil: avaliação de 26.465 bovinos inspecionados no SIF 1710. **Semina: Ciências Agrárias**, v.28, n.4, p.675-684, 2007a.

SOUZA, V.K. *et al.* Regiões anatômicas de maior ocorrência de *Cysticercus bovis* em bovinos submetidos à Inspeção Federal em matadouro-frigorífico no município de São José dos Pinhais, Paraná, de julho a dezembro de 2000. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.16, n.2, p.92-96, 2007b.

THOMAZ-SOCCOL, V. *et al.* Pesquisa de anticorpos contra *Cysticercus bovis*, por teste ELISA em bovinos de abatedouro. **Archives of Veterinary Science**, v.15, n.2, p.77-85, 2010.

UNGAR, M.L., GERMANO, P.M.L. Etiopatologia da cisticercose bovina. **Comunicação Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v.15, n.1, p.43- 49, 1991.

UNGAR, M.L., GERMANO, P.M.L. Prevalência da cisticercose bovina no Estado de São Paulo (Brasil). **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.26, n.3, p.167-72, 1992.

PREVALÊNCIA DE AFECÇÕES PODAIS EM BOVINOS LEITEIROS NO MUNICÍPIO DE MATIPÓ E REGIÃO

Acadêmicos: Cleverson Carlos Peron e Washington Tavares Peron

Orientador: Paulo César Amorim e Amorim

RESUMO

As afecções de casco constituem-se em um dos principais problemas em bovinos, gerando expressivas perdas econômicas à atividade leiteira. Com o objetivo de determinar a prevalência e os tipos de afecções predominantes em rebanhos leiteiros do município de Matipó e região, foram avaliadas 191 vacas em 6 propriedades rurais. Os animais eram criados em sistema semi-confinado e permaneciam em currais de alvenaria e madeira em uma parte do dia e depois eram encaminhados a pastagens extensivas. As propriedades avaliadas não realizavam nenhuma medida de controle e profilaxia de enfermidades podais. Foram identificadas 27 lesões, resultando em uma prevalência de 14,1%. A enfermidade mais encontrada foi hiperplasia interdigital (62,96%) seguido pela dermatite digital (22,2%) e úlcera de sola (14,8%). Constatou-se que características ambientais como o relevo acidentado, pastagens extensivas e o acúmulo de lama e matéria orgânica no ambiente de permanência podem estar associados à maior prevalência de algumas afecções, como a hiperplasia interdigital e dermatite digital.

PALAVRAS-CHAVE: Afecções de casco, vacas leiteiras, prevenção.

1. INTRODUÇÃO

As afecções de casco constituem-se em um dos principais problemas em vacas leiteiras gerando expressivas perdas econômicas à atividade em função dos prejuízos diretos (tratamentos dos animais acometidos) e indiretos (redução na produção de leite, na eficiência reprodutiva e aumento na taxa de descarte) ocasionados (NICOLETTI, 2003).

A intensificação da atividade através da utilização dos confinamentos em free-stall e do uso intensivo de pastagens possibilitou um aumento significativo na eficiência produtiva dos animais. Entretanto, paralelamente houve um aumento no desafio e na incidência de uma série de afecções. O excesso de umidade e abrasividade dos pisos de concreto, associado à presença constante de matéria orgânica e ingestão de grandes quantidades de concentrado são condições inerentes desses sistemas, que predispõem a ocorrência de afecções podais. Além disso, fatores ligados aos animais, como os aprumos e a conformação dos cascos, quando inadequados, também contribuem para o aparecimento desses problemas (ISSLER, 2012).

Embora a maior prevalência de afecções de casco seja associada a sistemas intensivos de criação, alguns estudos mostram incidência elevada em rebanhos mantidos em condições mais extensivas com prolongado acesso a pastagens (SILVEIRA, 2008).

Dentre as afecções de casco, destacam-se a dermatite digital e dermatite interdigital, úlcera circunscrita, hiperplasia interdigital, doença da linha branca e as lesões mistas. A prevalência de cada afecção nos rebanhos é muito variável e vai depender do sistema de criação adotado (SILVA, 2009) e dos fatores predisponentes em cada local.

A abordagem de rebanhos que apresentam problemas de casco envolve a identificação dos animais claudicantes, o tipo de afecção mais frequente e a provável etiologia. Os tratamentos variam em função da afecção presente e podem incluir casqueamento, antibioticoterapia e manejo nutricional (ISSLER, 2012).

A prevenção é o grande foco atualmente e o maior desafio no controle das doenças do casco em função da etiologia multifatorial. Os pontos cruciais na prevenção envolvem a melhoria das condições de conforto e higiene no ambiente de permanência dos animais, utilização de dietas balanceadas com teores adequados de fibra efetiva, monitoramento do escore de claudicação e casqueamento corretivo periódico das vacas (ISSLER, 2012).

Este trabalho tem como objetivo realizar um levantamento sobre a prevalência de afecções podais em propriedades leiteiras no município de Matipó (MG) e região, bem como os prováveis fatores predisponentes associados, e os impactos na eficiência produtiva dos rebanhos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 HISTOLOGIA E ANATOMIA DA EXTREMIDADE DOS MEMBROS DOS BOVINOS

O conhecimento da anatomia dos cascos é essencial para o entendimento das afecções podais. O termo casco compreende a cápsula ou estojo córneo (epiderme) e demais componentes. Isso inclui a falange distal, parte da falange média, o sesamóide distal, a bolsa podotrocLEAR ou navicular, os ligamentos e a parte terminal dos tendões extensores e flexores. O estojo córneo é constituído de tecido epidérmico queratinizado que por sua vez é dividido em partes de acordo com a constituição, localização e função (muralha, talão, sola, bulbo do talão, pinça). A

falange distal se encontra ligada ao estojo córneo pelo aparelho suspensório que alivia o peso da mesma sobre a sola (KONIG, 2011).

Os dígitos dos bovinos correspondem às extremidades dos membros, estendendo-se do carpo ou tarso até as falanges distais dos dedos (II e IV) que são separados em dígitos mediais e laterais. Nos membros pélvicos os dígitos laterais são maiores por suportarem mais peso e nos torácicos ocorre o inverso. Os cascos dos bovinos são subdivididos em dorsal, axial e abaxial. A parte inferior de apoio é denominada sola e é separada da muralha pela linha branca e, a parte mais caudal constitui-se no talão (KONIG, 2011).

A epiderme é dividida em estrato basal, estrato germinativo e estrato córneo. Este último ainda se subdivide em: em estrato externo, estrato médio e estrato interno ou lamelar. A epiderme é avascular e depende do suprimento sanguíneo da derme (córion) para obtenção de oxigênio e nutrientes. Esta difusão sanguínea pode ser comprometida conduzindo à produção de um mau tecido córneo. A camada germinativa da epiderme e o córion têm uma íntima relação, por consequência, qualquer lesão numa destas estruturas conduz a prejuízos na outra. A estabilidade estrutural do tecido córneo é resultante dos complexos formados entre a queratina e os aminoácidos metionina, histidina, lisina e arginina, bem como água, macro e micro-elementos (cálcio, fósforo, cobre, zinco, enxofre cobalto, molibdênio) e uma pequena quantidade de gordura. Externamente, verificam-se na epiderme ou tecido córneo, estruturas que adquirem um nome próprio como; margem coronária, parede, sola, talão e zona alba (FERREIRA, 2005).

O tecido subcutâneo é abundante no bulbo, apresentando como uma camada densa de tecido fibroelástico. O bulbo tem uma importante função de amortecimento dos impactos e, quando é pressionado durante a distribuição de peso, expande-se axial e abaxialmente, transferindo as forças para a parede do casco. Quando ocorrem alterações na estrutura do talão, por exemplo, na laminite crônica, a absorção do impacto pelo bulbo fica claramente comprometida (NICOLETTI, 2004).

2.2 FATORES PREDISPOANTES E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DAS PRINCIPAIS AFECÇÕES PODAIS

As afecções podais representam um grande desafio para bovinocultura de leite moderna. A permanência constante em pisos de concreto com umidade e matéria orgânica são condições inerentes dos sistemas de criação intensivos. Além disso, destaca-se que esses animais apresentam peso corporal elevado e em

algumas situações ingerem grandes quantidades de concentrado. Todos esses fatores vão predispor, em maior ou menor proporção, à ocorrência de problemas de casco. Os prejuízos decorrentes destas afecções são consideráveis. Além das perdas diretas com menor produção de leite e gastos com o tratamento dos animais afetados, há redução no consumo de alimentos, na eficiência reprodutiva e aumento na taxa de descarte (FERREIRA, 2005).

As afecções de casco possuem origem multifatorial e inclui o ambiente de permanência dos animais, nutrição e a sanidade. Dentre os fatores relacionados ao ambiente destacam-se os pisos (abrasivos, úmidos), vias de acesso a pastagens (longas, traumatizantes) e camas (material utilizado, disponibilidade, conforto). Os bovinos possuem reduzida capacidade de absorção de impactos, principalmente considerando-se a pequena área de apoio no solo, a baixa capacidade de amortecimento, especialmente dos membros pélvicos e o peso excessivo de muitos desses animais. A hiperplasia do espaço interdigital e a doença da linha branca são exemplos de afecções que podem estar associados aos fatores descritos acima (DIAS, 2001).

A nutrição também assume importante papel na ocorrência de afecções podais em animais que ingerem dietas ricas em concentrados com baixos teores de fibra efetiva. Essas dietas predispoem à ocorrência de acidose ruminal subclínica, que induz a liberação de mediadores inflamatórios, alterando a vascularização das lâminas dérmicas do casco. Há redução na deposição de queratina e perda da rigidez do casco, predispondo à ocorrência de hemorragias e úlceras de sola. Em casos extremos, a acidose ruminal pode levar à laminite (processo inflamatório e degenerativo das lâminas dérmicas) (FERREIRA, 2005).

Em relação à sanidade, os fatores predisponentes relacionam-se a presença excessiva de umidade, lama, fezes e urina no local de permanência dos animais. Esses fatores podem predispor a doenças infecciosas envolvendo o casco e o espaço interdigital como, por exemplo, a dermatite digital e dermatite interdigital (SILVA, 2006).

As principais perdas econômicas decorrente das afecções dos cascos são atribuídas à redução na produtividade de leite e de carne, levando ao descarte prematuro dos animais acometidos. Conseqüentemente apresentam impacto econômico negativo sobre a rentabilidade da pecuária. O problema ocorre com alta prevalência no Brasil, levando à redução na eficiência produtiva e gastos com tratamentos de animais afetados (DIAS, 2001).

As perdas econômicas são bastante significativas e podem comprometer até 20% da produção leiteira e 25% da produção de carne (FERREIRA, 2004).

2.3 ABORDAGEM DOS ANIMAIS COM AFECÇÕES DE CASCO

A abordagem de um rebanho com doenças podais envolve uma anamnese detalhada do manejo, alimentação e ambiente de permanência, observando-se especialmente o conforto das camas, das áreas de circulação, tipo de piso, e as condições sanitárias do local (NICOLETTI, 2004).

A avaliação do escore de locomoção é uma ferramenta auxiliar importante no monitoramento das afecções de casco, pois permite observar de forma simples os animais claudicantes e o grau de comprometimento do rebanho (OLIVEIRA, 2007). O escore de locomoção é classificado de 1 a 5, sendo 2 considerado claudicação leve e 5 claudicação intensa conforme descrito na tabela 1.

Tabela 1- Escore de locomoção

Grau de locomoção	Caracterização dos sinais clínicos
1	Linha dorsal plana em estação e durante a locomoção. Sem alterações no apoio dos membros.
2	Linha dorsal plana em estação e arqueada em locomoção. Sem alterações no apoio dos membros.
3	Linha dorsal arqueada em estação e durante a locomoção. Discreta alteração no apoio dos membros.
4	Linha dorsal arqueada em estação e durante a locomoção. Claudicação evidente com redução no apoio do membro afetado.
5	Linha dorsal arqueada em estação e durante a locomoção. Grande relutância em apoiar o membro afetado.

2.4 CARACTERIZAÇÃO E TRATAMENTO DAS PRINCIPAIS AFECÇÕES

2.4.1 DERMATITE DIGITAL

É uma doença de caráter infeccioso, cujas lesões afetam a pele da região interdigital palmar/plantar ou dorsal dos cascos, próximo à margem coronária na comissura entre os bulbos dos talões, atingindo a camada epidérmica e menos frequentemente a derme. É uma das mais frequentes causas de claudicações em bovinos leiteiros, provoca dor intensa, principalmente na forma aguda, levando à diminuição da produção leiteira e perda de condição corporal, atrasos reprodutivos e descarte prematuro dos animais afetados (FERREIRA, 2007). A dermatite digital

está muito relacionada a criações intensivas em ambientes com umidade excessiva, acúmulo de fezes e lama. É altamente contagiosa e tem como principal etiologia bactérias do gênero *Treponema* (MAUCHLE, 2008).

O tratamento é realizado com antibioticoterapia parenteral à base de oxitetraciclina, ceftiofur ou tulatromicina. Quando há um grande número de animais acometidos recomenda-se a utilização de pedilúvios com oxitetraciclina (MARTINS, 2002).

2.4.2 DERMATITE INTERDIGITAL

A dermatite interdigital também é uma doença infecciosa e tem como principais agentes etiológicos as bactérias *Dichelobacter nodosus* e *Fusobacterium necroporum*. As lesões afetam a pele do espaço interdigital, tanto na face dorsal quanto palmar. É uma doença que pode acometer um grande número de animais quando as condições sanitárias do ambiente são precárias. Inicialmente aparece como uma dermatite exsudativa e pode evoluir para erosão do talão (SOUZA, 2005).

O tratamento consiste em antibioticoterapia e casqueamento dos animais acometidos (SOUZA, 2005).

2.4.3 ÚLCERA DA SOLA

A úlcera circunscrita é caracterizada por uma lesão na sola que ocorre principalmente na região dos talões dos membros pélvicos. Causa intensa claudicação e está associada a criações intensivas com ingestão de grande quantidade de concentrado e baixos níveis de fibra efetiva na dieta (RISCO, 2011).

Em animais com acidose ruminal há um comprometimento vascular das lâminas dérmicas, afetando a deposição de tecido córneo e originando um casco mais friável, macio e susceptível ao desgaste e formação de úlceras. O tratamento envolve a utilização de tamancos de madeira no dígito saudável para reduzir o contato do dígito acometido com o solo e diminuir a dor provocada pela lesão (FERREIRA, 2007).

2.4.4 HIPERPLASIA INTERDIGITAL

A hiperplasia interdigital é caracterizada por uma hiperplasia na região interdigital, formando um nódulo volumoso entre os dígitos conhecidos como “gabarro”. Esse nódulo pode se estender por todo o espaço interdigital e afetar

principalmente os membros pélvicos (FERREIRA, 2004). Os animais vão apresentar claudicação variável, dependendo da gravidade da lesão.

Em quadros avançados o tratamento é cirúrgico e envolve a remoção da hiperplasia e bandagem (MARTINS, 2002).

2.4.5 DOENÇA DA LINHA BRANCA

O termo doença da linha branca é usado para descrever uma variedade de alterações que podem acometer essa região como: abscessos, fissuras e hemorragias. O abscesso de linha branca geralmente resulta da penetração de corpos estranhos em seu estrato córneo sadio ou enfraquecido por outra lesão. Pode ocorrer a invasão microbiana e o desenvolvimento do quadro infeccioso. A claudicação é o sinal clínico mais evidente e pode ser intensa no membro acometido (FERREIRA, 2007).

O tratamento envolve o casqueamento e drenagem do abscesso para aliviar a pressão e reduzir a dor. O tamanco pode ser utilizado no dígito sadio associado à bandagem no casco afetado, para evitar contaminação com matéria orgânica (SOUZA, 2005).

3. METODOLOGIA

Realizou-se um levantamento sobre a ocorrência de afecções de casco em seis propriedades rurais produtoras de leite no município de Matipó (MG) e região. Foram avaliadas 191 vacas de aptidão leiteira, lactantes ou não, da raça Girolando e mestiças, no período de março a maio de 2015.

Em todas as propriedades as vacas em lactação eram exploradas em regime semi-confinado e recebiam concentrado à base de farelo de soja, milho e núcleo mineral, associado ou não ao volumoso à base de cana de açúcar, capim elefante ou silagem de milho, após a primeira ordenha. Em seguida, as vacas eram direcionadas a pastagens extensivas, onde permaneciam até o início da segunda ordenha.

Inicialmente as vacas foram avaliadas em movimento, a fim de se identificar alterações na locomoção. Os animais claudicantes eram classificados em uma escala de 1 a 5, sendo 1 definido como claudicação leve e 5 claudicação intensa, conforme proposto por Wells et al. (1993). Os animais que apresentaram claudicação foram contidos para exame minucioso do casco afetado, o que incluiu

avaliação da sola e espaço interdigital, a fim de se determinar o tipo de afecção presente.

Para desenvolvimento do trabalho, também foi elaborado um questionário com perguntas sobre o sistema de produção de cada propriedade (produção de leite, alimentação, sistema de criação, indicadores zootécnicos etc.) avaliada. A partir desses dados será realizada uma correlação entre as afecções encontradas com possíveis fatores predisponentes em cada local e o impacto das afecções podais na eficiência produtiva do rebanho.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram avaliadas 191 vacas de leite em seis propriedades rurais das quais 27 apresentaram afecções de casco (prevalência de 14,1%). Índices superiores a 10% são considerados preocupantes, no entanto, vários estudos realizados no Brasil encontraram resultados semelhantes ou superiores (FERREIRA, 2007) em rebanhos criados em diferentes sistemas de manejo. O escore de locomoção variou de 2 a 4 nos animais claudicantes e, após o exame clínico, foi diagnosticada a presença de afecções de casco em todos, conforme descrito na tabela 2. Da análise da referida tabela observa-se um predomínio de hiperplasia digital (62,96%), seguida pela dermatite digital (22,2%) e ulcera de sola (14,8%). Das 27 vacas acometidas, 20 estavam em lactação e 7 eram vacas secas. Não houve diferença significativa na incidência entre as vacas lactantes e não lactantes.

Tabela 2 - Caracterização de 27 afecções de casco, diagnosticadas em 191 vacas pertencentes a 6 rebanhos leiteiros explorados em regime semi-confinado, no município de Matipó e região.

Propriedades	VL	VS	CC	HD(%)	US(%)	DD(%)	VLA(%)	VSA(%)
A	32	16	3-5 kg	14,8%	7,4%	14,8%	35%	42,8%
B	18	4	4 kg	11,1%	0%	0%	15%	0%
C	16	2	2-4 kg	7,4%	3,7%	0%	10%	14,2%
D	24	7	4-6 kg	11,1%	0%	0%	10%	14,2%
E	19	8	3-5 kg	11,1%	0%	3,7%	15%	14,2%
F	36	9	3-7 kg	7,4%	3,7%	3,7%	15%	14,2%
TOTAL	145	46	-	62,96%	14,8%	22,2%	100%	100%

VL – Vacas em Lactação; VS – Vacas secas; CC – Consumo de concentrado; HD – Hiperplasia Digital; US – Úlcera de Sola; DD – Dermatite Digital; VLA - Vacas em lactação acometidas; VSA - Vacas secas acometidas.

A hiperplasia digital foi a afecção de casco mais prevalente (62,9%) neste estudo e todas as fazendas avaliadas apresentaram pelo menos um caso clínico. A elevada incidência pode estar associada ao sistema de criação adotado nas propriedades, onde os animais permanecem boa parte do tempo em áreas de pastejo extensivo que favorecem a ocorrência de lesões no espaço interdigital. Sabe-se que a ocorrência de traumatismos crônicos neste local é considerada o principal fator predisponente da hiperplasia digital (MOLINA, 2014).

A dermatite digital foi a afecção encontrada em 22,2% dos casos clínicos no presente relato. Os dados sobre a prevalência desta afecção no Brasil mostram uma grande variabilidade em diversas regiões avaliadas, mas sabe-se que a incidência tende a ser maior em rebanhos confinados (SILVA, 2004).

A aglomeração de animais associada à umidade excessiva, acúmulo de matéria orgânica e fezes no ambiente de permanência, são fatores predisponentes importantes na epidemiologia desta afecção (SILVA, 2004). Apesar das propriedades avaliadas no estudo serem exploradas em regime semi-confinado, algumas apresentavam condições sanitárias inadequadas em relação ao ambiente de permanência que poderiam justificar a ocorrência da dermatite digital.

A úlcera de sola foi a afecção encontrada em 14,8% dos animais avaliados. A acidose ruminal associada ao contato constante com pisos abrasivos e umidade elevada são considerados fatores determinantes para ocorrência desta afecção de casco (NICOLETTI, 2004). Estudos mostram uma elevada incidência em rebanhos confinados de alta produção, em função da ingestão excessiva de concentrado e de características inerentes ao ambiente de permanência dos animais (umidade,

elevada abrasividade dos pisos, etc) (NICOLETTI, 2004). Considerando o consumo de concentrado nas propriedades avaliadas (3 a 7 kg por animal/dia) e o sistema de criação adotado, não há uma justificativa plausível para ocorrência da úlcera de sola nos rebanhos em questão. Provavelmente, há outros fatores ligados à ocorrência desta doença que não foram identificados neste estudo.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, conclui-se que as afecções de casco representam um grande desafio para as propriedades do município de Matipó e região, em função da alta prevalência encontrada.

A elevada incidência de hiperplasia interdigital parece estar associada ao sistema de criação adotado e as características do ambiente de permanência, que favorecem a ocorrência de lesões crônicas no espaço interdigital.

É digno de nota a identificação de vários casos de dermatite digital. Apesar de ser uma afecção mais comumente encontrada em grandes rebanhos mantidos em sistemas intensivos de criação, sugere-se que a ausência de cuidados sanitários e acúmulo de lama e matéria orgânica em algumas propriedades estejam relacionados à ocorrência desta enfermidade.

Não há uma justificativa plausível para a ocorrência de casos de úlcera de sola nos rebanhos avaliados. Os níveis de concentrado ingeridos pelos animais não são condizentes com quadros de acidose ruminal e provavelmente há outros fatores associados que não foram avaliados neste estudo.

REFERÊNCIAS

DIAS, R.O.S. MARQUES JR., A.P. **Casco em bovinos**. São Paulo: Lemos Editorial, 2001.

DIAS, R.S; MARQUES Jr., A.P. Atlas – **Casco em Bovinos**. 2 ed. São Paulo: Lemos Editorial, 2003.

FERREIRA, R.G. **Afecções de Sistema Locomotor dos Bovinos**. In: II Simpósio Mineiro de Buiatria, Brasil, 2005.

FERREIRA, M.G. Custo e resultados do tratamento de sequelas de laminite bovina: relato de casos em vacas em lactação no sistema free-stall. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2004.

FERREIRA, P. M. Custo e resultados do tratamento das sequelas de laminite bovina: Relato de 112 casos em vacas em lactação no sistema de free-stall. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, 2007.

ISSLER, R. Problemas de casco na pecuária de leite: Prevenção e o melhor remédio, **MilkiPoint**, Piracicaba, mar. 2012. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br>. Acesso em: 05/Setembro/2014.

MARTINS, C.F. Prevalência e Classificação das afecções podais em vacas lactantes na bacia leiteira de campo Grande (Capital) e municípios arredores - MS. **Ensaio e Ciência**, Campo Grande, v.6, n.2, 2002.

MAUCHLE, U; CARVALHO, A.V; ALZAMORA FILHO, F et al. Efeito da sazonalidade sobre ocorrência de lesões podais em vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Saúde e Produção de Animais**, v9, 2008.

MOLINA, L.R. **Prevalência e classificação das afecções podais**. UFMG. Belo Horizonte. 1998. P.1-7. Disponível em: abmvz.artigo@abmvz.org.br Acesso em: 05/Setembro/2014

NICOLETTI, J.L.M. **Manual de podologia bovina**. Brasil: Editora Manole, 2003.

NICOLETTI, J.L.M. **Manual de Podologia Bovina**. Editor: J.L.M. Nicoletti. Editora Manole, Brasil, 2004.

OLIVEIRA, M.A; VEIGA, S.R. Como utilizar o escore de locomoção para monitorar a saúde dos cascos do rebanho. **Artigo técnico**, Belo Horizonte, 2007. Disponível em: <http://rehagro.com.br/plus/modulos/noticiais>. Acesso em: 06/Setembro/ 2014

SILVA, L.A.F. Enfermidades digitais em bovinos confinados: uso parenteral do cobre na prevenção. **Veterinária Notícias**. v.12. 2006.

SILVA, M.A.F. **Podologia em bovinos: Conceitos basilares**. Vila Real: UTAD, 64p, 2009.

SILVEIRA, J.A.S.ALBERNAZ, T.T.; OLIVEIRA, C.M.C. et al. Afecções podais em vacas da bacia leiteira de Rondon do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, 2009.

SOUZA, R. C. Enfermidades podais em vacas leiteiras: Eficiência e custos de tratamentos, efeitos na produção e reprodução, histopatologia e aspectos econômicos. 2005 - Tese (doutorado em ciência animal) – Escola de veterinário, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.

KONIG, H. E.; LIEBICH, H. G. **Anatomia dos animais domésticos**. Porto alegre, 2011.

PROTOSCOLOS DE SEDAÇÃO PARA ODONTOLOGIA EM EQUINOS

Acadêmica: Gabriela Moreira Pinto

Orientadora: Vanessa Guedes Pereira

RESUMO

Objetivou-se com este estudo, avaliar diferentes protocolos sedativos, durante procedimentos odontológicos em equinos em estação. Foram utilizados 32 equinos hípidos, da raça Campolina, previamente submetidos a 12 horas de jejum alimentar, sedados por via intravenosa com os seguintes protocolos: xilazina 2% na dose de 1 mg/kg (G1), xilazina 2% na dose de 0,5mg/kg associado a 0,05 mg/kg de acepromazina 1% (G2), detomidina 1% na dose de 0,04 mg/kg (G3), detomidina 1% na dose de 0,02 mg/kg associada à 0,05 mg/kg de acepromazina 1% (G4). Avaliaram-se a sedação através da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), altura da cabeça, ataxia, reação à presença do abre-boca, tônus da língua, inspeção da cavidade oral com espelho, resposta ao estímulo sonoro da grossa elétrica e ao estímulo de desgaste dentário com a grossa elétrica, reação ao estímulo de deglutição. Os protocolos G1 e G2 apresentaram aumento da FC. G1, G2 e G3 apresentaram diminuição significativa da FR. A xilazina apresentou maior reação a inspeção com espelho e a detomidina não teve reação ao estímulo de deglutição. A detomidina isolada, mostrou-se mais eficaz não necessitando de repetição da dose por 30 minutos, com adequado miorelaxamento, analgesia, sem alteração significativa da FC e FR.

PALAVRAS-CHAVE: sedação, agonistas alfa2- adrenérgicos, fenotiazínicos, equinos.

1.INTRODUÇÃO

A sedação em equinos em estação é um método seguro e eficaz, pois preserva as condições dos mecanismos fisiológicos compensatórios cardiovasculares dos equinos, que geralmente são deprimidos quando submetidos à anestesia geral (VIGANI & GARCIA- PEREIRA, 2014).

Para realizar a maioria dos procedimentos odontológicos em equinos, é imprescindível a sedação do animal, visto que a manipulação da cavidade oral pode ser desagradável, predispondo o animal a reações comportamentais indesejáveis, que podem comprometer o tratamento, além de ser um fator estressante para o animal (DIXON *et al.* 2005). Entretanto, muitas vezes os protocolos de sedação são onerosos, o que pode inviabilizar o procedimento em animais de baixo valor zootécnico (ROSCOE, 2007).

Os protocolos de sedação para procedimentos odontológicos em equinos frequentemente utilizam fármacos com efeito tranquilizante, sedativo, hipnótico e narcótico (HALL; CLARCK *et al.*, 1991), sendo que a combinação de dois ou três

fármacos para equinos em estação são preferencialmente utilizados devido ao alto potencial sedativo, além de induzir a analgesia e miorelaxamento de ação central (NANNARONE *et al.* 2007). Além disso, o uso coadjuvante de fármacos com princípios de ação diferentes permite reduzir as doses das drogas individualmente, diminuindo assim os seus efeitos adversos (DUTTON; LASHNITS; WEGNER, 2009).

Na ausência de sedação adequada, as abordagens dos equinos para tratamentos odontológicos invariavelmente resultam em respostas aversivas por parte dos animais, que podem culminar em acidentes, dificultando todo o procedimento. Tais dificuldades podem ser superadas através da competência profissional e, além disso, as disponibilidades de uma sedação adequada e segura, que garanta a isenção de riscos maiores para o animal e o médico veterinário, justificam assim, a relevância do presente estudo (ROSCOE, 2007).

Portanto, o objetivou-se com este trabalho foi avaliar quatro protocolos de sedação para equinos em estação, visando a obtenção de um protocolo seguro e eficaz para a realização de procedimentos odontológicos nesta espécie.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A sedação é um estado decorrente do uso de fármacos de ação central. Tais fármacos são divididos em classes de acordo com a suas atividades (tranquilizantes, sedativos, hipnóticos e narcóticos). A sedação é eficaz para viabilizar certos procedimentos odontológicos em equinos em posição de estação quadrupedal, quando a duração, a localização e a extensão desses procedimentos não demandam de anestesia geral. Além disso, o emprego apenas da sedação reduz os riscos maiores relacionados ao decúbito e a hipotensão, decorrentes da anestesia geral. A anestesia geral é referida como uma das principais causas de morbidade e mortalidade de equinos submetidos a cirurgia (HALL e CLARK, 1991).

2.1 Fenotiazínicos

A maioria dos fenotiazínicos promovem o bloqueio pós-sináptico, tornando-o incapaz de responder à dopamina, seu neurotransmissor endógeno. Atuam também nos receptores dopaminérgicos pré-sináptico responsáveis pela produção e liberação do neurotransmissor (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2011). Estes fármacos atuam nos núcleos do tálamo, hipotálamo, vias sensoriais aferentes, sistema límbico, sistema motor e no sistema nervoso autônomo (HATTA *et al.*, 2000).

Seu mecanismo de ação está especialmente relacionado com atividade antagonista no receptor dopaminérgico D2, com efeitos adicionais relacionados com o bloqueio de receptores alfa-1 adrenérgicos e receptores colinérgicos muscarínicos (PAWSON, 2010).

2.1.1 Acepromazina

A acepromazina é o derivado da fenotiazina mais potente, sendo um dos tranquilizantes mais utilizados na medicina veterinária (LEMKE, 2014) e indicada para procedimentos de curta duração (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2011). Em equinos, a aplicação intravenosa tem efeitos máximos aos 30 minutos, com duração de 1 a 2 horas (LEMKE, 2014).

Este fármaco é utilizado para inibir o comportamento de fuga e diminuir a atividade motora espontânea em equinos (LEMKE, 2014).

A acepromazina produz relaxamento muscular discreto e pode ser administrada isolada, como tranquilizante, em procedimentos não dolorosos ou em associação em procedimentos cirúrgicos pouco dolorosos (LEMKE, 2014), já que este fármaco sem associação, não fornece analgesia (LOVE *et al.*, 2012).

Dentre os efeitos secundários do uso da acepromazina em equinos, estão a exposição do pênis e alterações relevantes sobre o sistema cardiovascular, como redução do volume sistólico, débito cardíaco e hipotensão, que é a principal limitação para o seu uso (MIKSA; CUMMINGS; POPPENG, 2005). O grau e duração do prolapso peniano são dependentes da dose administrada (LEMKE, 2014).

O aumento da dose, não resulta no aumento da intensidade da sedação, somente na duração da ação do fármaco. No entanto, quando se deseja uma sedação mais profunda, este deve sempre ser utilizado em combinação com outras drogas, como agonistas alfa-2 adrenérgicos (MARROUN *et al.*, 1994).

2.2 Agonistas alfa-2 adrenérgicos

Xilazina, detomidina, medetomidina e romifidina são agonistas de receptores alfa-2 adrenérgicos de localização pré-sináptica. Esses receptores quando estimulados, hiperpolarizam os neurônios ao diminuir o influxo de íons cálcio pela membrana neuronal, inibindo a produção e liberação de noradrenalina e dopamina. Dessa forma, ocasionam efeitos importantes sobre o sistema nervoso central (SNC) como sedação, hipnose, relaxamento muscular, ataxia, analgesia, depressão do

centro vasomotor e aumento tanto do tônus vagal como da atividade de barorreceptores (MUIR, 1991). Então, é de extrema importância conhecer as propriedades individuais de cada um dos agonistas alfa-2 adrenérgicos, para selecionar o fármaco ideal para cada condição clínica, com base na duração da analgesia e alterações comportamentais (DAUNT; STEFFEY, 2002).

O início dos efeitos dos alfa-2 adrenérgicos após a administração intravenosa (IV) é quase imediato, resultante de seu elevado caráter lipofílico, produzindo rápida ação no cérebro. Basicamente, a duração do efeito após administração intravenosa é de aproximadamente 45 minutos (MUIR, 1991).

A classe dos agonistas alfa-2 adrenérgicos é utilizada com o objetivo de conter os animais, promovendo sedação e analgesia (THURMON; TRANQUILLI; BENSON, 1996), além de serem usados como agentes pré-anestésicos. Podem ser administrados isoladamente ou associados a outros fármacos pré-anestésicos, a fim de reduzir seus efeitos colaterais e, ainda, promover neuroleptoanalgesia (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2011).

2.2.1 Xilazina

A xilazina é o agente sedativo mais utilizado, possuindo efeito analgésico em cavalos (HSU, 1981). Sua ação é mediada pela atividade nos receptores alfa-2, mas também possui afinidade por receptores alfa-1 (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2011)

Este fármaco proporciona um grau de relaxamento muscular a partir da inibição das sinapses nervosas no sistema nervoso central (GARCIA-VILLAR *et al.* 1981).

Quando administrada por via intravenosa, na dose de 1,1mg/Kg, a xilazina causa diminuição do ritmo e débito cardíacos, da frequência respiratória (FR) e hipertensão venosa central. Há um aumento da pressão arterial bifásica, após uma diminuição transitória. Devido a hipertensão inicial, há um reflexo de resposta vagal produzindo bradicardia (LEMKE, 2014).

A xilazina promove a diminuição da motilidade intestinal, prolongando o tempo de transito gastrintestinal (LEMKE, 2014). Em equinos, causa vasoconstrição na vasculatura cecal, diminuindo sua motilidade normal por até 120 minutos, na dose de 1,1mg/kg/IV, e por 30 minutos, em doses baixas (0,275mg/ kg/IV) (VALVERDE, 2010).

Ainda que muito utilizada, a xilazina tem um curto período de ação, de aproximadamente 20 a 30 minutos, o que dificulta o seu uso quando é necessária analgesia prolongada (CRUZ *et al.*, 2011).

Além disso, a ocorrência de hipoinsulinemia transitória e hiperglicemia são descritas em várias espécies após o uso deste fármaco. A hiperglicemia é decorrente da inibição da liberação de insulina pelas células pancreáticas beta mediadas pela ação nos receptores alfa2 adrenérgicos (LEMKE, 2014).

2.2.2 Detomidina

A detomidina é um agente utilizado especialmente para a sedação em equinos, possuindo potência maior que a xilazina. Produz efeito sedativo, analgésico e relaxante muscular, semelhante ao da xilazina; entretanto, mais duradouro (LEMKE, 2014).

A dose para equinos por via intravenosa varia de 10 a 40 mcg/kg, promovendo efeito por 40 a 80 minutos (SPINOSA; GÓRNIAK; BERNARDI, 2011).

Quando administrada em doses intermediárias de 20mcg/kg, por via intravenosa, a detomidina atinge o pico de sedação e analgesia em 15 minutos, durando cerca de 1 hora. A analgesia desta dose do fármaco é maior do que a ação analgésica promovida pela xilazina na dose de 1,1 mg/kg. Possui boa analgesia visceral em cavalos, não desprezando seu uso em casos de cólica, levando em consideração a dose utilizada devido aos efeitos indesejáveis no trato gastrointestinal (LEMKE, 2014).

Segundo Moens (2003), em um estudo placebo-controlado, enquanto a analgesia de 20 mcg/kg/IV de detomidina promoveu período hábil superior ao uso de xilazina na dose de 1,1mg/kg/IV, sendo de aproximadamente 30 minutos e 15 minutos, respectivamente.

As alterações cardiovasculares ocasionadas pela detomidina são dose-dependentes. Em cavalos (10 a 20 mcg/kg/IV), há queda da frequência respiratória em cerca de 50% por 2 horas, porém não há alteração de pH e pressão parcial de gás carbônico arterial (paCO₂), somente queda passageira da pressão parcial de oxigênio (PaO₂) (LEMKE, 2014).

3. METODOLOGIA

O estudo foi desenvolvido em colaboração institucional da Faculdade Vértice – UNIVERTIX com o Haras São João, ambos localizados no município de Matipó, e

Haras Ares do Vale, localizado no município de Manhuaçu, no estado de Minas Gerais.

3.1 Animais

Foram utilizados 32 equinos hípidos, da raça Campolina, pertencentes ao Haras São João e Haras Ares do Vale, com média de 8 anos de idade, pesando \pm 440 kg. Os animais não apresentavam sinais clínicos de doenças prévias, sendo selecionados para procedimentos odontológicos após exame clínico geral.

Previamente ao protocolo experimental, os animais foram submetidos a jejum alimentar de 12 horas. Após identificação e exame dos parâmetros basais, os animais foram pesados e submetidos a sedação para a realização de exames odontológicos

3.2 Grupos experimentais

Os animais foram igualmente distribuídos de acordo com cada protocolo de sedação, de forma aleatória, em um estudo cego, onde o avaliador não tinha conhecimento do protocolo administrado. Os protocolos sedativos foram divididos da seguinte forma:

- Grupo 1 (G1): Foi utilizada xilazina 2% na dose de 1 mg/kg por via intravenosa;
- Grupo 2 (G2): Foi utilizada xilazina 2% na dose de 0,5mg/kg associada a 0,05 mg/kg de acepromazina 1%, por via intravenosa;
- Grupo 3 (G3): Foi utilizada detomidina 1% na dose de 0,04 mg/kg por via intravenosa;
- Grupo 4 (G4): Foi utilizada detomidina 1% na dose de 0,02 mg/kg associada a acepromazina 1% na dose de 0,05 mg/kg.

Para comparação dos efeitos dos quatro protocolos durante os exames, e procedimentos odontológicos, foram avaliados a frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), mobilidade da língua e inquietação do animal, duração da sedação, altura da cabeça após a sedação (Figura 1), grau de ataxia, relutância à colocação do abre boca, reação a inspeção com o espelho, reação ao estímulo de deglutição com água, respostas ao estímulo sonoro e de desgaste dentário com a grossa elétrica (Tabela 1) e a necessidade de repetição da dose do fármaco durante o procedimento. Todos esses parâmetros foram registrados em fichas e, após o registro, foram submetidos a planilhas para análise estatística.

3.3. Variáveis avaliadas:

3.3.1. Frequência respiratória: foi mensurada através da auscultação com estetoscópio traqueal no terço médio cervical, no momento basal (T0), logo após a sedação (T1) e a cada 15 minutos, até completar 30 minutos (T2 e T3 respectivamente).

3.3.2. Frequência cardíaca: foi mensurada através da auscultação com estetoscópio no momento basal (T0), logo após a sedação (T1) e a cada 15 minutos, até completar 30 minutos (T2 e T3 respectivamente).

3.3.3. Avaliação da sedação

A sedação foi avaliada através da altura da cabeça, ataxia, reação à presença do abre-boca, tônus da língua, inspeção da cavidade oral com o espelho, resposta ao estímulo sonoro da grossa elétrica e avaliação da resposta ao estímulo de desgaste dentário com a grossa elétrica. A reação ao estímulo de deglutição foi avaliada com a ejeção de 60 ml de água na orofaringe do animal, com auxílio de uma seringa, e atribuídos escores conforme a Tabela 1. Tais avaliações foram feitas logo após a sedação (T1), 15 minutos após sedação, 30 minutos após a sedação (T3) e descritas em fichas de sedação de acordo com os escores descritos na Tabela 1.

3.3.4. Resgate sedativo:

Foi realizado a administração complementar com metade da dose dos fármacos agonistas alfa-2 adrenérgicos, quando o animal apresentava relutância ao procedimento odontológico.



Figura 5: Exemplos dos escores da altura da cabeça: 1b) Cabeça no plano ao nível da cernelha (Grau II); 1a) Cabeça abaixo do plano ao nível da cernelha (Grau III).

Tabela 1: Escores de I a V para avaliação da altura da cabeça, ataxia, reação ao abre boca, tônus da língua, inspeção com o espelho, estímulo de deglutição, estímulo sonoro com a grossa elétrica e estímulo dentário com a grossa elétrica de equinos submetidos a procedimentos odontológicos e tratados com Xilazina 1 mg/kg (G1); Xilazina 0,5mg/kg e 0,05 mg/kg de Acepromazina (G2); Detomidina 0,04 mg/kg (G3); Detomidina 0,02 mg/kg e Acepromazina 0,05 mg/kg (G4).

Escore	Altura da cabeça	Ataxia	Reação ao abre boca	Tônus da língua	Inspeção com o espelho	Estímulo de deglutição	Estímulo sonoro com a grossa elétrica	Estímulo dentário com a grossa elétrica
I	Acima do plano da cernelha	Ausente	Ausência de mastigação ou movimento brusco da cabeça	Relaxada sem reação à tração manual	Sem reação	Sem reação	Ausente	Ausente
II	No plano da cernelha	Discreta com animal oscilando	Mastigação mas ausência de movimento brusco da cabeça	Relaxada com reação ao toque	Movimento da língua	Movimento da língua	Discreta, com movimento da orelha	Movimento da língua
III	Abaixo do plano da cernelha	Moderada com mudança constante de apoio	Mastigação e movimento brusco da cabeça	Relaxada com reação à tração	Movimento brusco da língua	Movimento da língua e mastigação	Intenso, movimento de orelha e cabeça	Movimento da língua e mastigação
IV		Intensa com Membros pélvicos cruzados e/ou torácicos semi-flexionados e/ou apoiado no tronco	Impossibilidade de colocação do abre-boca	Com movimento e reação à tração		Movimento da língua, mastigação e movimento da cabeça		Mastigação movimento de língua e retirada de cabeça
V								Animal não permite o desgaste dentário com a grossa elétrica.

3.4 Análise estatística

Para verificar a normalidade dos dados, foi realizado o teste Shapiro-Wilk. Os dados que atenderam a normalidade foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e apresentando diferença estatística foi realizado teste de Tukey. Para os dados que não atenderam a normalidade, bem como para os parâmetros de sedação foi realizado o teste Kruskal-Wallis. Todos os testes foram realizados por meio do programa estatístico SigmaPlot 12.5, sendo adotado o grau de significância de 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados da frequência cardíaca e frequência respiratória estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Média e Desvio Padrão da frequência respiratória (FR) e frequência cardíaca (FC) dos tratamentos ao longo do tempo. Dos animais submetidos a procedimentos odontológicos e tratados com xilazina 1 mg/kg (G1); xilazina 0,5mg/kg e 0,05 mg/kg de acepromazina (G2); detomidina 0,04 mg/kg (G3); detomidina 0,02 mg/kg e acepromazina 0,05 mg/kg (G4).

Grupo	T0	T1	T2	T3	
FR	G1	41 ± 14,77 ^{Aa}	16,75 ± 5,11 ^{Ab}	14 ± 2,13 ^{Ab}	14,73 ± 3,01 ^{Ab}
	G2	35,5 ± 11,79 ^{Aa}	13 ± 4,14 ^{Ab}	17 ± 3,54 ^{Ab}	11,75 ± 1,98 ^{Ab}
	G3	49,5 ± 16,16 ^{Aa}	19,75 ± 10,05 ^{Ab}	19,75 ± 9,09 ^{Ab}	14,87 ± 4,32 ^{Ab}
	G4	46,5 ± 24,4 ^{Aa}	14,75 ± 3,69 ^{Aa}	14,5 ± 4,10 ^{Aa}	14,75 ± 2,37 ^{Aa}
FC	G1	18,5 ± 3,81 ^{Ab}	35 ± 4,35 ^{Aa}	33,25 ± 8,41 ^{Aa}	31,25 ± 5,65 ^{Aa}
	G2	19,75 ± 8,31 ^{Ab}	31,5 ± 8,19 ^{Aa}	30,75 ± 7,47 ^{Aa}	32,75 ± 7,40 ^{Aa}
	G3	22 ± 8,28 ^{Aa}	25,5 ± 6,30 ^{Aa}	23 ± 7,92 ^{Aa}	25,75 ± 5,80 ^{Aa}
	G4	21,75 ± 9,93 ^{Aa}	29 ± 8 ^{Aa}	34,75 ± 14,96 ^{Aa}	34,25 ± 5,99 ^{Aa}

Letras maiúsculas iguais não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas iguais não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Na comparação entre grupos, não houve diferença significativa quanto à frequência cardíaca (FC). Na avaliação ao longo do tempo, os protocolos do G1 e G2 apresentaram aumento da frequência cardíaca em T1, T2 e T3 em relação aos parâmetros basais. Segundo Gil *et al.* (2009), o uso de agonistas alfa2 adrenérgicos promovem importantes alterações cardiovasculares, como diminuição do débito cardíaco por diminuição do inotropismo, diminuição do ritmo cardíaco e redução da resistência vascular sistêmica, no entanto, neste trabalho, todos os tratamentos

utilizados promoveram aumento da frequência cardíaca em relação ao basal. Além disso, a acepromazina não promove alteração significativa sobre a frequência cardíaca em cavalos conscientes (LEMKE, 2014) e neste trabalho, seu uso também não potencializou o efeito depressor da xilazina sobre este parâmetro.

A FR, na comparação entre os protocolos, não apresentou diferença estatística ao longo do tempo. Na comparação dos grupos ao longo do tempo, os grupos G1, G2 e G3 apresentaram diminuição significativa deste parâmetro com relação aos valores basais. Este resultado é semelhante ao relatado por Bettschart-Wolfensberger *et al.* (2005), que observaram diminuição significativa da FR e diminuições recorrentes na taxa de pressão parcial de oxigênio no sangue arterial (PaO₂) após a administração de agonista alfa2 adrenérgicos em equinos. A administração de acepromazina em animais conscientes ou anestesiados promove poucos efeitos sobre a função respiratória, no entanto, pode haver diminuição da frequência respiratória (LEMKE, 2014). De acordo com os resultados deste trabalho o uso deste fármaco não influenciou na FR, pois os tratamentos com o uso isolado de xilazina e detomidina também apresentaram diminuição deste parâmetro em relação ao basal.

Não foi observada diferença significativa entre os protocolos testados quanto à altura da cabeça, e todos os animais apresentaram em T0, o posicionamento da cabeça acima do nível da cernelha e, em T1, T2 e T3, apresentaram abaixo deste nível. Tantos os fármacos alfa2 agonistas quanto os fenotiazínicos promovem ptose da cabeça (HUBBEL, 2014), no entanto, neste estudo, o uso dos fármacos associados não promoveu efeito sinérgico com relação a este parâmetro. Segundo Cruz *et al.* (2011), a avaliação da altura da cabeça em relação ao piso é um método eficaz para avaliação do grau de sedação. Por outro lado, Ringer *et al.* (2012) consideraram que o abaixamento de cabeça no cavalo sedado avalia a profundidade da sedação e não a sua qualidade, visto que a qualidade de sedação deve ser avaliada em estudos clínicos com animais submetidos a procedimentos que causem dor. Neste trabalho não foram realizados estímulos dolorosos, mas estímulos sonoros, de deglutição e táteis, somados à altura da cabeça, estando de acordo com Ringer *et al.* (2013), onde a qualidade da sedação também foi avaliado através da altura da cabeça em relação ao piso e por respostas ao estímulo de toque, auditivo e visual (Ringer *et al.* 2013).

Quanto à avaliação da ataxia, todos os animais apresentaram em T1 ataxia discreta, no entanto, não houve diferença entre os protocolos de sedação. A ação agonista alfa-2 adrenérgica causa o bloqueio de receptores dopaminérgicos responsáveis pela perda da atividade voluntária e espasticidade, resultando em ataxia (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2011). Segundo Vigani & Garcia-Pereira (2014), a xilazina promove ataxia mais intensa quando comparada à detomidina. Já a acepromazina promove relaxamento muscular e discreta ataxia (HUBBELL, 2014). Sendo assim, pode-se observar neste trabalho que a ataxia, observada em todos os animais, decorrente do uso dos fármacos agonistas alfa-2 adrenérgicos e a associação com acepromazina, pouco influenciou neste parâmetro.

Quanto aos demais parâmetros utilizados para avaliar a sedação nos procedimentos odontológicos, não houve diferença estatística entre protocolos testados, onde nenhum animal apresentou reação ao abre boca, reação ao estímulo sonoro com a grossa elétrica, e todos permitiram o desgaste dentário com a grossa. Além disso, todos os animais apresentaram reação à manipulação da língua. Tais resultados demonstram que, conforme Hubbell (2014), os fenotiazínicos e os agonistas alfa-2 adrenérgicos, são fármacos eficazes para a contenção de equinos em estação.

A inspeção da cavidade oral com o uso do espelho corresponde a uma das etapas dos procedimentos odontológicos que mais provoca incomodo nos animais. O tratamento com xilazina isolada apresentou os maiores escores que o uso da detomidina isolada, diferindo estatisticamente no T1 e T2. Estes resultados comprovam que a detomidina apresenta sedação maior em comparação à xilazina (LEMKE, 2014) e que o uso de fenotiazínicos não potencializou a sedação promovida pelos alfa2 agonistas. Segundo Vigani & Garcia- Pereira (2014) e Hubbell (2014), a acepromazina não tem efeito analgésico e, neste trabalho a diminuição da dose da xilazina, quando associada a acepromazina, pode ser indicativo de que sua analgesia não foi o suficiente até o final do procedimento.

Os agonistas alfa-2 adrenérgicos produzem sedação, analgesia e miorelaxamento em equinos. No entanto, a detomidina é cerca de 80 a 100 vezes mais potente que a xilazina e com período hábil duas vezes maior (HUBBELL, 2014). A dose de 0,04mg/kg/IV de detomidina foi o único protocolo em que os animais não apresentaram estímulo de deglutição, sendo significativamente diferente do uso de xilazina 1mg/kg/IV 30 minutos após a sedação. Além disso, a duração do

efeito da xilazina é de cerca de 20-30 minutos (CRUZ *et al.*, 2011), sendo menor do que o da detomidina, que é de 40-80 minutos (SPINOSA; GÓRNIAK; BERNARDI, 2011). Então, a ausência do reflexo de deglutição da detomidina pode ser justificada pelo miorelaxamento da região cervical (HUBBELL, 2014) e maior período de ação em relação à xilazina (SPINOSA; GÓRNIAK; BERNARDI, 2011).

Dentre os protocolos avaliados o G3 foi o único onde nenhum animal necessitou de repetição da dose do sedativo diferindo-se significativamente do grupo 2, onde foram realizadas nove suplementações com xilazina. Os grupos 1 e 4 necessitaram de cinco e duas suplementações respectivamente. De acordo com Viganí & Garcia-Pereira (2014), pode ser necessária a administração de doses suplementares de alfa-2 agonistas por via intravenosa, de um quarto até metade da dose inicial quando os efeitos sedativos começam a diminuir. A acepromazina é um tranquilizante que diminui significativamente o requerimento de outros sedativos, quando usados em associação (VIGANI & GARCIA-PEREIRA, 2014). Entretanto, neste trabalho, a associação de acepromazina e xilazina, não teve efeito sinérgico quanto a qualidade de sedação, justificando a maior necessidade de suplementação.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para os procedimentos odontológicos em equinos, a detomidina, na dose de 0,04 mg/kg/IV, mostrou-se o protocolo de sedação mais eficaz, não necessitando de repetição da dose por 30 minutos, promovendo adequado relaxamento muscular e analgesia, sem alteração significativa da frequência cardíaca e frequência respiratória.

A acepromazina não promove efeito sinérgico sobre analgesia, miorelaxamento e sedação da xilazina, necessitando de maior número de suplementações da dose do agonista alfa-2 adrenérgico em procedimentos odontológicos com até 30 minutos de duração.

Todos os protocolos testados promoveram discreta ataxia logo após a sedação e abaixamento da cabeça abaixo do nível da cernelha.

A xilazina isolada ou em associação à acepromazina, resultou em aumento da frequência cardíaca e diminuição da frequência respiratória em cavalos em estação submetidos aos procedimentos odontológicos.

6. REFERÊNCIAS



BETTSCHART-WOLFENSBERGER R.; FREEMAN S. L.; BOWEN I. M., *et al.* Cardiopulmonary effects and pharmacokinetics of i.v. dexmedetomidine in ponies. **Equine Vet J.** 37(1):60-4. 2005.

DAUNT D. A.; STEFFEY E.P. Alpha-2 adrenergic agonists as analgesic in horses. **Vet Clin North Am Equine Pract.** 18 (1):39–46. 2002.

CRUZ, F. S. F; CARREGARO, A. B.; MACHADO, M.; ANTONOW, R. R. Sedative and cardiopulmonary effects of buprenorphine and xylazine in horses. **The Canadian Journal of Veterinary Research.** 75:35–41. 2011.

DIXON, P. M. *et al.* Standing oral extraction of cheek teeth in 100 horses (1998-2003). **Equine Veterinary Journal.** v. 37, p 105- 12, 2005.

DUTTON D. W.; LASHNITS K.J.; WEGNER K. Managing severe hoof pain in a horse using multimodal analgesia and a modified composite pain score. **Equine Vet Ed.** 21(1):37–43. 2009.

GIL D. W. *et al.* α -1 adrenergic receptor agonist activity of clinical α -adrenergic receptor agonists interferes with α -2 mediated analgesia. **Anesthesiology.** 110(2):401–7. 2009.

GRIMSRUD K. N. *et al.* Pharmacokinetics of detomidine and its metabolites following intravenous and intramuscular administration in horses. **Equine Vet J.** 41(4):361–5. 2009.

HALL, L. W.; CLARK, K. M. **Veterinary Anesthesia.** 9 ed. London: Bailliere Tindal. p. 191 a 198, 1991.

HATTA, K. *et al.* Prolonged upper airway instability in the parenteral use of benzodiazepine with levomepromazine. **Journal of Clinical Psychopharmacology,** v.20, n.1, p.99-101, 2000.

HSU, W.H: Xylazine-induced depression and R_s antagonism by alpha adrenergic blocking agents. **JPharmacol F_xp Ther** 218:188-192, 1981.

HUBBELL, J. A. E. Equinos. In: In: TRANQUILLI, W. J.; THRUMON, J. C.; GRIMM, K. A. **Lumb & Jones Anestesiologia e Analgesia Veterinária.** 4^a ed. São Paulo: Roca, p. 780,784,785. 2014.

JOCHLE, W.; HAMM, D. Sedation and analgesia with Domosedan in horses: dose response studies on efficacy and its duration. **Acta Veteria Scandinavica,** v. 82, p. 69- 84, 1996.

LEMKE, K. A. Anticolinérgicos e sedativos. In: TRANQUILLI, W. J.; THRUMON, J. C.; GRIMM, K. A. **Lumb & Jones Anestesiologia e Analgesia Veterinária.** 4^a ed. São Paulo: Roca, p. 235-237,243-244,252-253. 2014.

LOVE E. J. *et al.* Effects of acepromazine, butorphanol and buprenorphine on thermal and mechanical nociceptive thresholds in horses. **Equine Vet J.** 44(2):221–5. 2012.



MAMA, K. R. *et al.* Plasma concentrations, behavioural and physiological effects following intravenous and intramuscular detomidine in horses. **Equine Veterinary Journal**, v.41, p.772- 777. 2009.

MIKSA I. R.; CUMMINGS M. R.; POPPENG R. H. Determination of acepromazine, ketamine, medetomidine, and xylazine in serum: multi-residue screening by liquid chromatography-mass spectrometry. **J Anal Toxicol**, 29: 544–51. 2005.

MOENS, Y. *et al.* A comparison of antinociceptive effects of xylazine, detomidine and romifidine on experimental pain in horses. **Veterinary Anaesthesia Analgesia**, v. 30, p. 183- 190, 2003.

MUIR W. W. Standing chemical restraint in horse. In: MUIR, W.W.; HUBBEL, J.A.E. **Equine anesthesia: monitoring and emergency therapy**. St. Louis: Mosby, p. 247 – 281. 1991.

NANNARONE, S. *et al.* The use of alpha- 2- agonists in the equine practice: comparison between three molecules. **Veterinary Research Communications**. v. 31, p. 309- 312, 2007.

PAWSON, P.: Sedativos In: **Farmacologia Clínica de Pequenos Animais**. 1.ed. Rio de Janeiro: Elsevier. p.113-124. , 2010.

RINGER, S. K. *et al.* Development of a xylazine constant rate infusion with or without butorphanol for standing sedation of horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 39, 1–11. 2012.

RINGER, S. K. *et al.* The effects of a loading dose followed by constant rate infusion of xylazine compared with romifidine on sedation, ataxia and response to stimuli in horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 40, 157–165. 2013.

ROSCOE, P. M. Avaliação de seis protocolos de sedação para procedimentos odontológicos em equinos. 59f. **Dissertação** (Mestre em Ciência Animal), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

SPINOSA, H. S., GÓRNIK, S. L., BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**, 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2011.

THURMON J. C.; TRANQUILLI, W. J.; BENSON, G. J. **Lumb and Jones: Veterinary Anesthesia**. 3rd ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 984 p. 1996.

VALVERDE, A. Alpha-2 Agonists as Pain Therapy in Horses. **Vet Clin Equine**. Elsevier. 515–532. 2010.

VIGANI, A.; GARCIA-PEREIRA, F. L. Anesthesia and Analgesia for Standing Equine Surgery. **Vet Clin Equine**. 30 ed. Elsevier. 1–17. 2014.

UTILIZAÇÃO DE SEMENTES DE GRAVIOLA (*Annona muricata* L.) NO CONTROLE DE *Rhipicephalus microplus*, CARRAPATO DE BOVINO.



Acadêmicos: Cássio Domingos Mariano e Elias Rodrigues Dias

Orientador: Rogério Oliva Carvalho

RESUMO

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é responsável por grandes perdas na pecuária brasileira. A resistência do parasita a diferentes classes de acaricidas tem estimulado as pesquisas alternativas de controle, principalmente com o uso de extratos vegetais. Por isso, este trabalho teve como objetivo determinar a eficácia da semente de graviola (*Annona muricata* L.) no controle do carrapato *R. (B.) microplus* dos bovinos. Foi feito um teste in vitro com o extrato alcoólico de sementes de graviola a 1% e 2% sobre teleógenas de *R. (B.) microplus* e um grupo controle (sem tratamento). Os parâmetros avaliados foram o índice de conversão em ovos, peso de ovos, percentual de eclosão e eficiência dos tratamentos. O tratamento com *A. muricata* reduziu a postura das fêmeas quando comparado ao controle. O grupo tratado com extrato a 1% obteve o peso médio da massa de ovos de $0,27 \pm 0,16$, sendo o tratamento com extrato a 2% melhor, com peso de $0,1 \pm 0,1g$, diferindo do grupo controle onde apresentou uma postura de $0,51 \pm 0,01g$. O índice de produção de ovos foram de $11,11 \pm 3,02$, $04,96 \pm 2,04$, e $22,63 \pm 6,08$ para os grupos tratados com extrato a 1%, 2% e grupo controle. A graviola pode ser uma alternativa promissora no controle de carrapatos.

PALAVRAS – CHAVE: Carrapato bovino, extrato vegetal, *Annona muricata*

1- INTRODUÇÃO

No Brasil a pecuária bovina é uma das atividades de maior relevância do agronegócio, por conseguinte da economia nacional (CHAGAS *et al.*, 2001). O Brasil é dono do segundo maior rebanho comercial do mundo, com cerca de 200 milhões de cabeças. Além disso, desde 2004, assumiu a liderança nas exportações, com um quinto da carne comercializada internacionalmente e vendas em mais de 180 países. O rebanho bovino brasileiro proporciona o desenvolvimento de dois segmentos lucrativos, as cadeias produtivas da carne e leite, com o valor bruto de produção estimado em R\$ 67 bilhões (ALVES *et al.*, 2012; FURLONG *et al.*, 2003).

Os ectoparasitas estão incluídos entre os agentes etiológicos responsáveis por problemas sanitários na bovinocultura. Em geral, de difícil controle que trazem prejuízos econômicos tanto na exploração leiteira, quanto na criação e comercialização do gado de corte (BROGLIO-MICHELETTI *et al.*, 2009).

Dentre os ectoparasitas se destaca o carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, por ser causador de danos econômicos calculados em mais de 1 bilhão de dólares por ano (ALVES *et al.*, 2012).

Esse ectoparasita é causador de prejuízos diretos como processos espoliativos de sangue, prurido, anemia, e conseqüentemente perdas na produção leiteira e ganho de peso ou por prejuízos indiretos como transmissão de doenças, tais como os protozoários *Babesia bovis* e *B. bigemina* causadores da Babesiose e as rickettsias *Anaplasma marginale* e *A. centrale*, causadoras da anaplasmose, juntas são denominadas Tristeza Parasitária Bovina- TPB, porém nem sempre ocorrem juntas (SANTOS, 2010; SOUZA, 2012).

São várias as estratégias e produtos químicos conhecidos e utilizados para o controle desse ectoparasita pelos produtores de bovinos (ALVES *et al.*, 2012). A maior parte dos produtores combatem o carrapato aplicando produtos carrapaticidas sobre os animais, quando observam a presença dos parasitas fixados neles. Nesta prática há riscos, como a utilização de sub doses, preparo inadequado da medicação, aplicação mal feita e intervalos entre aplicações irregulares. Além disso, os produtores raramente levam em conta as características biológicas e climáticas, o que gera respostas indesejáveis por não exterminar e nem controlar a população de carrapatos, apenas estimulando o desenvolvimento de resistência para as demais gerações. (CASTRO, 2010; FURLONG *et al.*, 2007; SOUZA, 2012). Por isso, várias pesquisas tem como foco a utilização de extrato vegetal para controle de carrapatos (CASTRO *et al.*, 2010; VALENTE *et al.*, 2007).

Por isso, o objetivo deste trabalho foi determinar a eficácia da semente de graviola (*Annona muricata* L.) no controle do carrapato *R.(B.) microplus* dos bovinos.

Trabalhos como este proporcionam alternativas para o controle de carrapatos. Além de ser uma nova possibilidade para propriedades em que os parasitas já criaram resistência a muitos dos produtos químicos oferecidos no mercado.

2 - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 - PARASITISMO

O parasitismo pode ser classificado como externo (ectoparasitas), como aquele exercido por carrapatos, ou interno (endoparasitas), como o exercido pelos vermes (AZEVEDO *et al.*, 2008; SEQUEIRA *et al.*, 2001).

Podem ocorrer diferentes respostas do hospedeiro, seja ele bovino, ovino, caprino, suíno, ou ave ao parasita (carrapatos, piolhos, vermes, larvas de moscas) por ocasião de fatores como idade, alimentação, condição corporal, estágio de lactação ou gestação e produtividade dos animais. As crias, ou seja, animais mais jovens, no geral, são bem mais susceptíveis ao parasitismo do que os animais adultos, podendo estes atuarem como fonte de contaminação para os animais mais jovens (ALENCAR *et al.*, 2005; SEQUEIRA *et al.*, 2001).

É importante ressaltar que as infestações parasitárias não são problemas individuais centralizados em um único animal e sim problemas de rebanho e a maioria dos prejuízos causados pela presença do parasitismo na propriedade não é imediatamente reconhecida. Na realidade, existem parasitoses que podem permanecer anos no rebanho, diminuindo a produtividade, sem serem detectadas. São as denominadas parasitoses crônicas tendo uma maior importância na redução da lucratividade da propriedade do que aquelas que causam rapidamente a morte do animal, chamadas de parasitoses agudas (AMARANTE, 2004; AZEVEDO *et al.*, 2008).

Os ectoparasitas como carrapatos, piolhos, pulgas, bernes e moscas do chifre irritam e incomodam o hospedeiro, tendo sua alimentação e repouso perturbado, causando assim desconforto e estresse aos animais e conseqüentemente diminuindo a produtividade (AZEVEDO *et al.*, 2008; SEQUEIRA *et al.*, 2001). Produtividade baixa é igual a lucro menor, por conseguinte, prejuízo ao produtor, por isso este trabalho tem como objetivo procura por medicamentos e formas de detecção para controlar esses parasitas.

2.2 - CICLO BIOLÓGICO

Os carrapatos da espécie *R.(B.) microplus* pertencem à ordem Acari, família Ixodidae, sub-família Rhipicephalina, apresentam rostro e palpos curtos, achatados e rugosos, escudo sem ornamentação, presença de olhos, peritremas arredondados ou ovais. São parasitos obrigatórios, tendo como hospedeiros preferenciais os bovinos, mas na ausência destes, podem parasitar outros animais tais como equinos e cães (SANTOS, 2010).

O *R.(B.) microplus* é um carrapato originário da Ásia, que foi disseminado em vários países tropicais e subtropicais pela introdução de animais proveniente desse

continente. Esta espécie parasita preferencialmente bovino e é a mais importante espécie de carrapato parasita de bovinos, no Brasil (SEQUEIRA, 2001).



O carrapato bovino *Boophilus microplus* recentemente foi reclassificado através do uso da biologia molecular dentro do gênero *Rhipicephalus* e subgênero *Boophilus*, passando a ser chamado de *R. (B.) microplus* (Acari: Ixodidae), porém, pode-se ainda utilizar o nome *B. microplus* (SANTOS, 2010).

O *R.(B.) microplus* é considerado um carrapato de apenas um hospedeiro, termo utilizado pelo fato de todas as fases da vida parasitária (desde larva até fêmea ingurgitada) ocorrerem em apenas um animal (SEQUEIRA *et al.*, 2001). Possuindo ciclo biológico dividido em duas fases: ciclo de vida parasitária, que dura em média 22 dias, em que representa menos de 5% da população total dos parasitas, sendo os 95% restantes encontrados na vegetação no ciclo de vida livre ou não parasitária, que ocorre no solo e prolonga-se por, aproximadamente, três meses, dependendo, principalmente, das condições do clima da região (CHAGAS *et al.*, 2001; SOUZA, 2012).

Na fase parasitária, o carrapato apresenta três características morfológicas diferentes: larva, ninfa e adulto. Tem seu início como larva infestante, que apresenta três pares de patas e é bastante ativa, já que precisa encontrar um hospedeiro para se fixar. As fêmeas, nessa etapa, alimentam-se de reservas acumuladas na fase de ovo, de linfa, de estratos teciduais e de plasma (SEQUEIRA *et al.*, 2001).

Esses carrapatos identificam o hospedeiro de sua preferência pelo gás carbônico gerado durante a respiração dos animais, por meio de estruturas do primeiro segmento locomotor, e procuram se fixar em partes do corpo do animal, normalmente, afastadas da defesa do mesmo, como base da cauda, barbela, peito e parte posterior das coxas. É nesse momento em que a larva se alimenta e começa desenvolver e crescer, passando por um período de inatividade (SEQUEIRA *et al.*, 2001).

Aproximadamente 7 dias após a fixação da larva, ocorre a muda para ninfa, adquirindo nova estrutura e mais um par de patas. Alimenta-se de sangue e até próximo ao 15º dia ainda é um adulto imaturo. Logo após esse processo é considerado indivíduo adulto, sexualmente diferenciado: neandro (macho) e neógena (fêmea). Com a maturação, que ocorre por volta do 17º dia, ambos estão prontos para a cópula, sendo que esta, ocorre ainda no hospedeiro (FURLONG, 2005; SANTOS, 2010).

Segundo SEQUEIRA *et al.*, (2001), os machos adultos nunca permanecem no mesmo lugar no hospedeiro por muito tempo e são frequentemente encontrados junto às fêmeas, que após serem fertilizadas continuam se alimentando de sangue até atingirem um tamanho máximo, quando recebem a denominação de teleógena. O período de vida parasitária termina quando a fêmea se desprende do hospedeiro. Desde o início do parasitismo pela larva até a teleógena se desprender são necessários 21 dias.

Após a chegada das fêmeas ao solo, tem-se o início do ciclo de vida livre ou também chamada de fase não parasitária, que compreende três estágios: fêmea adulta, ovo e larva. Estas fêmeas procuram um lugar, de preferência úmido e sem incidência direta dos raios solares, para efetuar a postura, que pode ocorrer a partir do 3º dia após a queda, transformando tudo que foi ingerido para formação e produção de ovos. Em seguida, a fêmea, apresentando uma coloração mais amarelada, vai murchando e morre, deixando uma desova de aproximadamente 3000 ovos. Desse total, em condições de temperatura e umidade adequadas, quase toda a população dará origem a larvas, que ficarão, no chão, em média três dias, até o endurecimento de sua carapaça. A maturação completa acontece em uma semana. Após esse período, deslocam-se para as extremidades da pastagem e ficam aguardando o encontro com um hospedeiro, iniciando então o ciclo de vida parasitária (FURLONG, 2005; SEQUEIRA *et al.*, 2001).

2.3 - DANOS CAUSADOS PELO *R.(B.) MICROPLUS*

O parasitismo por *R.(B.) microplus* é causa de grandes prejuízos à pecuária bovina no Brasil, sendo esses danos produzidos divididos em diretos e indiretos (SANTOS, 2010; SEQUEIRA *et al.*, 2001). Danos diretos são aqueles ocasionados pela picada o carrapato que podem provocar reações alérgicas, irritação, inflamação e predispõe a miíases e conseqüentemente danos no couro ocasionando menor qualidade. Cada fêmea pode sugar até 1,5ml de sangue durante a vida. Este grau de espoliação faz com que a energia destinada ao ganho de peso e a produção leiteira seja destinada a reposição de sangue, além da desvalorização do couro (FORLONG, 2005; SANTOS, 2010).

Entre as perdas indiretas, podem ser citados: o custo do controle químico, mão-de-obra, os danos ambientais decorrentes do uso desses produtos, os resíduos deixados nos produtos de origem animal, uma vez que, se não for cumprido o

período de carência, o produto não deve ser destinado ao consumo humano, por riscos de intoxicações (FURLONG, 2005; FURLONG *et al.*, 2007).

As transmissões de doenças para os bovinos pelo carrapato estão entre esses danos indiretos, em que já são consideradas endêmicas no Brasil, como a Babesiose bovina causada por protozoários *Babesia bovis* e *B. bigemina* e a anaplasmose bovina causada pelas rickettsias *Anaplasma marginale* e *A. centrale* que juntas são denominadas de “Tristeza Parasitária Bovina (TPB)”, porém nem sempre ocorrem juntas. Entretanto, apesar desses carrapatos serem considerados ameaças aos animais, o contato com os mesmo são de essencial importância para que os animais possam criar resistência a essas doenças. (FURLONG, 2005; SANTOS, 2010; SEQUEIRA *et al.*, 2001; SOUZA, 2012).

2.4 - FORMAS DE CONTROLE

O controle com o uso de acaricidas químicos durante a fase parasitária do carrapato tem sido a medida profilática e terapêutica mais comumente utilizada contra esses ectoparasitos. Esta tentativa de controle apenas na fase parasitária é a principal causa dos insucessos no controle do carrapato bovino, uma vez que, a maior parte da população dos carrapatos (95%) está na pastagem, e apenas 5% dos mesmos estão nos animais (CHAGAS *et al.*, 2001; FURLONG *et al.*, 2003).

No mercado hoje, existem diferentes produtos e formas de tratamentos, por ocasião de haver diversas famílias de carrapaticidas com forma de ação e aplicação diferentes (FURLONG *et al.*, 2007)

Os carrapaticidas são classificados em famílias ou grupos químicos. Com o passar dos anos, novos grupos químicos foram surgindo e outros desaparecendo. Além dessa classificação por famílias, podem-se agrupar os carrapaticidas conforme o local de aplicação, como “de contato” ou “sistêmicos” (atuação pela circulação sanguínea), encontrando-se no mercado as seguintes alternativas (FURLONG *et al.*, 2007).

Os carrapaticidas de contato são aqueles aplicados por meio de pulverização, imersão ou “*pour on*”. Como o nome indica, é necessário o contato do produto com o carrapato para que, penetrando pelos orifícios naturais ou mesmo pela cutícula, haja intoxicação e morte dos ectoparasitas (SANTOS *et al.*, 2009).

São divididos em cinco grupos ou famílias, são eles: 1) Os Piretróides sintéticos possui um poder residual muito alto, por isso foi muito aceito pelos

produtores, sendo seus principais as deltametrina, cipermetrina e alfametrina. 2) Os organofosforados bloqueiam a ação da acetilcolinesterase sobre a acetilcolina, evitando a hidrólise deste neurotransmissor, essas drogas geralmente são utilizados em associação com piretróides. 3) Amidínicos esses sucederam os organofosforados por ter poder residual maior e conseqüentemente intervalos entre aplicações maiores. 4) Já os Fenilpirazóis, tem por desvantagens não se utilizar em animais lactantes e nem para os que vão para abate, porém, agem como as avermectinas e são aplicadas em forma de “*pour on*”, o princípio ativo desse grupo é denominado fipronil. 5) *Naturalyte* é recente e seu componente ativo é o spinosad, possui por vantagens apresentar mecanismos de ação novo, pois não interage com locais de ligação conhecidos de outros insecticidas nicotínicos ou que transmitam GABA como o fipronil, eles atuam ocasionando tremores, prostração, paralisia e morte rápida do parasita, sendo esses efeitos principalmente causados pela activação de receptores de acetilcolina nicotínica. Muito bom por ser permitido para vacas em lactação (FURLONG *et al.*, 2003; FURLONG, 2005; FURLONG *et al.*, 2007; SANTOS *et al.*, 2009).

Os carrapaticidas sistêmicos são aqueles carrapaticidas aplicados por meio de injeções subcutâneas ou intramusculares, por derrame no dorso do bovino, ou pulverização em ambos os lados da linha mediana dorsal. Os princípios ativos dos produtos são metabolizados pelo organismo e distribuídos a todo o corpo do animal, chegando, através da circulação, aos carrapatos, que então são intoxicados. Temos por exemplo as lactonas macrocíclicas como as avermectinas que causam interrupção dos impulsos nervosos provocando a morte do verme já paralisado. E os benzofenilureas (inibidores de crescimento) (FURLONG *et al.*, 2007).

Com a utilização desses carrapaticidas em doses ideais e aplicações em intervalos de tempo adequados, juntamente com observação no ciclo biológico do carrapato pode-se conseguir um bom controle desses ectoparasitas no rebanho (FURLONG, 2005; SANTOS, 2010).

2.5 - GRAVIOLA (*Annona muricata* L.)

A graviola *Annona muricata* L. (Annonaceae) é originária da América Tropical, mais especificamente da América Central e Vales Peruanos, e daí distribuída para todas as regiões tropicais do mundo. A gravioleira é uma árvore de pequeno porte, com altura de 3,5 a 8 m, copa pequena, de ramificação assimétrica e de folhagem

compacta. As folhas são inteiras, ovadas, oblongas ou elípticas, coriáceas, duras, de pecíolos curtos, de cor verde-escura-brilhante na página superior e verde-amarelada na página inferior, medindo de 5 a 18 cm de comprimento por 2 a 7 cm de largura, quando adultas (SANTOS, 2010; BROGLIO-MICHELETTI *et al.*, 2009).

A graviola nos últimos anos vem sendo muito pesquisada devido ao isolamento e caracterização de diversas classes de substâncias com atividades químicas e farmacológicas. Ela contém substâncias naturais bioativas que apresentam importantes atividades biológicas, tais como: citotóxica, antitumoral, pesticida, vermífuga, antimicrobiana, imunossupressora, antiemética, inibidora do apetite e antimalárica. Todas as partes da gravioleira são usadas em medicamentos naturais nos trópicos, inclusive a casca, folhas, raízes, fruto e sementes. São atribuídas propriedades diferentes e usos às partes diferentes da árvore (ALVES *et al.*, 2012; BROGLIO-MICHELETTI *et al.*, 2009).

Muitos componentes bioativos e fitoquímicos da graviola têm sido estudados por cientistas desde 1940, geralmente a fruta e o seu suco são utilizados para problemas de verminoses e parasitas, baixar febre, aumentar a produção de leite materno após o parto (período de lactação), e como um adstringente para disenteria. As sementes esmagadas são usadas como um vermífugo e contra parasitas internos e externos. Alguns estudos *in vitro* têm demonstrado que folhas, caule, raiz, talo e extratos de semente da graviola têm função antibacteriana sobre numerosos patógenos e que o caule tem propriedades antifúngica e antiparasitária (ALVES *et al.*, 2012; SANTOS, 2010).

Em um estudo feito por Broglio-Micheletti *et al.*, (2009), com o extrato das sementes de *A. muricata* L. a 2%, obteve-se 100% de eficiência de controle em testes de imersão em laboratório. Outro experimento realizado por SANTOS (2010), também realizado *in vitro* utilizando extrato de sementes da *A. muricata* L, se mostrou muito eficiente no controle do *R.(B.) microplus*. Na prática, após a aplicação do produto nos animais, pode-se observar uma diminuição da população de carrapatos.

3 - METODOLOGIA

O bioensaio foi conduzido no Laboratório de Parasitologia do Hospital Escola da faculdade Vértice – Univértix.

Após a coleta das sementes de graviola (*A. muricata*), foi realizada a secagem em estufa a 40-45°C, durante 48 horas e, em seguida, foram trituradas para obtenção de pó fino, o qual foi imerso em álcool etílico hidratado (92,80 INPM), na proporção de 1 parte de pó para 3 partes do solvente, durante 48 horas. Após esse período, foi feita a filtragem e a evaporação do solvente em banho-maria na temperatura de 50°-55°C até eliminação total do solvente.

Para preparação das soluções 1g e 2g do extrato concentrado de semente de graviola foram diluídos em 100 ml de água destilada estéril, resultando em concentrações finais de 1% (10mg/ml) e 2% (20mg/ml).

As fêmeas ingurgitadas (cheias de sangue) do *R. (B.) microplus* foram coletadas de animais isentos de carrapaticida químico de contato por pelo menos 30 dias, teve-se o cuidado de separar fêmeas maiores que 5mm em comprimento. As fêmeas ingurgitadas coletadas foram acondicionadas em placas de Petri e levadas ao laboratório em caixa térmica contendo gelo, para evitar oviposição prematura e reduzir a mobilidade do parasito dentro das placas. Posteriormente, foram pesadas em balança analítica, com precisão de 0,001g.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dois tratamentos e seis repetições, considerando-se cinco fêmeas ingurgitadas por repetição.

O grupo controle foi representado por fêmeas isentas de quaisquer tratamentos (imersas em água). Os tratamentos foram compostos pelas diluições dos extratos de graviola a 1 e 2%, formando assim soluções de 100ml. Foram coletadas 90 teleóginas nas quais foram divididas em 30 fêmeas foram imersas durante 5 minutos para cada solução, secas em papel toalha e depositadas em placas de petri que foram incubados a 28°C e umidade acima de 80%. Após 16 dias os ovos foram removidos das placas, pesados e separados em grupos de 0,01mg (cerca de 200 ovos) com seis repetições para cada tratamento.

Os ovos foram colocados em tubos de vidro identificados, vedados com algodão e mantidos em estufa a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa do ar acima de 80%. Após 20 dias foi determinada a percentagem de eclosão através de amostragem.

Foram analisados os seguintes parâmetros biológicos: peso inicial das teleóginas, peso residual das teleóginas obtido pela diferença entre o peso inicial (antes do tratamento) e o final, período de postura (compreendido entre o primeiro e o último dia de postura), peso da massa de ovos, índice de produção de ovos (IPO),

percentual de eclosão, índice de eficiência reprodutiva (IER) e percentual de controle (DRUMMOND *et al.*, 1971 descrito por COSTA *et al.*, 2008).

$$\text{IPO} = \frac{\text{Peso dos ovos (g)} \times 100}{\text{Peso inicial das Fêmeas (g)}}$$

$$\text{IER} = \frac{\text{Peso dos ovos (g)} \times \% \text{ eclosão} \times 20000}{\text{Peso das fêmeas (g)}}$$

$$\% \text{ Controle} = \frac{\text{ER (controle)} - \text{ER (tratado)} \times 100}{\text{ER (controle)}}$$

A constante 20.000 corresponde ao número estimado de ovos encontrados em um grama de ovos postos pelo carrapato *R. (B.) microplus*.

Para cada parâmetro estudado, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias (teste de Tukey) em nível de 1 e 5% de probabilidade (AYRES *et al.*, 2003).

4 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

O peso médio da massa de ovos obtido no grupo tratado com o extrato da semente de graviola foi de $0,27 \pm 0,16$ g para o grupo tratamento a 1% e de $0,1 \pm 0,1$ g para o grupo tratamento a 2%, diferindo significativamente do grupo controle ($p < 0,05$), que apresentou uma postura média de $0,51 \pm 0,01$ g de ovos, como observado na Tabela 1.

Tabela1. Média e desvio padrão do peso das teleógenas (fêmeas), peso de ovos postos pelas teleógenas (após 16 dias de incubação) e índice de produção de ovos (IPO) dos grupos tratados com extrato alcoólico de semente de graviola a 1 e 2% e do grupo controle (sem tratamento).

	Peso teleógenas (g)	Peso de ovos (g)	IPO
Tratamento 1%	$2,40 \pm 0,95^a$	$0,27 \pm 0,16^a$	$11,11 \pm 3,02^a$
Tratamento 2%	$2,07 \pm 0,13^a$	$0,1 \pm 0,1^a$	$04,96 \pm 2,04^a$
Controle	$2,23 \pm 0,78^a$	$0,51 \pm 0,1^b$	$22,63 \pm 6,08^b$

Médias seguidas por letras iguais minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p > 0,05$).

Em um estudo com solução alcoólica de semente de graviola a 2% sobre teleógenas de *R. (B.) microplus*, Broglio-Micheletti *et al.* (2009) verificaram um potencial do extrato na redução do número total de posturas, com peso de ovos dos grupos tratado e controle de $0,03 \pm 0,01\text{g}$ e $0,53 \pm 0,03\text{g}$, respectivamente. Este resultado foi semelhante ao encontrado neste trabalho, sugerindo-se um potencial para utilização de extrato da semente de graviola na redução da postura de teleógenas do *R. (B.) microplus*.

Analisando-se a eficácia dos extratos alcoólicos de semente de graviola a 1 e 2% sobre o IPO de teleógenas do *R. (B.) microplus*, observou-se que não houve diferença ($p > 0,05$) entre os extratos, com IPO de 11,11%, no grupo tratamento com extrato a 1% e de 4,96% no grupo tratado com solução a 2%. Havendo diferença ($p < 0,05$) dos grupos tratados para o controle, com IPO de 22,63% (TABELA 1).

Valores maiores foram obtidos por Broglio *et al.* (2014), que encontraram um IPO de $33,6 \pm 2,27\text{g}$ utilizando extrato alcoólico de semente de graviola a 1% com $50,9 \pm 1,60\text{g}$ para o grupo controle. Já Santos (2010) encontrou resultados semelhantes quando utilizado extrato aquoso de sementes de graviola a 1%. Este autor obteve índice de produção de ovos de $33,66\% \pm 2,27$ no grupo tratado e de $50,91\% \pm 1,60$ no grupo controle (SANTOS, 2010). Estes trabalhos revelam o potencial dos dois tipos de extratos em relação à postura.

Foi observada uma redução expressiva em relação à postura utilizando-se extrato alcoólico de semente de graviola a 1%, $11,11 \pm 3,0$ no tratamento em relação ao controle, $22,63 \pm 6,08$. Resultado diferente do observado por Broglio *et al.* (2014), que não encontraram resultados importantes, ($0,42 \pm 0,03\text{g}$) em relação ao controle ($0,48 \pm 0,02\text{g}$).

Os ovos foram encubados por 20 dias a $27^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ e não eclodiram nos grupos tratados com extrato alcoólico a 1 e 2% e nem no grupo controle. Em condições laboratoriais, o período de desenvolvimento dos ovos varia de 146 dias com temperatura de $16,6^\circ\text{C}$ para 14 dias com temperatura de $36,1^\circ\text{C}$, sendo que o máximo de eclosão ocorre entre as temperaturas de $29,4$ e 35°C , e umidade relativa acima de 95% (PEREIRA, 2008).

A eclosão dos ovos somente acontece com a massa de ovos em umidade constante (MORANDO e GELINSKI, 2010). Dessa forma, frascos com água foram colocados dentro da estufa para tentar manter esta condição, no entanto, pode ter

ocorrido variação da umidade, o que explicaria a presença de alguns ovos murchos e o fato dos ovos não terem eclodido.

A quantidade de ovos em cada tubo de ensaio pode também ter influenciado no desenvolvimento dos ovos. Segundo Pereira (2008) quando a massa de ovos é grande, diminui a proporção de ovos encarquilhados, aumentando a viabilidade dos ovos.

Apesar de não ter sido possível determinar o percentual de eclosão dos ovos para calcular o índice de eficiência reprodutiva (IER) e o percentual de controle dos extratos sobre o *R. microplus*, alguns autores tem demonstrado que os extratos de semente de graviola podem ser utilizados no controle do carrapato tendo o extrato alcoólico a 1% apresentado uma eficácia de $47,9 \pm 6,14\%$ (BROGLIO *et al.*, 2014) e o extrato aquoso a 1% teve $42,20 \pm 6,14\%$ de eficiência (SANTOS, 2010). Em relação ao extrato alcoólico a 2%, Broglio-Micheletti *et al.*, (2009) evidenciaram que este foi capaz de controlar 100% dos carrapatos, pois os ovos do grupo tratado não eclodiram.

5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato alcoólico da semente de graviola (*A. muricata*) a 2 % apresentou um bom potencial para redução da postura de teleógenas do *R. (B.) microplus*, podendo ser uma alternativa promissora no controle de carrapatos de bovino. No entanto, existe a necessidade de estudos adicionais para determinar a substância, ou classe de substâncias, que possuem atividade biológica contra o carrapato.

6 - REFERÊNCIAS

ALENCAR, M.M., FRAGA, A.B., DA SILVA, A.M. Adaptação de genótipos a ambientes tropicais: Resistência à mosca-dos-chifres (*haematobia irritans*, linnaeus) e ao carrapato (*Boophilus microplus*, Canestrini) em diferentes genótipos bovinos. **Agrociência**. v.9, n.1e 2, p.579–585, 2005.

ALVES, W. V.; LORENZETTI, E. R.; GONÇALVES, F. C. Utilização de acaricidas a base de plantas no controle de *rhhipicephalus (boophilus) microplus*: uma contribuição para a produção e desenvolvimento sustentável. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v.2, n.2, p.14-25, 2012.

AMARANTE, A. F. T. Controle integrado de helmintos de bovinos e ovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, n.1, 2004.

AYRES, M., AYRES, J.R.M., AYRES, D.L., SANTOS, A.S. **Aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas**, Brasília. 2003.



AZEVEDO, D. M. M. R., ARNAUD AZEVEDO ALVES, A.A., SALES, R. O. Principais Ecto e Endoparasitas que Acometem Bovinos Leiteiros no Brasil: Uma Revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.2, n.4 p. 43–55, 2008.

BROGLIO-MICHELETTI, S. M. F.; VALENTE, E. C. N; SOUZA, L. A; DIAS, N. S; ARAUJO, A. M. N. Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. Alagoas, **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.18, n.4, p.44-48, 2009.

BROGLIO, S. M. F.; LOPES, D. O. P.; SANTOS, D. S. dos; DIAS, N. da S.; GIRÓN-PÉREZ, K.; MICHELETTI, L. B. Evaluación del control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in vivo con *Metarhizium anisopliae* y extracto de *Annona muricata*. **Magistra**, v.26, n.4, p.543-546, 2014.

CASTRO, K. N. C *et al.*, **Prospecção de plantas medicinais para controle do carrapato dos bovinos**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 95. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Meio-Norte Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Teresina, 2010.

CHAGAS, A. C. S.; FURLONG, J.; NASCIMENTO, C. B. Comportamento e ecologia de fêmeas ingurgitadas do carrapato *Boophilus microplus* em pastagem de *Brachiaria decumbens* no Brasil. **Brazil Journal Veterinary. Research and animal Science**. São Paulo, v. 38, n. 4, p. 188-191, 2001.

COSTA, F.B.; VASCONCELOS, P.S. DA S.; SILVA, A.M.M.; BRANDÃO, V.M.; SILVA, I.A. DA; TEIXEIRA, W.C.; GUERRA, R.M.S.N.; DOS SANTOS, A.C.G. Eficácia de fitoterápicos em fêmeas ingurgitadas de *Boophilus. microplus*, provenientes da mesorregião oeste do Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Parastologia Veterinária**, v.17, n.1, p.83-86, 2008.

DRUMMOND, R. O. *et al.*, Laboratory testing of insecticides for control of the winter tick. **Journal of Economic Entomology**, v.64, p.686-688, 1971.

FURLONG, J. **Carrapato: problemas e soluções**. Juiz de fora: Embrapa gado de corte. 2005, 65p.

FURLONG, J. MARTINS, J. R. S. PRATA, M. C. A. **Carrapato dos bovinos: controle estratégico nas diferentes regiões brasileiras**. Juiz de Fora: EMBRAPA-CNPGL. 6p. (Comunicado Técnico 36). 2003.

FURLONG, J., MARTINS, J. R., PRATA, M. C.A. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar?. **A Hora Veterinária** – Ano 27, nº 159, setembro/outubro/2007.

MORANDO, A. e GELINSKI, J. M. L. N. Estudos preliminares do desenvolvimento embrionário *in vitro* de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Unoesc & Ciência** – ACBS. v.1, n.1, p.23-28, 2010.

PEREIRA, A. A. **Aspectos ecológicos de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (acarina: Ixodidae) no município de Franca, nordeste de São Paulo.** Jaboticabal-SP, 2008. 106p. Tese (Doutorado) Medicina Veterinárias – Unesp.

SANTOS, T. G. B., FARIAS, N. A. R., FILHO, N. A. C., PAPPEN, F. G., JUNIOR, E. I. S. V. Abordagem sobre o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. V.29, n.1, p.65-70, 2009.

SANTOS, D. S. **Eficiência de *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK. e do extrato hexânico de *Annona muricata* L. (Annonaceae) no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CANESTRINI, 1887) (ACARI: IXODIDAE) *in vivo*.** Rio Largo, 2010. 40p. Dissertação (Graduação). Engenheiro Agrônomo. Universidade Federal de Alagoas – UFAL.

SEQUEIRA, T. C. G. O, AMARANTE, A. F. T, **Parasitologia Animal.** Animais de produção. Rio de Janeiro: EPUB, 2001.

SOUZA, A. M. **Viabilidade econômica da adoção do controle estratégico do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) em rebanhos bovinos leiteiros.** Juiz de Fora, 2012. 63p. Dissertação (Mestrado). Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados. Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF.

VALENTE, M.; BARRANCO, A.; SELLAIVE-VILLAROEL, A. B. Eficácia do extrato aquoso de *Azadiracta indica* no controle de *Boophilus microplus* em bovino. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.5, p.1341-1343, 2007.