



FACULDADE VÉRTICE – UNIVÉRTIX
SOCIEDADE EDUCACIONAL GARDINGO LTDA. – SOEGAR

TRABALHOS DE CONCLUSÃO DE CURSO

MEDICINA VETERINÁRIA – 2016/01



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

MATIPÓ, 2016.

SUMÁRIO

ATIVIDADE ACARICIDA DA <i>Geissospermum vellosii</i> NO CONTROLE DE CARRAPATOS BOVINOS	3
AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO COLOSTRO E DA EFICIÊNCIA DE COLOSTRAGEM EM BEZERROS UTILIZANDO-SE O REFRAATÔMETRO DE BRIX	15
AVALIAÇÃO DA SINCRONIZAÇÃO E CONCEPÇÃO DE NOVILHAS E VACAS RECEPTORAS DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS <i>IN VITRO</i>	29
AVALIAÇÃO DO TAMANHO DO CORPO LÚTEO E A TAXA DE CONCEPÇÃO EM RECEPTORAS DE EMBRIÕES BOVINOS.....	46
CONTAGEM BACTERIANA TOTAL E ISOLAMENTO DE <i>Staphylococcus sp.</i> EM LEITE DE CABRA CRU DA REGIÃO DE SANTA MARGARIDA-MG.....	59
COMPORTAMENTO SEXUAL DE ZEBUÍNOS: ESTUDO DE CASO	74
DETERMINAÇÃO DAS ALTERAÇÕES CITOLÓGICAS DO LÍQUIDO PERITONEAL DE EQUINOS COM SÍNDROME CÓLICA E SEU PAPEL COMO PARÂMETRO DE GRAVIDADE E ÍNDICE DE PROGNÓSTICO.....	88
DISPLASIA COXOFEMURAL EM CÃES DA RAÇA ROTTWEILER: ESTUDO DE TRÊS CASOS	6
EFEITO DA BABOSA (<i>Aloe spp.</i>) NO TRATAMENTO DE TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL EM CADELAS.....	25
EFEITOS DO TRAMADOL INTRAVENOSO EM EQUINOS: AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS CLÍNICOS, COMPORTAMENTAIS E LIMIAR NOCICEPTIVO MECÂNICO.....	42
EJACULAÇÃO RETRÓGRADA EM CÃO:RELATO DE CASO.....	58
ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO E DA SEIVA BRUTA DA <i>Jatropha multifida</i> L. CONTRA AS BACTÉRIAS <i>Staphylococcus sp.</i> E <i>Escherichia coli</i>	73
FRATURA DE OSSO SESAMOIDE PROXIMAL LATERAL EM EQUINO – RELATO DE CASO	89
INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO DE CINOMOSE E PARVOVIROSE CANINA NO HOSPITAL GARDINGO – MATIPÓ – MG.....	105
LAMINITE DECORRENTE DE SÍNDROME CÓLICA EM EQUINO – RELATO DE CASO	121
PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE ELISA PARA DETECÇÃO DAS INFECÇÕES POR <i>Neospora caninum</i> COM USO DO PEPTÍDEO RECOMBINANTE rSNcGRA1	141
PARÂMETROS ANDROLÓGICOS EM TOUROS HOLANDESES JOVENS.....	160
PESQUISA DE <i>Listeria spp.</i> EM PRESUNTOS DE DIFERENTES MARCAS COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE MATIPÓ, MINAS GERAIS	185

PRINCIPAIS CAUSAS DE CONDENAÇÃO DE FÍGADO BOVINO EM ESTABELECIMENTO SOB SERVIÇO DE INSPEÇÃO FEDERAL NA ZONA DA MATA MINEIRA	200
PRINCIPAIS AFECÇÕES ODONTOLÓGICAS EM EQUINOS REFERENCIADOS AO HOSPITAL ESCOLA VETERINÁRIO GARDINGO LTDA.	220
RELATO DE CASO – DERMATOFITOSE SECUNDÁRIA A DERMATITE ATÓPICA CANINA EM ANIMAL JOVEM.....	234

ATIVIDADE ACARICIDA DA *Geissospermum vellosii* NO CONTROLE DE CARRAPATOS BOVINOS

Acadêmica: Lucélia Vitor de Oliveira Pires

Orientador: Rogério Oliva Carvalho

RESUMO

Devido à aquisição de resistência a acaricidas e a busca por compostos que não agredem o ambiente desenvolveu-se nos últimos anos pesquisas com substâncias vegetais para o controle de carrapatos em bovinos. O presente experimento utilizou o extrato alcoólico da casca do Pau Pereira (*Geissospermum vellosii*) a 1 % e 2 % e avalia sua eficácia sobre o carrapato de bovino *Rhipicephalus (B) microplus* comparando-os com o grupo controle. Os testes foram feitos *in vitro* utilizando carrapatos livres de tratamentos por substâncias químicas por no mínimo 30 dias. Os parâmetros avaliados foram peso inicial das teleóginas, peso da massa de ovos, índice de produção de ovos, percentual de redução de ovos. O grupo tratado com extrato a 1% obteve o peso médio da massa de ovos de 0.510 g, sendo o tratado a 2% de 0,466g, diferindo do grupo controle onde apresentou uma postura 0,641 g. O índice de produção de ovos nos grupos a 1%, 2% e grupo controle, obteve respectivamente os seguintes resultados 28.30%, 25.65% e 34.40%, demonstrando que o extrato é eficiente no controle de carrapatos em bovinos.

PALAVRAS-CHAVE: Carrapatos, bovinos, extrato vegetal, pau-pereira, *Geissospermum vellosii*

1. INTRODUÇÃO

Os carrapatos são ectoparasitos que pertencem ao filo Artrópode, classe Arachnida, ordem Acari e famílias Ixodidae ou Argasidae, e apresentam quatro estágios de desenvolvimento: ovo, larva, pupa e adulto (TAYLOR *et al.*, 2010).

Os principais carrapatos de bovinos são do gênero *Boophilus*, sendo o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a espécie mais importante (BOWMAN, 2010). Além do seu efeito direto sobre o animal promovendo desconforto, o *B. microplus* é um vetor importante na transmissão de *Babesia bigemina*, *Borrelia theileri* e *Anaplasma marginale* na América do Sul, e a transmissão desses agentes pode ocorrer em todos os estágios parasitários do carrapato (TAYLOR *et al.*, 2010).

Os sintomas das doenças transmitidas por carrapatos normalmente são sazonais, principalmente em meses quentes do ano (FORTES 2004). O controle de carrapatos encontrados em bovinos baseia-se no emprego de substâncias químicas (TAYLOR *et al.*, 2010). No entanto, há um aumento considerável em pesquisas

envolvendo o uso de extratos vegetais no controle desses ectoparasitos (PERPÉTUA *et al.*, 2009).

Segundo Chagas (2004) o desenvolvimento de resistência ao princípio ativo de produtos químicos e a preocupação da sociedade com a produção de resíduos químicos nos produtos de origem animal estão estimulando a busca por produtos de origem natural para o controle de ectoparasitos.

A pereirina, nome dado ao princípio ativo extraído da casca da árvore *Geissopermum vellosi*, é utilizada na medicina alternativa para o tratamento de algumas doenças, sua ação fisiológica mais importante é sobre a temperatura, o que justifica seu emprego no tratamento de diversas febres (ALMEIDA *et al.*, 2009).

Para o controle do *R. (B.) microplus* são utilizados atualmente compostos acaricidas (PEREIRA *et al.*, 2008), porém, o desenvolvimento de resistência é um problema frequente (SANTOS *et al.*, 2009). Nesse contexto, surge o uso de extratos vegetais como alternativa ao controle da população do *R. (B.) microplus* (MICHELETTI *et al.*, 2009).

O objetivo deste trabalho é avaliar a atividade carrapaticida *in vitro* do extrato hidroalcoólico da casca de *Geissopermum vellosi*, conhecida popularmente como Pau-pereira, sobre carrapatos de bovinos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Carrapato

Os carrapatos do subgênero *Boophilus* são caracterizados pela presença de palpos, hipostômio e peças bucais curtas (TAYLOR *et al.*, 2010). O macho mede cerca de 1.75 a 2 mm de comprimento por 1.05 a 1.20 mm de largura e a fêmea 2.35 a 2.85 de largura de comprimento por 1.4 a 1.5 mm de largura, mas a fêmea ingurgitada pode chegar a medir até 13 mm de comprimento por 9 mm de largura (OLIVEIRA & AMARANT, 2002).

No Brasil a espécie *Rhipicephalus (B.) microplus* é a única registrada (FORTES, 2004) e comumente é conhecida como “carrapato do boi”, embora possa parasitar outros animais domésticos e selvagens (FOREYT, 2005). O *R. (B.) microplus* pertence à classe Arachnida, subclasse Acari, ordem Parasitiformes, subordem Ixodida e família Ixodidae (BOWMAN, 2010).

De acordo com Fortes (2004) a espécie *R. (B) microplus* parasita apenas um hospedeiro. Os machos são encontrados sob as fêmeas, e estas, depois de fertilizadas e ingurgitadas desprendem-se da pele do hospedeiro e caem no solo. As fêmeas ingurgitadas recebem a denominação de teleógenas (TAYLOR *et al.*, 2010). Cada fêmea pode depositar de 2000 a 4500 ovos, dependendo das condições de temperatura e umidade relativa do ar (SLOSS *et al.*, 1999). O período de postura dura de 15 a 20 dias, e no fim, a fêmea morre (BOWMAN, 2010).

As larvas recém-eclodidas medem 0.5mm de comprimento, após alguns dias as larvas sobem nos capins e aguardam a passagem do hospedeiro. sendo resistentes ao meio externo (GONZALES citado por GODOI & SILVA 2009). Ao infestarem o hospedeiro, alimentam-se e mudam para a fase de ninfas e depois estágio adulto. Um período aproximado de 3 semanas é necessário, desde a fixação até o ingurgitamento da fêmea adulta. O período total de parasitismo varia de 17 a 52 dias, e ainda que presentes o ano todo, o maior nível de infestação é no verão (BOWMAN, 2010).

2.2. Prejuízos causados pelo carrapato

O *R. (B) microplus* é um importante transmissor de agente causador de doenças em animais como *Babesia bigemina*, *Babesia bovis*, *Anaplasma marginale* e *Borrelia theileri* na América do Sul e a transmissão pode ocorrer em todos os estágios parasitários. Microrganismos como a *Babesia spp.* podem passar pela barreira transovariana e permanecer no corpo dos carrapatos por até cinco gerações (TAYLOR *et al.*, 2010).

A infestação pelo *R. (B). microplus* acarreta grandes prejuízos econômicos aos produtores e ao país, sendo que esses prejuízos podem ser classificados em diretos e indiretos (FERRETO, 2013). A ação direta dos carrapatos sobre o animal promove danos permanentes ao couro devido a reação inflamatória proveniente da fixação do carrapato, baixa conversão alimentar, predisposição ao surgimento de miíases, redução da natalidade, perda de peso e até morte do animal. Indiretamente o principal prejuízo causado pela ação do *R. (B) microplus* está relacionado com a transmissão de agentes infecciosos responsáveis pelo desenvolvimento da Tristeza Parasitária Bovina (GONÇALVES, 2000)

Segundo o Ministério da Agricultura o carrapato bovino é responsável por um prejuízo de 1 bilhão de dólares anuais, 40% deste valor é atribuído à diminuição da produção leiteira. De acordo com o Sindicato Nacional da Indústria de Produtos de Origem animal (SINDAN) o país gasta anualmente 13,8 milhões de dólares na tentativa de controlar a infestação de carrapatos através da compra de carrapaticidas e do investimento em banheiros de imersão e mão-de-obra (FONSECA, 2012)

2.3. Controle de carrapatos

Desde a década de 50 o único método eficaz contra os carrapatos bovinos é o uso de acaricidas, porém, trata-se de um método dispendioso e agressivo ao ambiente e à saúde pública (JUNIOR *et al.*, 2012). Atualmente são empregados para o controle do *R. (B) microplus* diversos medicamentos anti-parasitários a base de amitraz, organofosforados, piretróides e lactonas macrocíclicas (PEREIRA *et al.*, 2008).

A troca dos princípios ativos tem sido uma necessidade constante para o controle do carrapato bovino devido o surgimento de populações resistentes. (SANTOS *et al.*, 2009). A resistência aos carrapaticidas, o alto custo de mão de obra, a presença de resíduos tóxicos na carne e no leite e a contaminação do ambiente motivaram estudos com métodos alternativos no controle de carrapatos. A utilização de extratos vegetais para o controle da população do carrapato *R. (B) microplus* vem se desenvolvendo como uma alternativa eficiente, barata e não agressiva ao ambiente (MICHELETTI *et al.*, 2009; MICHELETTI *et al.*, 2010; TERASSANI *et al.*, 2012).

Na literatura há relatos de diversas pesquisas que avaliam a atividade de extratos vegetais no controle de carrapatos e este é o primeiro trabalho que avaliou a atividade carrapaticida *in vitro* da pau pereira (*Geissospermum vellosii*) sobre *R. (B) microplus*, carrapatos de bovinos.

2.4. Pau Pereira (*Geissospermum vellosii*)

O Pau-Pereira é uma árvore da família Apocynaceae pertencentes ao gênero *Geissospermum* (ALMEIDA *et al.*, 2009). Era utilizada pelos indígenas contra impaludismo, inapetência, má digestão, tontura e prisão de ventre. A pereirina, um

alcaloide extraído da casca da árvore de Pau-Pereira (*Geissospermum vellosi*), é o princípio ativo da planta. A sua principal aplicação é na cura de febres e erisipeloides (SANTOS & PINTO, 2013). A casca do caule da *G. vellosii* (Pau-pereira) é rica em alcaloides com intensa atividade antiacetilcolinesterásica (LIMA *et al.*, 2009).

3. METODOLOGIA

O bioensaio foi conduzido no Laboratório de Parasitologia do Hospital Escola da faculdade Vértice – Univértix. A coleta foi realizada no Córrego dos Matas, localizado no município de Pedra Bonita-MG, no início da manhã. O material foi condicionado em um saco plástico até a realização do experimento.

Após a coleta das cascas da *Geissospermum vellosi* foi realizada a secagem em estufa a 40-45°C, durante 48 horas e, em seguida, foi triturada para obtenção de pó fino, o qual foi imerso em álcool etílico hidratado 70% (Figura 1), 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 45°C até eliminação total do solvente.



Figura 1- Imersão da casca de *Geissospermum vellosii* em álcool etílico hidratado 70%

Para preparação das soluções 1 g. e 2 g do extrato concentrado da casca da *Geissospermum vellosi* foram diluídos em 100 mL de água destilada estéril, resultando em concentrações finais de 1% (10 mg/mL) e 2% (20 mg/mL) (Figura 2).



Figura 2- Preparação das soluções de 1% e 2% do extrato da casca da *Geissospermum vellosii*

As fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* foram coletadas de animais isentos de carrapaticida químico de contato por pelo menos 30 dias, tendo-se o cuidado de separar fêmeas maiores que 5 mm em comprimento. As fêmeas ingurgitadas coletadas foram acondicionadas em placas de Petri (Figura 3) 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 0,001 g.



Figura 3- Fêmeas acondicionadas em placa de Petri.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 2 tratamentos e um grupo controle, sendo três repetições por grupo, 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 do extrato da casca de *Geissopermum vellosi* 1 e 2%, formando assim soluções de 100 mL, nas quais 30 fêmeas foram imersas durante 5 minutos, 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 separados, pesados e separados em grupos de 0,10 mg, (cerca de 270 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 ± 1°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 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).

$$IER = \frac{IPO \times \frac{\text{Peso dos ovos (g)} \times 100}{\text{Peso dos ovos (g)} \times \% \text{ eclosão} \times 20000}}{\text{Peso das fêmeas (g)}}$$

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

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) a nível de 1 e 5% de probabilidade (AYRES *et al.*, 2003).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

No início da pesquisa as teleóginas dos grupos de tratamento a 1%, 2% e controle foram pesadas e distribuídas de forma a obter médias semelhantes em cada grupo, como pode ser observado na tabela 1. O peso médio da massa de ovos alcançada no grupo tratado com 1% do extrato da casca de *Geissospermum vellosii* foi de 0.510 g, no tratamento a 2% foi de 0.466 g, diferindo do grupo controle que foi de 0.641 g (TABELA 1).

Tabela 1. Média do peso das teleóginas (fêmeas), peso de ovos postos pelas teleóginas (após 16 dias de incubação) e índice de produção de ovos (IPO), índice de eficiência reprodutiva (IER) e percentual de controle do grupo controle e grupos tratados com extrato da casca de *Geissospermum vellosii* a 1 e 2%.

	Peso teleóginas (g)	Peso de ovos (g)	IPO	IER	% controle
Controle	1,86	0,641	34,40%	13.760	—
Tratamento 1%	1,80	0,510	28,30%	8.721	36,62%
Tratamento 2%	1,81	0,466	25,65%	5.660	58,80%

Quando comparado o peso dos ovos dos grupos tratados com o grupo controle foi observado uma redução de aproximadamente 21% do peso médio da massa de ovos no grupo tratamento com extrato da casca de *G. vellosii* a 1% e de 27% no grupo tratamento com extrato da casca de *G. vellosii* a 2%. Sendo que

apenas o grupo tratado com extrato da casca de *G. vellosii* a 2% diferiu significativamente do grupo controle ($p < 0,05$).

No presente trabalho o índice de produção de ovos (IPO) para o grupo controle foi de 34.40%, e para os grupos tratamento a 1% e 2% foram, respectivamente, 28.30% e 25.65%, demonstrando a redução na conversão do peso das fêmeas em ovos em ambos os grupos tratados (tabela 1). Esta redução na produção de ovos pode ter ocorrido pela ação do extrato sobre as teleóginas.

O índice de eficiência reprodutiva mostrou uma maior produção de larvas no grupo controle (13.760) do que nos grupos tratados com 1% e 2% do extrato da casca de *Geissospermum vellosii* que foram de 8.721 e 5.660 com demonstrado na tabela 1.

Segundo Lima *et al.* (2009) a casca do caule da *G. vellosii* (Pau-pereira) é rica em alcaloides com intensa atividade antiacetilcolinesterásica. De acordo com Araújo *et al.* (2011) a geissospermina é o principal alcaloide presente nesta planta, apresentando afinidade pela acetilcolinesterase humana, sendo que o mecanismo de ligação não está esclarecido.

Inseticidas que inativam a acetilcolinesterase, como os organofosforados, são utilizados no controle de carrapatos, causando hiperexcitabilidade, paralisia espástica e morte destes parasitas (SPINOSA *et al.*, 2011)

Os resultados mostraram um baixo percentual de controle nas concentrações testadas sendo de 36,62% para o grupo tratado com extrato da casca de *G. vellosii* a 1% e de 58,8% no grupo tratado com extrato da casca de *G. vellosii* a 2%

Este é o primeiro relato da utilização da *G. vellosii* no controle carrapatos *R. (B.) microplus*. Também não foi testado em nenhum outro artrópode, apesar da utilização empírica para o controle de pulgas em cães e de carrapatos em humanos. O baixo efeito deve-se a baixa concentração do extrato utilizado. Novos estudos são necessários a fim de determinar a melhor concentração para o controle de carrapatos.

5. CONCLUSÃO

Com base nos resultados deste trabalho, pode-se concluir que tanto o extrato da casca de *Geissospermum vellosii* na concentração de 1% e 2% são capazes de reduzir a produção de ovos pelas teleóginas, sendo que no tratamento a 2% a

redução foi mais significativa. Porém, se faz necessário mais estudos com o objetivo de determinar um extrato mais concentrado para um controle mais efetivo de carrapatos em bovinos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA M.R. *et al.* Pereirina: o primeiro alcaloide isolado no Brasil?. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 19(4): 942-952, Out./Dez. 2009
- ARAÚJO, J.Q.; LIMA, J.A.; PINTO, A.C. *et al.* Docking of the alkaloid geissospermine into acetylcholinesterase: a natural scaffold targeting the treatment of Alzheimer's disease **J. Mol. Model.** v.17, n.1401–1412, 2011
- AYRES, M., AYRES, J.R.M., AYRES, D.L., SANTOS, A.S. **Aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas**, Brasília. 2003.
- BOWMAN, D.D. **Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
- CHAGAS, A. C.S. Controle de parasitos utilizando extratos vegetais. XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & I Simpósio Latino-Americano de Ricketisioses. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, n.1, 2004.
- 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. 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.
- Eficácia de fitoterápicos em fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*, provenientes da mesorregião oeste do Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.17, n.1, p.83-86, 2008.
- FERRETO, R. **Revisão de Literatura sobre *Rhipicephalus (B) microplus***. 46f. Monografia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2013.
- FONSECA, L.A. Impactos econômicos causados pela infestação de carrapatos em bovinos e o controle estratégico. **Revista Pro Campo**, 39 ed. 2012.
- FOREYT, W.J. **Parasitologia Veterinária: Manual de Referência**. 5 ed. São Paulo: Roca, 2005.
- FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. 4.ed. ver. e ampl. São Paulo, 2004.
- GODOI, C.R., SILVA, E.F.P. Carrapato *Boophilus microplus* e impacto na produção animal - Revisão de literatura. **PUBVET**, Londrina, v. 3, n. 22, Jun, 2009.
- GONÇALVES, P. M. Epidemiologia e controle da tristeza parasitária bovina na região sudeste do Brasil. **Revista de Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.1, p.187-194, 2000.

JUNIOR, I.S.V.; SEIXAS, A.; MASUDA A. Pesquisa para uma vacina contra carrapato. **Tópicos Avançados em Entomologia Molecular - Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular**. 2012.

LIMA J.A., COSTA R.S., EPIFÂNIO R.A., CASTRO N.G., ROCHA M.S.; PINTO A.C. Geissospermum vellosii stem bark: anticholinesterase activity and improvement of scopolamine-induced memory deficits. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. V.92, p.508-513, 2009.

MICHELETTI, S. M. F. B. *et al.* Ação de extrato e óleo de nim no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.19, n.1, p.44-48, 2010.

MICHELETTI, S. M. F. B. *et al.* Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.18, n.4, p.44-48, out.-dez. 2009.

OLIVEIRA, T.C.G. e AMARANTE, A.F.T. **Parasitologia Animal - Animais de Produção**. 1ª edição. Editora de Publicações Biomédicas Ltda., Rio de Janeiro, 2002.

PEREIRA, J.R. *et al.* Práticas de manejo para o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) em propriedades localizadas na região de Pindamonhangaba, vale do paraíba, São Paulo. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.75, n.3, p.371-373, 2008.

PERPÉTTUA, *et al.* Eficácia do óleo de nim (*Azadirachta Indica*) no controle do carrapato do cão (*Rhipicephalus sanguineus*). **VI EPCC Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar**, Paraná, Brasil, 2009.

SANTOS, T. R. B. *et al.* 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, N. P; PINTO, A. C. A mata é sua farmácia – a pesquisa de plantas brasileiras para o controle de doenças tropicais no século XIX. **Revista virtual** Acesso em 03 de dez. 2015.

SLOSS, M.W. *et al.* **Parasitologia Clínica Veterinária**. 6 ed. São Paulo: Manole, 1999.

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

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, Richard. **Parasitologia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

TERASSANI, E. *et al.* Efeito do extrato de *Azadirachta indica* em carrapatos (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*). **Arquivo de Ciências Veterinária e Zoologia da UNIPAR**, v.15, n.2, p.197-200, 2012.

AValiação DA QUALIDADE DO COLOSTRO E DA EFICIÊNCIA DE COLOSTRAGEM EM BEZERROS UTILIZANDO-SE O REFRAtÔMETRO DE BRIX

Acadêmicos: Luan Emerick Faria e Salvador Oliveira Sabino

Orientador: Paulo César Amorim Amorim

RESUMO

A adequada transferência da imunidade passiva para os bezerros recém-nascidos via colostro, é, sem dúvida, essencial para a prevenção de doenças e sobrevivência dos neonatos ruminantes nas primeiras semanas de vida. Nesta fase os bezerros são totalmente dependentes dos anticorpos colostrais visto que, a placenta de ruminantes não permite a passagem de imunoglobulinas. O fornecimento do colostro com baixo teor de anticorpos esta associado a uma maior morbidade e mortalidade na fase de cria, além de comprometer o desenvolvimento e produtividade futura. Com o objetivo de determinar a qualidade do colostro e a eficiência de colostragem em bezerros, 32 amostras de colostro de vacas e 32 amostras de soro sanguíneo dos respectivos neonatos, foram avaliadas em 7 propriedades leiteiras no município de Matipó e região utilizando-se o refratômetro de brix. Em todas as propriedades avaliadas os recém-nascidos ingeriram o colostro através de mamadeira em até 6 horas após o nascimento. O volume fornecido variou de 2 a 6 litros. O colostro foi considerado de boa qualidade quando apresentou valores acima de 21% de brix. Já a colostragem foi considerada satisfatória quando os resultados da avaliação do soro sanguíneo dos bezerros foram superiores a 8,4% de brix. Das amostras de colostro avaliadas, 10 (31,2%) apresentaram resultados inferiores aos estabelecidos. Dos 32 bezerros avaliados 11 (34,3%) apresentaram resultados inferiores a 8,4% de brix.

PALAVRAS-CHAVE: bezerros, colostragem, refratômetro de brix

1. INTRODUÇÃO

A produção de leite no Brasil é uma atividade que vem se especializando nos últimos anos e a busca por uma maior eficiência produtiva é essencial para o crescimento seu. Sabe-se que a criação de bezerros representa um grande desafio em função dos altos custos envolvidos e da maior susceptibilidade desses animais a doenças infecciosas. Fatores como a colostragem, ambiente de criação e nutrição são pontos chaves para o sucesso nesta fase (GASPARELLI, 2009).

O colostro é o primeiro alimento fornecido ao bezerro após o nascimento. Além de rico em nutrientes, contém imunoglobulinas que são fundamentais para prevenção de doenças infecciosas nas primeiras semanas de vida. O sucesso na colostragem depende de uma série de fatores como o teor de imunoglobulinas, o volume ingerido e o tempo de fornecimento após o nascimento. Falhas no processo

de colostragem estão associadas a uma maior incidência de diarreias, pneumonias e mortalidade até os 60 dias de idade (FEITOSA, 2010).

A utilização de um colostro de boa qualidade é um ponto fundamental para o sucesso na transferência da imunidade passiva, que associado a nutrição e sanidade adequada resultarão na menor incidência de doenças infecciosas e mortalidade durante a fase de cria (FEITOSA, 2006).

Atualmente estão disponíveis vários métodos para avaliar a qualidade do colostro e a eficiência de colostragem. Dentre eles, o refratômetro de brix tem se mostrado uma ferramenta prática e barata, que pode ser utilizada na propriedade por funcionários adequadamente instruídos (QUIGLEY, 2013).

Portanto, objetiva-se com este trabalho avaliar a qualidade do colostro e a eficiência na transferência de imunoglobulinas em bezerros, utilizando-se o refratômetro de brix em propriedades leiteiras no município de Matipó, MG e região.

É um trabalho de grande relevância, pois a eficiente criação de bezerras é um ponto crucial para o sucesso da atividade leiteira.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 SISTEMA IMUNUNOLÓGICO DO BEZERRO

Os neonatos ruminantes são expostos a um período de alta susceptibilidade à infecções que se estende desde o nascimento até desenvolverem um sistema imunológico competente. A susceptibilidade a infecções nesta fase deve-se em parte a placenta do tipo sindesmocorial, que não permite a passagem transplacentária de anticorpos (RADOSTITS *et al.*, 2000). A placenta permite a passagem de nutrientes essenciais para o desenvolvimento do feto durante o período gestacional, como aminoácidos, glicose, e vitaminas (SAMUELSON, 2007). Nos bovinos existe uma barreira que separa o sangue fetal do sangue materno que impede a passagem dos anticorpos e hormônios garantindo uma proteção ao feto contra o reconhecimento materno como um corpo estranho. (ROA; SMORK; PIETRO, 2012).

Nas primeiras semanas de vida até desenvolverem um sistema imunológico eficiente, os neonatos dependem de anticorpos de origem materna transferidos através do colostro (EDWARDS *et al.*, 1982). Além de sua função na imunidade neonatal, o colostro também é uma importante fonte de proteínas, carboidratos, lipídeos, vitaminas e sais minerais (MACHADO NETO, 2001). Além disso, contém

hormônios, fatores de crescimento e enzimas, importantes para maturação do aparelho digestório e desenvolvimento do recém-nascido (ODLE *et al.*, 1996).

Os anticorpos são essenciais na defesa do neonato contra agentes infecciosos nas primeiras semanas de vida, quando o sistema imune celular ainda não está completamente desenvolvido. As principais imunoglobulinas presentes no colostro são: IgG, IgM e IgA. As IgGs são monômeros e por serem moléculas pequenas, circulam através da corrente sanguínea e têm como principal função a identificação e combate a patógenos. As IgMs são conhecidas como a primeira linha de defesa do organismo contra agentes infecciosos. As IgAs são dímeros e permanecem na parede intestinal protegendo a mucosa contra invasão de agentes bacterianos (LUCCI, 1989; QUIGLEY, 2013). A concentração de anticorpos no colostro é bastante variável entre os animais. Sabe-se que primíparas e vacas que produzem volumes elevados de leite tendem a apresentar uma menor concentração de imunoglobulinas (BOLZAN *et al.*, 2010).

Quando os neonatos não conseguem absorver quantidades suficientes de anticorpos colostrais desenvolvem uma condição chamada falha na transferência da imunidade passiva (FTIP) (BRIGNOLE & STOTT, 1980; FEITOSA, 1999). Existem pesquisas que apontam um alto índice de FTIP sendo que em alguns rebanhos estes valores podem chegar a 40% dos recém-nascidos (PAIVA, 2006). O diagnóstico de FTIP é importante para avaliação da eficiência no processo de colostragem e também para identificação e acompanhamento de animais com maior susceptibilidade a processos infecciosos (ROCHA, 2015).

2.2 EFICIÊNCIA DE COLOSTRAGEM

Diversos fatores podem interferir no sucesso da colostragem. Dentre eles estão incluídos a qualidade do colostro, quantidade fornecida e o tempo entre o nascimento e o fornecimento. A qualidade do colostro é determinada pela concentração de imunoglobulinas e pela contaminação bacteriana. Dentre os fatores que estão associados à menor quantidade de anticorpos destacam-se a ocorrência de mastites no período seco, curto período de descanso após a secagem, produção de volumes elevados de colostro e nutrição inadequada. Um colostro de boa qualidade deve apresentar um teor de anticorpos superior a 50 mg/ml. A contagem bacteriana também exerce grande influência na qualidade do colostro. A

contaminação por patógenos a partir da glândula mamária e também pela manipulação e armazenamento inadequado podem interferir na absorção intestinal de imunoglobulinas uma vez que as bactérias ligam-se aos anticorpos no lúmen intestinal impedindo sua absorção (STEWART *et al.*, 2005). Além disso, favorecem a ocorrência de diarreias nesta fase. Recomenda-se que o colostro tenha uma contagem bacteriana total inferior a 100.000 UFC/ml (GODDEN, 2008) para ser fornecido ao bezerro ou congelado.

Em relação a quantidade a ser fornecida, segundo TIZARD (2002) os bezerros devem ingerir um volume de 10% do peso vivo de colostros bons. O tempo entre o nascimento e a ingestão deve ser inferior a 8 horas, pois, após esse período há uma considerável redução na capacidade de absorção de imunoglobulinas. Sabe-se que 12 horas após o nascimento a capacidade de absorção intestinal reduz em 50% e após 24 horas não há mais absorção de anticorpos (TIZARD, 2002).

2.3 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO COLOSTRO E DA EFICIÊNCIA DE COLOSTROGEM

A qualidade do colostro pode ser avaliada através de métodos diretos que determinam a concentração de anticorpos ou de forma indireta. A eletroforese e imunodifusão radial simples são exemplos de avaliações diretas que permitem quantificar com precisão o teor de imunoglobulinas, mas não são viáveis para uso em nível de campo (LANG, 2006).

Dentre os métodos de avaliação indireta destaca-se o colostrômetro e o refratômetro de brix. Ambos podem ser utilizados na propriedade por funcionários adequadamente instruídos e são de baixo custo (TIZARD, 2002). O colostrômetro (hidrômetro) correlaciona a densidade do colostro com a concentração de imunoglobulinas. No entanto, a avaliação por esse método é muito susceptível a falhas quando a temperatura da amostra não está adequada ao equipamento, podendo subestimar ou superestimar os níveis de imunoglobulinas. Já o refratômetro de brix possibilita a avaliação indireta do teor de imunoglobulinas independente da temperatura da amostra. O funcionamento do refratômetro consiste na passagem de um feixe de luz pela lente do equipamento e quanto essa luz é refratada durante a mensuração (FERRANTE, 1996). A porcentagem de brix é uma medida da concentração de sacarose em líquidos como suco de frutas, melão e

vinho. Quando utilizado em líquidos que não contém sacarose, há uma alta correlação entre a porcentagem de brix e o teor de sólidos totais do líquido (QUIGLEY, 2013). Assim, na avaliação do colostro a porcentagem de brix pode ser correlacionada com o teor de imunoglobulinas. Um valor superior a 21% de brix sugere que o colostro esta adequado para o fornecimento (> 50 mg/ ml imunoglobulinas) (QUIGLEY, 2013).

Em relação à avaliação da transferência da imunidade passiva estão disponíveis métodos de avaliação direta de anticorpos no soro sanguíneo (eletroforese, imunodifusão) e métodos de avaliação indireta (determinação da proteína total e dosagem de gamaglutamiltransferase) que são mais utilizados em função do menor custo e maior praticidade (DEELEN, 2014).

A determinação da proteína sérica total entre 24 e 48 horas após o nascimento apresenta grande correlação com o teor de imunoglobulinas ingeridas uma vez que, neste período a proteína consumida é em maior parte derivada de imunoglobulinas. Tanto o refratômetro de proteínas quanto o refratômetro de brix podem ser utilizados para esta avaliação. No entanto, o refratômetro de brix apresenta a vantagem de possibilitar também a avaliação da qualidade do colostro (FEITOSA *et al.*, 2001; PAULETTI *et al.*, 2002; QUIGLEY, 2013).

2.4 INFLUÊNCIA DA COLOSTRAGEM NA OCORRÊNCIA DE DOENÇAS DURANTE A FASE DE CRIA

A adequada criação de bezerros representa um grande desafio acompanhado de um elevado gasto financeiro, uma vez que estes animais ainda não estão em fase produtiva. No entanto, esses animais representam o futuro do plantel, pois irão substituir as atuais vacas em lactação. A ocorrência de problemas nesta fase de criação aumenta a taxa de mortalidade, os gastos com medicamentos e podem interferir na produtividade futura do animal (FEITOSA, 2006).

Dentre as doenças infecciosas que acometem bezerros durante a fase de cria destacam-se as diarreias e broncopneumonias. Ambas apresentam causas multifatoriais, mas sabe-se que a colostragem inadequada é um importante fator predisponente. Os bezerros apresentam em sua microbiota intestinal microrganismos em constante equilíbrio. Quando a transferência da imunidade passiva não é satisfatória há uma menor eficiência do sistema imunológico em

combater os patógenos intestinais aumentando o risco de diarreias (COELHO E CARVALHO, 2006).

A ocorrência de broncopneumonias também apresenta uma elevada correlação com a eficiência de colostragem. A inadequada transferência de anticorpos colostrais favorece a ocorrência de infecções respiratórias pois, nestas situações há um declínio mais rápido no nível de anticorpos circulantes aumentando a susceptibilidade a patógenos no aparelho respiratório em uma fase onde o animal ainda não desenvolveu completamente a imunidade celular (CARDOSO; SFORSIS; SCARCELLI, 2002).

3. METODOLOGIA

Inicialmente foi realizado um levantamento das propriedades leiteiras no município de Matipó para a seleção de vacas em período pré-parto e parto para a composição da população deste estudo. Dessa forma, foram avaliadas 32 vacas de raças girolando e mestiças e seus respectivos bezerros, em sete propriedades, no período de dezembro de 2015 a abril de 2016. As vacas selecionadas foram acompanhadas durante a primeira ordenha e os neonatos durante a ingestão do colostro. Foi utilizado um questionário para auxiliar na coleta de informações sobre o peso dos recém-nascidos, volume de colostro ingerido e o tempo decorrido entre o nascimento e a ingestão.

Obtenção do colostro

Logo após o parto e ordenha completa do colostro, uma amostra de aproximadamente 100 mL foi coletada de todas as glândulas mamárias funcionais. As amostras obtidas foram identificadas, armazenadas sob refrigeração e transportadas para o Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Faculdade Vértice – Univértix.

Avaliação dos Teores de Imunoglobulinas

Utilizando uma pipeta, foram adicionadas 2 gotas das amostras de colostro ao refratômetro de brix óptico para obtenção da porcentagem de brix que se correlaciona com o teor de imunoglobulinas. A leitura foi realizada com as amostras à temperatura ambiente.

Avaliação da Eficiência de Colostragem

Amostras de sangue dos bezerros foram coletadas entre 24 e 48 horas após a ingestão do colostro (QUIGLEY, 2013). Para obtenção das amostras realizou-se punção da veia jugular com utilização de agulhas 25 x 0,8 mm em tubos sem anticoagulante. As amostras foram identificadas, armazenadas em refrigeração e posteriormente transportadas para o Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Faculdade Vértice – Univértix.

No laboratório as amostras foram centrifugadas para separação do soro sanguíneo. Em seguida 2 gotas do soro foram adicionadas ao refratômetro e a porcentagem de brix obtida foi correlacionada ao teor de imunoglobulinas circulantes.

Análise e processamento dos dados

Os dados obtidos foram comparados com valores de referência disponíveis na literatura. Um colostro foi considerado de boa qualidade quando o resultado foi superior a 21% de brix. Em relação à eficiência de colostragem, valores acima de 8,4% de brix sugerem que a transferência da imunidade passiva foi eficiente (QUIGLEY, 2013).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram avaliadas amostras de colostro em refratômetro de brix de 32 vacas entre primíparas e múltiparas de aptidão leiteira em sete propriedades rurais no município de Matipó e região. A qualidade do colostro mensurada por meio do refratômetro de brix considerou um colostro de boa qualidade quando os valores foram superiores a 21% de brix (QUIGLEY, 2013).

Das amostras avaliadas, 31,2% apresentaram resultados inferiores ao estabelecido pela literatura conforme descrito na tabela 1. Baixos níveis de anticorpos em colostro apresentam etiologia multifatorial. Fatores como período seco inferior a 60 dias, nutrição inadequada, mastites no pré-parto e altos volumes de colostro produzido estão relacionados à menor qualidade. Sabe-se que primíparas também podem apresentar um colostro com baixo teor de imunoglobulinas em

função do menor tempo exposição a patógenos quando comparado a múltíparas (TIZARD, 2002).

Tabela 1: Caracterização de 32 amostras de colostro avaliadas por refratômetro de brix em 7 propriedades leiteiras no município de Matipó e região.

PROPRIEDADES	Nº DE ANIMAIS AVALIADOS	AMOSTRAS DE COLOSTRO INFERIORES A 21% DE BRUX	% DE COLOSTROS INFERIORES A 21% DE BRUX	% DE COLOSTROS SUPERIORES A 21% DE BRUX
A	2	0	0	100
B	6	2	33,4	66,6
C	3	2	66,7	33,3
D	8	2	25	75
E	3	0	0	100
F	8	3	37,5	62,5
G	2	1	50	50
TOTAL 7	32	10	31,2	68,8

Após o nascimento 32 bezerros ingeriram o colostro em até 6 horas após o parto. O volume fornecido variou de 2 a 6 litros. As amostras de soro sanguíneo foram avaliadas entre 24 e 48 horas após a ingestão do colostro. A transferência da imunidade passiva foi considerada satisfatória quando os valores obtidos foram superiores a 8,4% de brix (QUIGLEY, 2013). Dos 32 animais avaliados 11 apresentaram resultados inferiores a 8,4% de brix totalizando 34,3 % dos bezerros avaliados conforme descrito na tabela 2. Apesar da elevada porcentagem de falha no processo de colostragem, dados na literatura indicam valores próximos a 40% (Paiva, 2006). Dentre os fatores relacionados à baixa transferência de anticorpos, destacam-se a ingestão de colostros com baixos teores de imunoglobulinas, ingestão em quantidades inferiores a 10% do peso vivo, fornecimento em um período superior a 8 horas após o nascimento e utilização de colostros com alta contagem bacteriana (STOTT, 1979; LUCCHI, 1989; TIZARD, 2002).

A partir dos dados descritos na tabela 2 foi possível inferir que, dos 11 bezerros que apresentaram resultados insatisfatórios com relação à eficiência de colostragem, 4 ingeriram um colostro com menos de 21% de brix em um volume inferior a 10% do peso vivo. Outros 4 animais ingeriram colostros com resultados superiores a 21% de brix, mas, em volumes inferiores a 10% do peso vivo e também apresentaram resultados abaixo de 8,4% de brix após a avaliação do soro sanguíneo. Em uma avaliação o recém-nascido ingeriu um volume superior a 10% do peso, mas de um colostro com 12% de brix e também apresentou inadequada transferência da imunidade passiva.

Foi possível observar que em 2 situações os bezerros ingeriram um colostro de boa qualidade, em um volume superior a 10% do peso vivo e ainda sim apresentaram valores abaixo de 8,4% de brix após a avaliação do soro sanguíneo. Uma possível justificativa para esse resultado é uma contagem bacteriana elevada no colostro em função de práticas de higiene inadequadas no momento da ordenha e fornecimento. Sabe-se que a alta contagem bacteriana pode comprometer a absorção de imunoglobulinas no lúmen intestinal (GODDEN, 2008).

Tabela 2: Caracterização de 32 bezerros avaliados em 7 propriedades leiteiras de acordo com o sexo, peso, volume de colostro ingerido, tempo de ingestão após o nascimento, qualidade do colostro em % de brix e eficiência de colostragem.

BEZERROS	SEXO	PESO (KG)	VOLUME INGERIDO (LITROS)	TEMPO ENTRE O NASCIMENTO E A INGESTÃO (HORAS)	QUALIDADE DO COLOSTRO (% DE BRUX)	EFICIÊNCIA DE COLOSTRAGEM (% DE BRUX)
A1	M	30	4	1	24	8,5
A2	F	25	3	1	23	9
B1	F	40	6	1	25	10
B2	F	50	6	1	25	7,5
B3	F	30	6	1	12	8
B4	F	40	6	1	26	9,5
B5	F	30	6	1	17	8,5
B6	M	30	6	1	28	14
C1	F	40	3	1	23	7,5
C2	M	45	5,5	1	20	8,5
C3	F	45	5,5	1	18	9
D1	F	40	2,5	4	24	6,5
D2	F	35	3,5	1	17	9
D3	F	30	4	4	25	10,5
D4	M	40	5	1	22	8,5
D5	F	35	2	3	19	6,5
D6	F	35	4	1	25	8
D7	F	40	3,5	2	24	8,5
D8	M	30	4	1	22	9
E1	M	25	3	1,5	25,5	11,3
E2	F	25	2	2	22	8
E3	M	30	6	4	25	14
F1	M	35	3	3	20	7
F2	M	30	5	1	22	10
F3	F	25	2	1	14	7
F4	M	35	2	1	18	6
F5	M	30	3	1	24	9
F6	F	25	2	1	23	8
F7	M	30	3	3	22	8,5
F8	F	20	2	4	24,5	11
G1	F	35	3	6	26	11
G2	M	30	3,5	6	18,5	10,5

Em quatro avaliações os recém-nascidos ingeriram um colostro de baixa qualidade, porém fornecido em um volume superior a 10% de peso vivo. Estes animais apresentaram resultados superiores a 8,4% de brix após a avaliação do soro sanguíneo, o que pode ser correlacionado a uma adequada transferência da imunidade passiva. Acredita-se que a ingestão de um volume de colostro superior a

10% do peso vivo em um curto período de tempo após o nascimento compensou a baixa concentração de imunoglobulinas no colostro fornecido (QUIGLEY, 2013).

Em uma avaliação o animal ingeriu exatamente 10% do peso vivo de um colostro com baixa concentração de imunoglobulinas e apresentou um resultado superior a 8,4% de brix após a avaliação do soro sanguíneo. Considerando as informações disponíveis na literatura não foi possível encontrar uma justificativa plausível para este resultado.

As demais avaliações de transferência de imunidade passiva apresentaram resultados satisfatórios e correspondem a animais que ingeriram um colostro de boa qualidade em um volume igual ou superior aos 10 % do peso vivo. Desta forma, espera-se um alto nível de anticorpos circulantes o que aumenta a eficiência do sistema imunológico na defesa contra patógenos.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que a adequada transferência de imunoglobulinas é um grande desafio na criação de bezerros e que pode apresentar reflexos tanto na fase inicial de criação quanto na produtividade futura dos animais. Os resultados obtidos em propriedades do município de Matipó e região mostraram uma elevada porcentagem de vacas produzindo colostros de baixa qualidade e por consequência uma baixa eficiência na transferência de anticorpos maternos para os recém-nascidos. Considerando a importância dessa prática para o sucesso na criação bezerros é essencial à adoção de medidas que possam garantir o fornecimento de um colostro com elevado teor de imunoglobulinas em um volume satisfatório, logo após o nascimento dos bezerros.

A utilização do refratômetro de brix mostrou-se uma ferramenta viável e prática tanto para avaliação indireta da quantidade de imunoglobulinas quanto para avaliação da eficiência no processo de transferência de anticorpos maternos ao bezerro. A adoção dessa prática possibilita o descarte de colostros de baixa qualidade, além de permitir a avaliação dos animais após o fornecimento. O monitoramento da transferência de imunoglobulinas após a ingestão do colostro é essencial, pois, apenas o fornecimento de um colostro de boa qualidade não garante uma colostragem eficiente visto que, o volume e o tempo entre o fornecimento e o nascimento também exercem grande influência neste processo.

REFERÊNCIAS

BOLZAN, G.N., ANTUNES, M.M., SCHWEGLER, E., PEREIRA, R.A., MARCIO NUNES CORRÊA, M.N. Importância da transferência da imunidade passiva para a sobrevivência de bezerros neonatos. **NUPEEC – Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária**, ano 2010.

BRIGNOLE T.J. & STOTT G.H. **Effect of suckling followed by bottle feeding colostrum on immunoglobulin absorption and calf survival**, J. DAIRY SCI. V. 63, p. 451-456, ano 1980.

CARDOSO, M.V.; SFORSIN, A.J.; SCARCELLI, E. et al. *Importância do diagnóstico diferencial em um surto de pneumonia enzoótica bovina*. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.69, n.3, p.111-113, jul./set., 2002.

COELHO S. G; CARVALHO, A. U, 2006. Criação de animais jovens, In: Do campus para o campo. Ed Neiva ACGR, Neiva JNM. Fortaleza, Expressão Gráfica e Editora, capítulo 6, ano 2006.

EDWARDS S.A., BROOM D.M. & COLLIS S. **Factors affecting levels of passive immunity in dairy calves**. BRIT. VET. J. 138:233-240, ano 1982.

FEITOSA, F.L.F., CAMARGO D.G., YANAKA, R., MENDES, C.N., PEIRÓ J.R., BOVINO, F., LISBOA J.A.N., PERRI, S.H.V., GASPARELLI E.R.F., índices de falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) em bezerros holandeses e nelores, as 24 e 48 horas de vida: valores de proteína total, de gamaglobulina, de imunoglobulina g e da atividade sérica de gamaglutamiltransferase, para o diagnóstico de FTIP, **PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA** vol.30n. 8, pag.696-704, ano 2010.

FEITOSA F. L. F., MENDES, L. C. N., PEIRÓ J. R., CIARLINI, P. C., ARQUES F. J., TAKADA, L., PERRI, S. H. V., Comparação de proteinograma e da atividade de gamaglutamiltransferase no soro sanguíneo de bezerros e de cabritos após ingestão de colostro. **ARS VETERINARIA**, Jaboticabal, SP, vol. 22, nº1, 016-021, 2006. ISSN 0102-6380, ano 2006.

FERRANTE JÚNIOR, L. C., CAMPOS FILHO, E. Relação entre o nível sérico de gamaglobulinas e as atividades de gamaglutamiltransferase, fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase de bezerros recém-nascidos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.48, n.2,p.105-12, ano 1996.

FEITOSA, F.L.F. Importância da Transferência da Imunidade passiva para sobrevivência de bezerros neonatos. **Revista de Educação Continuada – CRMV**, v.2, n.3, p.17-22, ano1999.

GASPARELLI, E. R. F, CAMARGO, G. R. YANAKA, R., PERRI, S. H. V, NOGUEIRA, G. P., J. A. N. LISBOA, J. A. N., F. L. F. FEITOSA, F. L. F. Teores séricos de proteína total, imunoglobulina g e cortisol em bezerros nelore, ao nascimento e às 24 horas de vida: influencia do tipo e da duração dos partos; **ARS VETERINARIA**, Jaboticabal, SP, v.25, n.3, 120-124, 2009. ISSN 0102-638, Ano 2009.

GASPARELLI, E. R. F, CAMARGO, D.G.; YANAKA, R.; PERRI, S.H.V.; NOGUEIRA, G.P.; LISBOA, J.A.N.; FEITOSA, F.L.F. Teores séricos de proteína total, imunoglobulina g e cortisol em bezerros nelore, ao nascimento a às 24 horas de vida: influenci do tipo e da duração dos partos. **Ars veterinaria** v.25, n.3, pag 120-124, ano 2009.

GODDEN,S. Colostrum management for dairy calves. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Michigam, v.24, p.19-39, ano 2008.

LANG, ANDRE.; Imunidade passiva em equinos neonatos: avaliação por diferentes metodos _ Viçosa: UFV, ano 2006.

LUCCI, C.S. BOVINOS LEITEIROS JOVENS. NUTRIÇÃO. MANEJO. DOENÇAS. **NOBEL EDUSP**. SÃO PAULO. 371 p, ano 1989.

MACHADO NETO R. **Formação e transferência da imunidade passiva**. ANAIS 38A REUN. SOC. BRAS. ZOOTEC., FEALQ, PIRACICABA, p.644-657, ano 2001.

ODLE J., ZIJLSTRA R. T. & DONOVAN S. M. **Intestinal effects of milkborne growth factors in neonates of agricultural importance**. J. ANIM. SCI.74:2509-2522, ano 1996.

PAIVA, F.A.; NEGRÃO, J.A.; BUENO, A.R.; SARAN-NETTO, A.; LIMA, C.G. Efeito do manejo de fornecimento de colostro na imunidade passiva, cortisol e metabólitos plasmáticos de bezerros holandeses. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**. vol.58, ano 2006.

QUIGLEY, J.D., LAGO, A., CHAPMAN, C., ERICKSON, P., POLO, J. Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 2059-2065, year 2013.

QUIGLEY, J. D.; LAGO, A.; CHAPMAN, C.; ERICKSON, P.; POLO, j. Evaluation of the brix refractometer to estimate immunoglobulin g concentration in bovine colostrum. **Provimi north america**, brookville, volume 96, issue2 pages 1148-1155 ano 2013.

RADOSTITS, O. M., JOE MAYHEW. I. G., HOUSTON, D. M. **Clínica veterinária de grandes animais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1737 p, ano 2000.

STEWART,S.; GODDEN, S.; BEY, R.; RAPNICKI, P.; FETROW, J.; FARNSWORTH, R.; SCANLON, M.; ARNOLD, Y.; CLOW, L.; MUELLER, K.; FERROUILLET, C. Preventing bacterial contamination and proliferation, during the harvest, storage,

and feeding of fresh bovine colostrum. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v.88, p.2571-2578, 2005.

TIZARD, I. **Imunologia Veterinária**. 3 ed. São Paulo:Roca. 329 p, ano 2002.

AVALIAÇÃO DA SINCRONIZAÇÃO E CONCEPÇÃO DE NOVILHAS E VACAS RECEPTORAS DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS *IN VITRO*

Acadêmicos: Caio Trevenzoli de Souza Roiz e Warley Escala da Silva

Orientadora: Vívian Rachel de Araújo Mendes

RESUMO

Os avanços obtidos nas biotécnicas reprodutivas permitiram maior participação da fêmea bovina no processo de melhoramento genético. A TE consiste em implantar embriões de alto valor genético, visando à disseminação do material genético de uma fêmea zootecnicamente superior em fêmeas receptoras com o intuito de completarem o período de gestação. O objetivo do presente trabalho foi realizar a sincronização de novilhas e vacas receptoras para transferência em tempo fixo de embriões bovinos produzidos *in vitro* e fazer a comparação entre taxas de sincronização, concepção e prenhez. Foram utilizados 33 animais, sendo 11 novilhas e 22 vacas, da raça Tabapuã. A taxa de sincronização foi de 81,8% utilizando o mesmo protocolo em ambos os grupos. A taxa de concepção de 44,4% foi obtida pelo grupo vacas e para o grupo novilhas esse número reduziu para 22,2%. Considerando todas as fêmeas que receberam embriões obtivemos um resultado total de 37% (10:27). Concluímos neste trabalho que houve igualdade entre resultados de sincronização para vacas e novilhas e como concepção e prenhez um número maior para o grupo vacas. O ponto que se destaca para um bom resultado na técnica é o manejo, a nutrição e o bem estar de doadoras e receptoras.

PALAVRAS-CHAVE: receptoras; sincronização; transferência de embriões

1. INTRODUÇÃO

A utilização e o desenvolvimento de biotécnicas da reprodução animal são condições indispensáveis para o aumento da eficiência produtiva. Uma das biotécnicas utilizadas na reprodução bovina, mundialmente difundida, é a transferência de embriões (TE). Esta consiste em implantar embriões de alto valor genético, visando à disseminação do material genético de uma fêmea zootecnicamente superior, em fêmeas receptoras com o intuito de completarem o período de gestação. Dessa forma, o melhoramento genético pode ser efetuado com mais rapidez e eficiência (GONÇALVES *et al.*, 2008).

O Brasil é o maior produtor de embriões bovinos do mundo, respondendo por quase um terço da produção mundial. Dentre as técnicas utilizadas, a que vem se destacando e crescendo é a produção *in vitro* de embriões (PIVE), colocando o Brasil como referência mundial no seu emprego comercial (FERREIRA, 2005).

Os avanços obtidos nas biotécnicas reprodutivas permitiram maior participação da fêmea bovina no processo de melhoramento genético do rebanho,

visto que o número de descendentes deixados por uma única fêmea ao longo de sua vida reprodutiva aumentou significativamente (GONÇALVES *et al.*, 2007). Considerando o período de um ano, uma fêmea produzirá em um sistema eficiente apenas um produto, enquanto essa mesma fêmea poderá contribuir para a produção de aproximadamente 50 crias, ao ser inserida num programa de PIVE aumentando desta forma a distribuição da genética e o retorno financeiro satisfatório para o proprietário (PALHANO, 2008).

A escolha das receptoras é um dos pontos importantes da técnica, e deve ser abordado com critério para se obter um bom resultado no programa de TE (OLIVEIRA *et al.*, 2014). O protocolo de escolha é outro ponto importante para uma eficiente sincronização de estro nas receptoras (BELTRAME *et al.*, 2010).

Considerando a importância das receptoras nos programas de TE, este trabalho tem como objetivo avaliar a resposta aos protocolos hormonais de sincronização de estro, taxa de concepção e taxa de prenhez obtidas em novilhas e vacas que foram utilizadas para transferência de embriões bovinos em tempo fixo produzidos *in vitro*.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Produção *in vitro* de embriões (PIVE)

Devido às inovações nas biotécnicas reprodutivas, a genética da fêmea vem ganhando importância cada dia mais para o melhoramento do rebanho. Essa biotécnica tornou-se uma tecnologia promissora tanto para o melhor entendimento da embriologia básica quanto para a produção animal, representando um importante procedimento para o estudo dos mecanismos relacionados à maturação final, interação dos gametas e desenvolvimento embrionário subsequente (GONÇALVES *et al.*, 2008). Com isso, vem crescendo significativamente o número de descendentes deixados por uma única fêmea, graças à produção *in vivo* e *in vitro* de embriões (GONÇALVES *et al.*, 2007).

A PIVE consiste na manipulação dos gametas, promovendo assim, em condições laboratoriais, os processos fisiológicos que aconteceriam naturalmente após a ovulação e fecundação (PALHANO, 2008). Na espécie bovina a PIVE já se tornou método de escolha para a produção de embriões, principalmente nas raças zebuínas (VIANA *et al.*, 2012). No período de um ano em um sistema de produção

padrão é possível obter apenas um descendente por fêmea bovina, enquanto com a técnica de aspiração folicular associada à PIVE pode-se aumentar essa taxa para 50 a 100 descendentes (PALHANO, 2008). A técnica já é aplicada a campo não como forma de pesquisa, mas para se obter valor comercial em animais de genética superior (RUBIN *et al.*, 2009).

Vários processos se relacionam para obtenção de bons resultados na técnica, que incluem a parte realizada a campo como o manejo reprodutivo de doadoras e receptoras, aspiração folicular e a inóvulação dos embriões e a parte desenvolvida em laboratório, constituída pela maturação, fecundação e cultivo *in vitro*. Devido a essa complexibilidade, a técnica deve ser realizada por equipe treinada e dedicada, e com um planejamento adequado (RIZOS, 2008).

Com o intuito de melhorar a eficiência da PIVE, estudos e modificações sobre a maturação de ovócitos, fecundação e desenvolvimento embrionário vem sendo realizados. Contudo, as taxas de blastocistos produzidos, prenhez e criopreservação obtidos por ovócitos maturados no sistema de produção *in vivo* ainda superam as taxas da produção *in vitro*, podendo ser por incompleta maturação do ovócito, o que leva à incapacidade de desenvolvimento embrionário (GONÇALVES *et al.*, 2008).

2.1.1. Obtenção de Ovócitos

O processo de PIVE tem início com a obtenção de ovócitos, que podem ser provenientes da aspiração folicular *in vivo*, guiado por ultrassonografia, punção de ovários recolhidos em abatedouros, que tenham pouco tempo de abate, ou até mesmo por laparotomia ou laparoscopia via flanco (GONÇALVES *et al.*, 2008).

2.1.2. Maturação *In Vitro* (MIV)

No processo de maturação, o ovócito sofre alterações moleculares, citoplasmáticas e nucleares (GONÇALVES *et al.*, 2007), tornando gameta feminino competente para ser fecundado (SMITZ *et al.*, 2004). A maturação nuclear se caracteriza pelo rompimento da vesícula germinativa, compreendendo os processos de condensação da cromatina e dissolução da membrana nuclear, o que não sofre interferência das células do *cumulus* (ANGUITA *et al.*, 2007). Já dentre as alterações citoplasmáticas, ocorre a modulação da síntese de proteínas e a reorganização de organelas com redução do tamanho do Complexo de Golgi, compactação do

nucléolo, aumento da síntese de lipídeos e alinhamento dos grânulos corticais próximos a membrana (FERREIRA *et al.*, 2009).

A técnica consiste na preparação da placa de maturação que vai receber os ovócitos, seguido pelo rastreamento de ovócitos separados com ajuda de filtro apropriado. Na seleção, serão classificados ovócitos em grau I, II, III e IV como vistos na tabela 1. A maturação *in vitro* acontece em estufa incubadora com temperatura de 38,5°C, 5% de CO₂ em ar atmosférico, 95% de umidade saturada, por um período de 22 a 24 horas (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Tabela 1. Critérios adotados para classificação morfológica dos ovócitos recuperados.

Qualidade	Descrição
Grau I	Ovócitos com mais de três camadas de células compactas ao <i>cumulus</i> e citoplasma regular.
Grau II	Ovócitos com uma a três camadas de células do <i>cumulus</i> , citoplasma regular ou apresentando granulações finais.
Grau III	Ovócitos apresentando menos de três camadas do <i>cumulus</i> ou parcialmente desnudos e citoplasma irregular.
Grau IV	Desnudos (ovócitos sem células do <i>cumulus</i>) ou em degeneração (com expansão e citoplasma heterogêneo, apresentando granulações severas).

FONTE - Embrapa Gado de Leite – Biotécnicas da Reprodução em Bovinos

2.1.3. Fertilização *In Vitro* (FIV)

Para que um gameta feminino esteja viável e disponível para o processo de fecundação, seguido de desenvolvimento embrionário todos os eventos bioquímicos e moleculares deverão ser controlados até o ovócito atingir a maturação (WRENZYCK e STINSHOFF, 2013). Com isso, pesquisadores vêm aumentando a atenção no período da maturação do ovócito, visando uma melhoria significativa no resultado da PIVE (PARRISH, 2014).

A fertilização *in vitro* ocorre com a exposição de ovócitos preparados a espermatozoides selecionados e capacitados, podendo ser frescos ou terem passado pelo processo de congelamento/descongelamento. Os espermatozoides passam por um processo de seleção e capacitação onde serão separados do plasma seminal, crioprotetores e demais componentes do diluente utilizado para congelamento e espermatozoides mortos. Para tanto, o gradiente de PERCOLL e o “*swim-up*” são os métodos mais usados na raça bovina, pela sua seleção dos espermatozoides com maior motilidade, sendo assim mais aptos à técnica (GONÇALVES *et al.*, 2007).

Na produção *in vivo*, o processo de capacitação espermática acontece durante sua passagem pelo trato genital feminino. No processo de capacitação *in vitro* será adicionado glicosaminoglicanas aos meios de fecundação, sendo a heparina uma das mais utilizadas (VARAGO *et al.*, 2008). Os procedimentos são realizados com a preparação da placa de fecundação, seguidos pela preparação do sêmen e a fecundação *in vitro*, que dura de 18 a 22 horas (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

2.1.4. Cultivo *In Vitro* (CIV)

Para que os embriões possam ser transferidos, os mesmos devem ser cultivados após a fecundação. Eventos importantes acontecem nesse período de pré-implantação embrionária, como clivagem, ativação do genoma, compactação dos blastômeros, diferenciação do trofoblasto e embrioblasto, e rompimento da zona pelúcida (LONERGAN *et al.*, 1999).

O cultivo *in vitro* tem duração de sete dias, na temperatura de 38,5°C, umidade saturada e atmosfera controlada (GONÇALVES *et al.*, 2007). São avaliadas a taxa de clivagem onde será observado as estruturas que se dividiram, e também a da taxa de blastocisto, onde serão avaliados após sete dias e o estágio em que se encontram (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Segundo Oliveira *et al.* (2014) a aparência dos embriões é significativo para seleção. Embriões que apresentam boa aparência morfológica têm indicativo de serem mais aptos à transferência.

2.2. Fisiologia do Ciclo Estral de Bovinos

O ciclo estral de vacas dura entre 17 e 24 dias (média de 21 dias), variando pouco de animal para animal e no geral, apresenta de duas a três ondas foliculares (MORAES *et al.*, 2001). Fatores diversos podem influenciar o número de ondas foliculares. Dentre eles, podemos citar: nível de estrógeno intra e extra-ovarianos; escore corporal do animal, idade, manejo, clima e raça (HAFEZ *et al.*, 2004).

O ciclo estral da fêmea bovina é dividido em quatro fases contínuas, porém distintas: proestro, estro, metaestro e diestro. No proestro e estro ocorre a fase folicular, onde há o desenvolvimento do folículo, culminando com ovulação. No metaestro e diestro ocorre a fase luteínica, onde há formação e desenvolvimento

do corpo lúteo, sendo este responsável pela produção da progesterona que irá manter a gestação (GONÇALVES *et al.*, 2008).

O ciclo inicia-se quando ocorre a liberação GnRH pelo hipotálamo. O hipotálamo é responsável pela produção de GnRH que atua na hipófise anterior provocando a liberação de hormônios gonadotróficos, o LH e o FSH. O FSH é liberado pela hipófise anterior, estimulando o crescimento folicular. O LH induz a maturação e ovulação dos folículos, produção de estrógenos pela teca interna e luteinização desta e da granulosa com desenvolvimento do corpo lúteo (RUMPF *et al.*, 2000).

Haverá o recrutamento de folículos primários, que se desenvolverão até o estágio antral: o que estiver mais apto (folículo dominante) responde aos níveis em elevação de FSH e são destinados à ovulação (folículo pré-ovulatório). Os folículos antrais que restaram vão parar de crescer e entrar em atresia. Esse processo é até certo ponto, controlado pela produção de inibina do folículo dominante, que atua em nível local na limitação da liberação de FSH. O fator que limita a ovulação de apenas um folículo é que o mesmo apresenta receptores para LH e os demais entram em atresia porque não são selecionados (BALL e PETERS, 2006).

O 17β -estradiol (E2) produzido pelas células da granulosa, presente nos folículos ovarianos, é o principal hormônio estrogênico da fêmea e é liberado sob o controle do FSH e do LH. Quando produzido na presença do folículo dominante, é o responsável pela retroalimentação positiva do LH e negativa do FSH. Na ausência de progesterona, induz o pico pré-ovulatório de LH e também o comportamento do estro (FERRAZ *et al.*, 2008). Conforme o folículo pré-ovulatório vai se desenvolvendo, ele irá continuar aumentando de tamanho, alcançando um diâmetro de pelo menos 9mm. Esse estrógeno apresenta três funções: iniciar o comportamento estral; Prepara o trato reprodutivo para os processos associados com a fertilização e iniciar o pico ovulatório de LH (BALL e PETERS, 2006).

A progesterona (P4) é um hormônio que regula o funcionamento do sistema reprodutor feminino e é produzida principalmente pelo corpo lúteo, sendo este proveniente da reorganização das células foliculares após o processo ovulatório. Elevados níveis de progesterona inibem o estro e a onda ovulatória de LH, estabelecendo assim a importância desta na regulação do ciclo estral (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

A prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}), é produzida pelo endométrio uterino, caso não haja a fecundação, e tem como função a regressão do corpo lúteo. O declínio da produção de progesterona facilita a liberação da prostaglandina (SWANSON, 1988).

2.3. Seleção de Receptoras

O custo de aquisição e manutenção de receptoras é considerado um dos principais fatores que oneram um programa de transferência de embriões. A otimização do uso das receptoras é um fator importante para a relação custo-benefício do programa (BELTRAME *et al.*, 2010).

Um adequado manejo nutricional deve ser aplicado para doadoras e receptoras de embriões. Uma nutrição inadequada comprometerá o desempenho reprodutivo por retardar tanto a involução uterina no pós-parto quanto a retomada da atividade ovariana e da ciclicidade, por agir também dentro da regularidade do ciclo estral (BROADBENT *et al.*, 1991).

Distúrbios são gerados nos mecanismos endócrino, neural e metabólico devido à nutrição inadequada, reduzindo a secreção de GnRH pelo hipotálamo, de gonadotrofinas pela hipófise, retardando o desenvolvimento folicular e a resposta superovulatória. As receptoras devem apresentar uma boa condição corporal, mantendo seu escore não muito baixo e nem muito alto. (BO *et al.*, 2002).

A restrição alimentar em novilhas pode determinar redução do tamanho do folículo ovulatório e do corpo lúteo, podendo também influenciar no desenvolvimento do folículo dominante e predispondo, assim a um maior número de ciclos com três ondas de crescimento folicular. Além disso a restrição aguda na ingestão de energia, três a seis dias antes da ovulação, reduzirá o diâmetro do folículo dominante, (GONÇALVES *et al.*, 2008).

Para a seleção das fêmeas receptoras, deve-se adotar algumas medidas, como a realização de exames clínicos e a avaliação da capacidade reprodutiva em todos os animais que irão participar do programa de transferência de embriões. Pode-se dizer que a receptora ideal é uma fêmea jovem, saudável, com fertilidade comprovada, habilidade materna e sem apresentar histórico de partos distócicos. A receptora deve ter um porte compatível com a raça do embrião a ser transferido para garantir uma gestação normal e um parto sem complicações. Vacas acima de sete a oito anos e animais mais estressados devem ser descartados do programa, porque a

habilidade de manter gestação em vacas velhas é menor e os animais agressivos são indesejáveis pela dificuldade no manejo e em manter a gestação (LOONEY *et al.*, 2006).

As receptoras de embriões necessitam de cuidados rigorosos e devem ser consideradas tão importantes quanto às doadoras. Adicionalmente, as fêmeas devem ser mantidas em condição ambiental satisfatória para exercerem o efeito materno em toda sua plenitude e elevar tanto a probabilidade de gerar produtos com maior vitalidade e resistência quanto aumentar a própria eficiência da TE. A seleção se completa um dia antes da inovulação do embrião, com a visualização e avaliação de corpo lúteo presente no ovário (GONÇALVES *et al.*, 2008).

Geralmente são mais utilizadas e consideradas as melhores receptoras as fêmeas cruzadas (zebu x taurino) devido ao seu baixo valor comercial quando comparado a outros animais, boa capacidade de conversão alimentar, alta fertilidade e boa habilidade materna. Antigamente, quando as receptoras pariam e desmamavam suas crias, elas eram descartadas, mas atualmente o reaproveitamento de receptoras tem se tornado uma prática cada vez mais comum, pois os preços praticados pelos fornecedores de receptoras são muito altos e, muitas vezes, é difícil achar receptoras disponíveis para compra (GONÇALVES *et al.*, 2008).

2.4. Hormônios Utilizados na Sincronização de Receptoras

A sincronização do estro é constituída pela regularização do ciclo estral utilizando de hormônios e seus análogos, com o intuito de indução de estro e ovulação. Diferentes hormônios são utilizados em protocolos de sincronização, como a progesterona (P4), o estradiol, o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), a gonadotrofina coriônica equina (eCG) e a prostaglandina (PGF2 α), podendo também fazer a associação entre eles, que é a forma mais utilizada e eficiente nos protocolos (THATCHER *et al.*, 2001).

Diferentes dispositivos de progesterona se encontram disponíveis no mercado, variando em formato, forma de aplicação, design e concentração de progesterona presente no mesmo (HANLON *et al.*, 2002; RIVERA *et al.*, 2005; STEVENSON *et al.*, 2008). Os implantes intravaginais de P4 são os mais comumente e utilizados em protocolos de sincronização de novilhas e vacas pós-

parto e é o tratamento de maior escolha para animais com problema em retorno ao ciclo estral. (CAVALIERI *et al.*, 2004).

A utilização do Benzoato de Estradiol (BE) administrado no começo do protocolo tem como finalidade a atresia dos folículos presentes e agir na emergência de uma nova onda folicular (BRAGANÇA *et al.*, 2004). Essa nova onda folicular se inicia de três a quatro dias após administração do BE (BÓ *et al.*, 1995).

A PGF₂ α leva a luteólise e conseqüentemente à queda dos níveis de P4. Desta forma, permite um aumento na frequência e amplitude da secreção do hormônio luteinizante (LH) e ocorra a ovulação (LANE *et al.*, 2008). Nessas condições, o estro tende a ocorrer 48 a 72 horas após administração (STEVENSON 2005; CAVALIERI *et al.*, 2006).

O eCG pode ser administrado no momento da retirada do implante de P4, atuando como indutor da ovulação, mas pode atuar no crescimento folicular se administrado no quinto ou sexto dia do protocolo (BARUSELLI *et al.*, 2004; SOUZA *et al.*, 2009). As vantagens no uso do eCG são o aumento no diâmetro do folículo pré-ovulatório e conseqüentemente na área do CL, melhor taxa de ovulação e aumento nas concentrações plasmáticas de progesterona (SÁ FILHO *et al.*, 2010).

A administração do GnRH vai atuar como indutor da ovulação causando a ovulação ou luteinização do folículo dominante (LINDEROTH, 2002). O GnRH é liberado pelo hipotálamo na ausência de P4, ele estimula a produção de LH pela hipófise levando a ovulação. O GnRH em associação com o E2 vão agir na indução da ovulação por retroalimentação positiva na liberação pulsátil de LH (RATHBONE *et al.*, 2001).

2.5. Sexagem Fetal

A sexagem fetal é um grande avanço na área da reprodução animal, onde nos permite distinguir o sexo da cria nas primeiras semanas de gestação. Já que raramente compensa a criação de machos de alta linhagem o criador opta por descartá-los, preservando assim as fêmeas, filhas de vacas com alto valor genético (NETO, 2007).

3. METODOLOGIA

3.1. Animais

O experimento foi realizado em uma propriedade localizada no município de Matipó, estado de Minas Gerais e teve início no dia vinte e quatro de novembro de 2015 e foi finalizado no dia doze de fevereiro de 2016. Foram utilizados 33 animais, sendo eles 22 vacas e 11 novilhas da raça Tabapuã, com escore corporal entre 3 e 4 (escala de 0 a 5). Os animais se encontravam em regime extensivo de alimentação com *Brachiaria decumbens*. Foi adotada também a suplementação nutricional que se iniciou 75 dias antes do começo do protocolo. Todos os animais foram suplementados com sal mineral de boa qualidade e água *ad libitum*. Foi utilizado na ultrassonografia um aparelho Chisson D600 Vet com a probe linear transretal de 7,5MHz para a detecção de ciclicidade nos animais, estando assim aptos a iniciarem o protocolo.

3.2. Protocolo de sincronização

Foi utilizado o mesmo protocolo para vacas e novilhas.

- Dia 0 (Manhã) – Colocação de dispositivo intravaginal de progesterona (P4; Sincrogest® Ourofino) e Aplicação de 2ml de Benzoato de estradiol (BE; Sincrodiol® Ourofino).
- Dia 8 (Manhã) – Retirada do dispositivo de progesterona, Aplicação por via intramuscular de 10mg de Cloprostenol sódico (PGF 2α ; Lutalyse®; Zoetis), 1mg de Cipionato de estradiol (CE; ECP®; Zoetis), 400UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG; Folligon®; Intervet).
- Dia 10 (Manhã) – Aplicação de 0,05mg de Acetato de Gonadorelina (GnRH; Gestran Plus®; Tecnopec).

3.3. Avaliação e seleção das receptoras

As receptoras sincronizadas foram avaliadas no dia 16 após o início do protocolo quanto à presença de corpo lúteo. Para tal, foi realizada ultrassonografia dos ovários, por meio de um aparelho Chisson D600 Vet acoplado a probe linear transretal de 7,5MHz. As receptoras que apresentaram um corpo lúteo ativo foram selecionadas e receberam uma marca de acordo com o lado que o CL se encontrava para a inovulação no dia seguinte.

3.4. Transferência de embriões

Os embriões foram inovulados no dia dezessete após o início da sincronização (sete dias após a ovulação). Os embriões sexados para fêmea foram produzidos in vitro pela empresa "In Vitro Brasil" localizada no município de Mogi Mirim, SP, e transportados à fresco em palhetas de 0,25ml acondicionadas em uma transportadora de embriões com temperatura controlada de 36°C. Os embriões foram mantidos nesta condição até o momento de sua transferência para o útero receptor. Já na fazenda as receptoras foram devidamente contidas e preparadas com anestesia peridural com 3ml de lidocaína a 2% e higienização perineal. A inovulação se deu a partir da colocação da palheta contendo o embrião em uma bainha plástica, acoplado ao inovulador e coberta posteriormente com uma camisa sanitária. Desta forma, o inovulador foi introduzido via vaginal para transpor a cérvix e despejar o embrião no corno uterino ipsilateral ao ovário que contém o CL.

3.5. Diagnóstico de gestação

O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a inovulação por meio de ultrassonografia utilizando um aparelho Chisson D600 Vet com a probe linear transretal de 7,5MHz. Foi verificada a presença ou ausência do embrião e batimentos cardíacos.

3.6. Análise e Processamento de Dados

A análise estatística foi realizada pelo teste de Tukey a partir das médias dos tratamentos. Foi aplicado quando o teste "F" para tratamentos da ANOVA (análise de variância) caso houvesse significância.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa de sincronização obtida no presente estudo foi de 81,8% utilizando o mesmo protocolo em ambos os grupos. Desta forma, foram consideradas aptas a transferência de embriões 9 das 11 novilhas e 18 das 22 vacas protocoladas. A taxa de concepção foi de 44,4% (8:18) para o grupo vacas e para o grupo novilhas esse número reduziu significativamente para 22,2% (2:9). A taxa de prenhez representou 36,4% (8:22) para o grupo de vacas e de 18,2% (2:11) para o grupo de novilhas. Considerando todas as fêmeas que receberam embriões, a gestação foi confirmada

em 10 das 27 receptoras, que equivale a uma taxa de concepção de 37% (Tabela 2).

Tabela 2: Taxa de sincronização, concepção e prenhez em vacas e novilhas receptoras de embriões.

Categoria	N	Sincronização n(%)	Concepção n(%)	Prenhez n(%)
Vacas	22	18 (81,8) ^a	8 (44,4) ^a	8 (36,4) ^a
Novilhas	11	9 (81,8) ^a	2 (22,2) ^b	2 (18,2) ^b
Total	33	27 (81,8)	10 (37,0)	10 (30,3)

As letras sobrescritas indicam diferença na coluna entre os grupos testados. Análise realizada pelo teste de Tukey $P < 0,05$.

Em ambos os grupos, o protocolo utilizado induziu a sincronização de 81,8% dos animais, resultado superior ao encontrado por Baruselli *et al.* (2003) que foi de 45,7% onde o protocolo utilizado foi o “Ovsynch”, e de 45,2% para animais que receberam dose única de PGF $_{2\alpha}$. No experimento de Adams *et al.* (2013) a taxa de sincronização informada foi de 89% com o uso de implante de P4, e de 62,5% para animais onde foram utilizados apenas luteolíticos. Vedana *et al.* (2008) descreveram uma taxa de sincronização chegando a 80,3% para animais que receberam eCG em D5 e de 73,3% para animais que receberam eCG em D8, no grupo controle essa taxa caiu para 46,6% apenas com o uso de implante de P4. Nossos resultados superaram os de Vedana *et al.* (2008) onde também utilizamos doses de eCG.

A taxa de concepção alcançada em vacas (44,4%) foi superior ao grupo de novilhas (22,2%), com a utilização do mesmo protocolo hormonal, que alcançou a mesma taxa de fêmeas aptas nos dois grupos estudados (81,8%). Baruselli *et al.* (2003) relataram uma taxa de concepção de 49,2% para o grupo tratado com o protocolo “Ovsynch” e de 56,3% para o grupo que recebeu dose única de PGF $_{2\alpha}$.

Adams *et al.* (2013) relataram taxa de prenhez de 41,8% com o uso de implante de P4 e com o uso de luteolíticos de 37,9%. Já Baruselli *et al.* (2003) relataram taxa de prenhez com o uso do protocolo Ovsynch de 35,7%, e com administração única de prostaglandina 25,4%. Scanavez *et al.* (2013) por sua vez, relataram uma taxa de 57,8% de prenhez ao 35° dia, e aos 55° dia esta taxa caiu para 52,1%, totalizando 9,7% de perdas gestacionais, semelhante ao referenciado por Galli *et al.* (2001), que afirmaram que as perdas durante o primeiro trimestre chegaram de 10 a 12%. Não houve perdas gestacionais com o protocolo realizado

no presente trabalho até o 60º dia. Os resultados de Scanavez *et al.* (2013) foram superiores ao deste experimento, levando em conta as perdas gestacionais continuam sendo superiores, isso se deve ao uso de animais de raças com maior docilidade e que vinham sendo acompanhadas diariamente, nutridas com alimentação ideal para uma técnica com maior índice de eficácia.

Marques *et al.* (2004) relatam que novilhas cruzadas tiveram 80,9% de taxa de aproveitamento, enquanto vacas cruzadas recém paridas tiveram 75,9%, essa taxa ainda cai quando levamos em consideração vacas Nelore recém paridas com uma taxa de 69,9%. Levando em conta o mesmo trabalho foi relatado taxa de concepção de novilhas cruzadas como 52,8% e vacas cruzadas recém paridas com 64,4%, índice alto quando comparamos com os 35,8% do grupo vacas Nelore recém paridas.

Os resultados descritos na literatura são variados, de acordo com autores. A raça, idade dos animais, alimentação, manejo das receptoras, técnica, hormônios utilizados e mão de obra aplicada na técnica são alguns dos motivos responsáveis por essa diferença nos resultados.

Os resultados foram os esperados sendo de acordo com a literatura relatados como bons. Poderiam ser ainda melhores se os animais estivessem vindos de um acompanhamento rigoroso a um período maior de tempo. São animais de corte, sendo assim tendem a vir poucas vezes no curral e isso implica com o fato de aumentar o estresse pela manipulação do rebanho e com presença de pessoas estranhas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante da realização deste trabalho, concluiu-se que na sincronização não houve interferência entre os grupos de vacas e novilhas, já na taxa de concepção e de prenhez o grupo vacas superou o grupo de novilhas com melhores resultados. E que os fatores de maior importância dentro da biotécnica de transferência de embriões são: a raça escolhida, a idade dos animais, a alimentação utilizada, o manejo das receptoras, a técnica e hormônios usados e mão de obra especializada.

REFERÊNCIAS

ADAMS, F. D.; REIS, R. W.; PERIZZOLLO, T. V.; MACHADO, G. K.; MALSCHITZKY, E.; AGUIAR, P. R. L.; Análise de custos e eficiência na

sincronização de receptoras de embriões bovinos; **XIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA** – ULBRA; Canoas, 2013.

BALL, P. J. H.; PETERS, A. R. **Reprodução em Bovinos**. 3 ed. São Paulo: Editora ROCA, Cap. 13. p.199, 2006.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, N. A. T.; BERBER, R. C. A.; VALENTIM, R.; CARVALHO FILHO, A. F.; COSTA NETO, W. P. Dinâmica folicular e taxa de prenhez em novilhas receptoras de embrião (*Bos taurus* x *Bos taurus taurus*) tratadas com o protocolo “Ovsynch” para inovulação em tempo fixo; **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v.40, suppl.2, São Paulo, 2003.

BARUSELLI P.S.; REIS E.L.; CARVALHO N.A.T.; CARVALHO J.B.P. eCG increase ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nellore (*Bos indicus*) heifers treated with progesterone releasing device. In: **International Congress on Animal Reproduction**, 15, 2004, Porto Seguro, BA, Brazil. Abstracts... Porto Seguro, BA: ICAR, 2004a. v.1, p.17. Resumo.

BARUSSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O.; NASSER, L.F.T.; BÓ, A.G. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82, p.479-486, 2004b.

BELTRAME T.R.; BARIONI L.G.; QUIRINO C.R.; DANTAS O.D. Modelagem bioeconômica da transferência de embriões em bovinos, **Ciência animal brasileira**, Goiânia, v.11, n.1, p.32-41, jan./mar. 2010.

BÓ, A.G.; ADAMS, G.P.; PIERSON, A.R.; MAPLETOFT, R.J. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. **Theriogenology**, v.43, p.31-40, 1995.

BRAGANÇA, J.F.M.; GONÇALVES, P.B.D.; BASTOS, G.M. NEVES, J. P.; OLIVEIRA, J. F. C.; SIQUEIRA, L. C.; BORGES, L. F. K.; POMBO, R. D. Sincronização de estro e ovulação em novilhas de 12 a 14 meses de idade e inseminadas artificialmente com observação de estro e horário pré-fixado. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.28, n.2, p.73-77, 2004.

CASTILHO, C.; GAMBINI, A.L.C.; FERNANDES, P.; TRINCA, L.A.; TEIXEIRA, A.B.; BARROS, C.M., Synchronization of ovulation in crossbred dairy heifers using gonadotrophin-releasing hormone agonist, prostaglandin F_{2α} and human chorionic gonadotrophin or estradiol benzoate. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.33, p.91-101, 2000.

CAVALIERI, J., HEPWORTH, G., FITZPATRICK, L.A. Comparison of two estrus synchronization and resynchronization treatments in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.64, p.729-47, 2004.

CAVALIERI, J.; HEPWORTH, G.; FITZPATRICK, L. A.; SHEPHARD, R. W.; MACMILLAN, K. L. Manipulation and control of the estrous cycle in pasture-based dairy cows. **Theriogenology**, v.65, p.45-64, 2006.

FERREIRA, J.C.P. Palestra de abertura. In: **II Curso de Especialização em Biotécnicas e Reprodução de Bovinos**. Cuiabá: UNOESTE-SOMATOVET, 2005.

FERRAZ, H.T., VIU, M.A.O., LOPES, D.T. Sincronização da ovulação para realização da inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. **PUBVET**, v.2, n.12, 2008.

GALLI, C.; CROTTI, G; NOTARI, C.; TURINI, P.; DUCHI, R.; LAZZARI, G.; **Embryo production by ovum pick up from live donors. Theriogenology**, v.55, p.1341-1357, 2001.

GANDHI, A. P.; LANE, M.; GARDNER, D. K.; KRISHER, R. L.A single medium supports development of bovine embryos throughout maturation, fertilization and culture.**Human Reproduction**. v.15, p.395-401, 2000.

GONÇALVES, P. B. D.; BARRETA, M. H.; SANDRI, L. R.; FERREIRA, R.;ANTONIAZZI, A. Q. Produção in vitro de embriões bovinos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, p.212-217, 2007.

GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. 2.ed. São Paulo: Editora ROCA, 2008.270p.

HAFEZ E.S.E.; HAFEZ B. **Reprodução animal**. 7 ed. Barueri, SP: Manole, 2004. 513p.

HANLON, D.W.; DUIRS, G.F.; BEAL, J.R.; DAY, A.M.A new intra-vaginal progesterone-releasing device (Cue-Mate™) for controlling the oestrous cycle in cattle. **XXII World Buiatrics Congress Hannover**, 18 – 23 Agosto, 356-370, 2002.

LANE, E.A.; AUSTIN, E.J.; CROWE, M. A. O estrous synchronization in cattle – current options following the UE regulations restricting use of o estrogenic compounds in food producing animals: A review. **Animal Reproductive Science**, 109, 1-16, 2008.

LINDEROTH, S. Baffled by controlled breeding programs. **Dairy herd management**, v. 13, p.30-32, 2002.

LONERGAN, P.; KHATIR, H.; PIUMI, F.; RIEGER, D.; HUMBLLOT, P.; BOLAND, M. P. Effect of time interval from insemination to first cleavage on the developmental characteristics, sex ratio and pregnancy rate after transfer of bovine embryos. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.117, p.159-167, 1999.

LOONEY, C.R.; NELSON, J.S.; SCHNEIDER, H.J; FORREST, D.W. Improving fertility in beef cow recipients.**Therigenology**, v.65, p.201-209, 2006.

MARQUES, M.O.; REIS, E.L.; BARUSELLI, P.S. Sincronização de Receptoras para Inovação em Tempo Fixo. **Biocologia da Reprodução em Bovinos**. Cornélio Procópio, 1º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada,2004.

MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.; GONSALVES, P.B.D. Controle do Estro e da Ovulação em Bovinos e Ovinos. In: GONSALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. São Paulo: Livraria Varela, 2001. cap. 3, p. 25-55.

NETO, J.N. Inovação tecnológica em pequenas empresas. <http://watson.fapesp.br/PIPEM/Agrarias/zootec1.htm>, acesso em 30 de junho de 2016.

OLIVEIRA, C.S., SARAPIÃO, R. V., QUINTÃO, C. C. R. Minicursos ministrados durante o 3º Simpósio “Biotécnicas da Reprodução em Bovinos” no Laboratório de Reprodução Animal do Campo Experimental Santa Mônica. **Biotécnicas da Reprodução em Bovinos**. 1. ed. Juiz de Fora. Comitê de Publicação da Embrapa Gado de Leite, p.34-35, 2014.

PALHANO, H.B. **Reprodução em bovinos-fisiopatologia, terapêutica, manejo e biotecnologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Editora LF Livros, p.181-224, 2008.

PARRISH, J. J. Bovine in vitro fertilization: in vitro oocyte maturation and sperm capacitation with heparin. **Theriogenology**, v.81, p.67-73, 2014.

RATHBONE, M.J.; KINDER, J.E.; FIKE, K.; KOJIMA, F.; CLOPTON, D.; OGLE, C. R.; BUNT, C.R. Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. **Advance Drug Delivery Reviews**, v.50, n.3, p. 277-320, 2001.

RIVERA, H., LOPEZ, H.; FRICKE P.M. Use of intravaginal progesterone/releasing insert in a synchronization protocol before timed AI and for synchronization return to estrus in Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.957-968, 2005.

RIZOS, D.; CLEMENTE, M.; BERMEJO-ALVAREZ, P.; DE LA FUENTE, J.; LONERGAN, P.; GUTIÉRREZ-ADÁN, A. Consequences of in vitro culture conditions on embryo development and quality. **Reproduction in Domestic Animals**, v.43, p.44-50, 2008.

RUBIN, M.I.B.; PESSOA, G.A.; FRAGA, D.R.; VASCONCELOS, F.F.; SILVA, C.A.M. Produção *in vitro* de embriões e Clonagem: um caminho conhecido? **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, n.6, p.77-85, 2009.

RUMPF, R; BEM, D.E.; PEIXER, M.A.S.; SOUZA, R.V. **Manual de transferência e micromanipulação de embriões nas espécies bovina e eqüina**. Brasília: EMBRAPA – Recursos genéticos e biotecnologia, 2000, p. 71-103.

SCANAVEZ, A.L.; CAMPOS, C.C.; SANTOS, R.M.; Taxa de prenhez e de perda de gestação em receptoras de embriões bovinos produzidos *in vitro*; **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.3, p.722-728, Uberlândia, 2013.

SMETANINA, I.G.; TATARINOVA, L.V.; KRIVOKHARDCHENKO, A.S. The effect of the composition of the culture media on bovine oocyte maturation and embryodevelopment *in vitro*. **Ontogenez**, v.31, p.139-143, 2000.

SMITZ, J.E.J.; NOGUEIRA, D.; VANHOUTTE MATOS, D.G.; CORTVRINDT, R.N. Oocyte: *in vitro* maturation. In: SUH, C.S.; SONNTAG, B.; ERICKSON, G.F. The ovarian life cycle: a contemporary view. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, v.3, p.5-12, 2004.

STEVENSON, J.S. Breeding strategies to optimize reproductive efficiency in dairy herds. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**, v.21, p.349-365, 2005.

STEVENSON, J.L., DALTON, J.C., SANTOS, J.E.P., SARTORI, R., AHMADZADEH, A., CHEBEL, R.C. Effect of synchronization protocols on follicular development and estradiol and progesterone concentrations of dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.3045-3056, 2008.

SWANSON M. J. Dukes. **Fisiologia dos animais domésticos**. Ed.Guanabara Koogan S. A. Rio de Janeiro, Brasil, 799 p., 1988.

THATCHER, W.W.; MOREIRA, F.; SANTOS, J.E. MATTOS, R.C.; LOPES, F.L.; PANCARCI, S.M.; RISCO, C.A. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. **Theriogenology**, v.25, p.75-89, 2001.

VARAGO, F. C.; MENDONÇA, L. F.; LAGARES, M. A. Produção *in vitro* de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.32, p.100-109, 2008.

VEDANA, C.H.; BALESTRIN, R.A.; CAVALIERI, F.L.B.; RIGOLON, L.P.; LOURENÇO, F.J.; SEKO, M.B.; PICADA, I.; TIBURCIO, M.; RAMOS, F.S. Efeito da aplicação do eCG na taxa de aproveitamento e de prenhez em receptoras de embriões; **Iniciação Científica Cesumar**, Maringá, v.10, n.02, p. 141-143, jul./dez. 2008. Disponível em <www.cesumar.br>. Acesso em: 13 de abril de 2016.

VIANA, J.H.M.; SIQUEIRA, L.G.B.; PALHAO, M.P.; CAMARGO, L.S.A. Features and perspectives of the Brazilian *in vitro* embryo industry. **Animal Reproduction**, v.9, n.1, p.12-18, 2012.

VOGG, G.; SOUZA, C.J.H.; JAUME, C.M.; MORAES, J.C.F. Utilidade do benzoato de estradiol após suplementação com progestágeno na sincronização de cios de novilhas de corte. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p.41-46, 2004.

WRENZYCKI, C.; STINSHOFF, H. Maturation environment and impact on subsequent developmental competence of bovine oocytes. **Reproduction in Domestic Animals**, v.48, p.38-43, 2013.

AVALIAÇÃO DO TAMANHO DO CORPO LÚTEO E A TAXA DE CONCEPÇÃO EM RECEPTORAS DE EMBRIÕES BOVINOS

Acadêmica: Beatriz Monica Costa Pereira

Orientadora: Vívian Rachel de Araújo Mendes

RESUMO

Este trabalho apresenta um estudo sobre avaliação do tamanho do corpo lúteo e a taxa de concepção em receptoras de embriões bovinos. Para realização desse experimento foram utilizadas 33 fêmeas bovinas da raça Tabapuã, sendo 23 vacas e 11 novilhas. A avaliação das receptoras foi realizado através de um aparelho de ultrasson, no 16º dia após o início do protocolo. A mensuração do CL foi realizada mediante a avaliação e seleção das receptoras. Sete dias após a ovulação foi realizada a inovulação dos embriões. Os embriões são provenientes de um laboratório de PIVE localizado na cidade de Mogi Mirim, São Paulo. As receptoras pré-selecionadas, foram preparadas com anestesia peridural com 3ml de lidocaína 2%, e higienização perineal e o aplicador via vaginal foi introduzido pelo técnico responsável pela inovulação. Trinta dias após o procedimento foi feito o diagnóstico de gestação que se verificou a presença ou ausência de embrião e batimentos cardíacos. Das 33 receptoras apenas 26 estavam aptas a TE. Receptoras que apresentavam diâmetro do CL menor 15mm no total de 14 animais 6 ficaram gestantes (42,9%), que comparado com o grupo de maior diâmetro 15mm (33,3%) 4 ficaram gestantes, pois mesmo ele se apresentando em menor diâmetro a taxa de gestação foi superior ao outro grupo.

PALAVRAS-CHAVE: corpo lúteo; progesterona; transferência de embriões.

1. INTRODUÇÃO

A busca por formas sustentáveis de produção está levando a pecuária bovina a procurar cada vez mais eficiência reprodutiva levando a inovação através de biotécnicas de reprodução animal *in vivo* (transferência de embriões – TE) e *in vitro* (produção de embriões *in vitro* - PIVE), podendo desta forma, promover uma seleção rápida dos animais mais produtivos e possibilitando as observações comparativas entre produtos dos diferentes cruzamentos (MARTINS, 2010).

Em razão da situação econômica da pecuária mundial exige-se hoje uma alta produtividade, esperando o retorno do capital investido. Para um desempenho e uma rentabilidade econômica e lucrativa, a reprodução entra como um componente de grande importância para a pecuária. Assim, as técnicas de inseminação artificial,

sincronização de estro e transferência de embriões são recursos utilizados para aumentar os índices reprodutivos (VIANA *et al.*, 1999).

Tem sido observado um aumento significativo em programas de melhoramento bovino através da PIVE. Entretanto, a proporção de embriões que atingem o estágio de blastocisto e os índices de concepção, se encontram em torno de 35 a 50% (NEVES *et al.*, 2010).

Através da caracterização do corpo lúteo (CL) pode-se obter informações importantes sobre o estado reprodutivo da fêmea bovina o que possibilita a adequação de procedimentos de manipulação ou sincronização do ciclo estral (VIANA *et al.*, 1999). A seleção das receptoras no dia da transferência de embriões geralmente é realizada levando-se em consideração o tamanho do CL à palpação transretal.

Foi descrito por Vasconcelos *et al.* (2001) que, quanto maior a área dos corpos lúteos maior é a quantidade de P4 secretada, influenciando positivamente no reconhecimento materno da gestação e, conseqüentemente, na taxa de prenhez. Segundo Bridges (2007), a influência dos níveis plasmáticos de progesterona (P4), passam por uma série de fatores além do tamanho do CL.

Nos ruminantes a progesterona tem como principal atividade a criação de um ambiente adequado uterino onde o embrião produzirá também quantidade suficiente de interferon, que está relacionado a secreção de progesterona maternal. A concentração mínima de progesterona para manter uma gestação é conhecida (3 a 20mg/ml), mas se sabe que a manutenção de um corpo lúteo funcional é essencial em bovinos para que a gestação possa ser concluída.

Neste contexto, objetivou-se correlacionar o tamanho do corpo lúteo formado na sincronização da ovulação sobre a taxa de concepção de receptoras de embriões bovinos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Definição e Formação do Corpo Lúteo

Em 1573 foi descoberto por Coiter o corpo lúteo (CL) (LUZ, 2004). Marcello Malpighi em 1689 estuda a sua origem, função e regulação. Regnier de Graaf em

1672 descreve o corpo lúteo como corpos globulares, estruturas que permaneciam no ovário de coelhas entre o coito e o parto e o número de estruturas relacionado à quantidade de filhotes ou, então, estruturas transitórias na ausência de fertilização (NISWENDER *et al.*, 2000).

Após a ovulação se dá a formação do corpo lúteo, com a reorganização das células da granulosa e das células da teca interna do folículo que ovulou, dando origem a uma glândula endócrina temporária, localizada na camada cortical do ovário. Conhecido também como corpo amarelo (por ter uma coloração amarelada, devido ao hormônio luteínico nele presente), é uma estrutura endócrina, que existe nas fêmeas de mamíferos temporariamente, relacionada com a produção do hormônio progesterona, necessário para a manutenção da gestação. (SENGER, 2003).

O corpo lúteo pode ter duração variável. Quando este é formado em ciclo estral sem ocorrência de gestação é chamado de Corpo Lúteo Cíclico e tem vida curta (mais ou menos 12-14 dias). Caso ocorra a gestação o corpo lúteo é chamado de Gestacional e se mantém até o final da gestação (JUNQUEIRA, 2004).

Os estímulos liberados pelo hormônio luteinizante (LH) antes da ovulação é que provocam a reorganização do folículo ovulado e o desenvolvimento do corpo lúteo. Ainda sob efeito do LH, as células modificam seus componentes enzimáticos e começam a secretar progesterona e estrógeno e os estímulos que ele recebe após sua formação é que irão influenciar o destino do corpo lúteo (JUNQUEIRA, 2004).

Após a ovulação mesmo que as células da granulosa não se dividam elas aumentam muito de tamanho, compondo, aproximadamente, 80% do parênquima do corpo lúteo e passam a receber o nome de células da granulosa-luteínicas, com características de células secretoras de esteróides. O crescimento inicial do CL é exacerbado e seu volume aumenta mais de seis vezes na primeira metade do ciclo estral bovino (ZHENG *et al.*, 1994).

A liberação do fluido folicular resulta em um colapso da parede do folículo, que se torna pregueada. Em consequência da ovulação, um pouco de sangue pode fluir para a cavidade do antro folicular, onde coagula e é depois invadido por tecido conjuntivo. Esse tecido conjuntivo, juntamente com restos de coágulo de sangue que são gradualmente removidos, forma a parte mais central do corpo lúteo (JUNQUEIRA, 2004).

Com o estímulo inicial de LH (hormônio responsável pela ovulação) o corpo lúteo é programado para secretar progesterona durante 15-16 dias do ciclo estral. Se não acontecer um estímulo adicional, suas células se degeneram por apoptose, isso ocorre quando uma gestação não se estabelece (JUNQUEIRA, 2004).

Altas taxas de progesterona circulante inibem a liberação do LH pela hipófise. No entanto, após a regressão do corpo lúteo, a concentração deste esteróide do sangue diminui e LH é liberado em quantidades maiores, estimulando uma nova ovulação (HAFEZ, 2004).

O corpo lúteo que dura só parte de um ciclo estral é substituído pelo corpo albicans, pois após a luteólise os fibroblastos invadem a área do CL e produzem uma cicatriz de tecido conjuntivo denso (HAFEZ, 2004).

2.2. Características do corpo lúteo

Durante o ciclo estral, o corpo lúteo passa por intensas modificações na composição tecidual, no peso e no diâmetro luteal (AKINPELUMI e ORJI, 1990; FIELDS e FIELDS, 1996).

Depois que ocorre a ovulação, até o dia 5 do ciclo, o corpo lúteo mostra-se em processo de formação, com uma textura leve e apresentado cor avermelhada. Entre os dias 5 e 10, seu aspecto é grande e oval e com coloração de marrom a laranja. Dos dias 11 aos 14, apresenta completa luteinização, com textura firme e cor amarela brilhante. Neste período de 5 a 14, o corpo lúteo apresenta um rápido crescimento e aumento do volume, devido à alta proliferação celular (AKINPELUMI e ORJI, 1990).

Aos 3 dias, em algumas vacas após ovulação, um CL pesa em média 640mg e, aos 14 dias, 5,1g (FIELDS e FIELDS, 1996). A partir do dia 15, o amarelo torna-se opaco, iniciando o processo de regressão. Na fase final de regressão, sua coloração é creme e de textura firme (AKINPELUMI e ORJI, 1990).

O corpo lúteo pode apresentar-se no ovário esquerdo ou direito, variando sua incidência conforme alguns estudos (VIANNA *et al.*, 1999).

Podem ser realizadas algumas mensurações do CL, como o comprimento, largura e volume, tendo grande variação na literatura em todos estes parâmetros (NEVES *et al.*, 2002; RAMOS *et al.*, 2008).

O corpo lúteo se classifica em protuso e incluso, cavitário e não-cavitário podendo durante o seu desenvolvimento, o tecido luteal ocupar a parte interior do ovário, sendo chamado de incluso, ou proliferar, excessivamente, extrapolando para fora do ovário, denominando-se protuso (SENGER, 2003).

As cavidades luteais podem ser vistas em corpos lúteos de animais gestantes (86%) e não gestantes (77%), e essa cavidade ocorre devido à ocupação incompleta da cavidade folicular pelas células, durante a luteinização, não sendo funcionalmente importantes e não afetando a taxa de gestação ou a produção de progesterona (KASTELIC *et al.*, 1990; BORGES *et al.*, 2003).

2.3. Progesterona e corpo lúteo

Entre as fases de crescimento, manutenção e regressão, a progesterona apresenta variação na sua secreção e concentração plasmática, durante o ciclo estral, refletindo a funcionalidade do CL (BORGES *et al.*, 2003).

Em fêmeas bovinas, a síntese de progesterona necessita de uma secreção pulsátil de LH durante a fase luteal e da disponibilidade de colesterol (NISWENDER *et al.*, 2000). O colesterol é sintetizado, principalmente, no fígado e transportado para o corpo lúteo, na forma de lipoproteínas de alta densidade (HDL) e de baixa densidade (LDL). Nos bovinos, tanto as LDL quanto as HDL contribuem para o aumento na produção de progesterona pelas células do corpo lúteo, sendo que as LDL são as mais efetivas por ser o principal carreador plasmático de colesterol. Cada molécula de LDL contém aproximadamente 2.500 moléculas de colesterol (MILVAE *et al.*, 1996; NISWENDER *et al.*, 2000).

O LDL liga-se a receptores específicos na membrana plasmática da célula esteroidogênica, sendo englobado pela membrana formando o endossomo. Após a internalização, enzimas específicas presentes no lisossomo da célula combinam-se com o endossomo promovendo a dissociação do LDL e disponibilizando o colesterol para a célula. O HDL encontra-se conjugado a proteínas plasmáticas que, quando se ligam a membrana celular, promovem o transporte do HDL para o citoplasma e disponibilização do colesterol para a esteroidogênese (MILVAE *et al.*, 1996; NISWENDER *et al.*, 2000).

O LH liga-se a receptores específicos ativando a proteína G na membrana celular, que, por sua vez, ativa a adenilato ciclase, promovendo a conversão de ATP em AMPc ativando a Proteína Kinase A (PKA). Esta enzima, ativa o colesterol esterase acelera a internalização do LDL que favorece a conversão de colesterol éster em colesterol e ácidos graxos, no citoplasma, disponibilizando maior quantidade de lipídeos, e através da fosforilação das proteínas transportadoras (DAVIS *et al.*, 1996; NISWENDER *et al.*, 2000) facilitando o transporte de colesterol do citoplasma para a membrana mitocondrial.

Um aumento na expressão de enzimas na matriz mitocondrial é necessário para a conversão do colesterol em progesterona. O colesterol transportado para a matriz mitocondrial é clivado pela enzima P450scc, transformando-o em pregnenolona. A pregnenolona é convertida em progesterona, sob a ação da enzima 3β -HSD, que se espalha no citoplasma da célula e, entrando depois na corrente sanguínea em direção aos tecidos alvo (NISWENDER e NETT, 1994; BERTAN *et al.*, 2006).

No aparelho reprodutivo da fêmea a progesterona desempenha diversas funções. Após a ovulação e com o desenvolvimento do CL, ocorre aumento das concentrações de progesterona, que promove durante a gestação, o relaxamento do miométrio (BERTAN *et al.*, 2006).

O aumento da progesterona estimula a secreção das glândulas endometriais, mantendo o útero em condições para o desenvolvimento embrionário. Durante toda gestação, o corpo lúteo na vaca não é a única fonte de produção de progesterona (BERTAN *et al.*, 2006).

2.4 Sincronização de receptoras

Para que ocorra a TE é fundamental a sincronização de receptoras, pois sem ela seria necessário um número elevadíssimo de receptoras para o uso do cio natural ou a criopreservação dos embriões. No primeiro caso o custo de manutenção dessas fêmeas seria imenso, e no segundo haveria uma grande diminuição das taxas de prenhez dos embriões (BARUSELLI *et al.*, 2000).

São várias as técnicas de controle do ciclo estral para sincronização de receptoras, à base de prostaglandina que é um protocolo mais antigo aos mais

modernos protocolos, que associam vários fármacos, que utilizam o conceito de sincronização do crescimento folicular e da ovulação.

A sincronização entre o estágio de desenvolvimento do embrião e o trato reprodutivo da receptora é um pré requisito à TE (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Um dos tratamentos usados para a sincronização consiste em administrar duas doses de PGF2 α com intervalos de 11 a 14 dias. , em torno de 80% delas apresentarão sinais de estro 5 dias após o tratamento, se todas as receptoras estiverem ciclando, mas devido a baixa acurácia na detecção do estro, apenas 50% das receptoras tratadas serão detectadas em cio, apresentarão CL e receberão um embrião 7 dias após o estro (BÓ *et al.*, 2004).

Conforme Bó *et al.* (2012), para aumentar a proporção de receptoras gestantes sobre o número de fêmeas sincronizadas usa-se uma estratégia muito comum em bovinos de corte mantidos a pasto na América do Sul que é adição de 400 UI de eCG no dia 5 ou no dia 8 do protocolo de sincronização associando-se ao estradiol e progesterona. Porque este fármaco durante a fase lútea subsequente proporciona uma maior concentração de progesterona, pela qualidade do CL formado (MARINHO *et al.*, 2012).

Após a primeira transferência as fêmeas receptoras, que retornarem ao estro podem ser novamente aproveitadas para posteriores transferências, mas aquelas que não conceberem depois de três tentativas consecutivas devem ser descartadas e, na medida do possível, substituídas do rebanho (GONÇALVES *et al.*, 2008).

3. METODOLOGIA

3.1. Animais

Para realização desse experimento foram utilizadas 33 fêmeas bovinas da raça Tabapuã, sendo 22 vacas e 11 novilhas, com escore de condição corporal (ECC) entre 1,5 e 3,75 na escala de 1 a 5. Os animais em estudo, pertencem a uma propriedade localizada no município de Matipó - Minas Gerais, Brasil, são criados em condições de manejo extensivo, em pastagens de *Brachiaria decumbens* e água *ad libitum*, e nesta fase receberam alimentação suplementada com sal mineral.

3.2. Delineamento experimental

Foi realizada administração hormonal exógena nas fêmeas que seriam utilizadas como receptoras de embriões, para sincronização do seu ciclo estral e ovulação. Foi utilizado um mesmo protocolo para todos os animais, descrito abaixo.

- Dia 0 (manhã) – Colocação de dispositivo intravaginal de progesterona (P4; Sincrogest® Ourofino) e aplicação de 2ml de Benzoato de estradiol (BE; Sincrodiol® Ourofino) .
- Dia 8 (manhã) – Retirada do dispositivo de progesterona, e aplicação por via intramuscular 10mg de cloprostenol sódico (PGF2 α ; Lutalyse®, Zoetis), 1 mg de cipionato de estradiol (CE; ECP®, Zoetis) e 400 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG; Folligon®; Intervet).
- Dia 10 (manhã) – Aplicação de 0,05mg de acetato de gonadorelina (GnRH; Gestran plus®; Tecnopec)

3.3. Avaliação e seleção das receptoras

A avaliação das receptoras foi realizado por meio de um aparelho de ultrasson (Chison D600 VET) acoplado a probe linear transretal de 7,5MHz no 16º dia após o início do protocolo. Durante esta avaliação foi mediante constatação ou não a presença de um corpo lúteo ativo, foram selecionadas receptoras aptas à TE aquelas que apresentaram um CL, e identificado o lado do ovário em que a estrutura se encontrava.

3.4. Mensuração do corpo lúteo

A mensuração do CL foi realizada no momento do exame ultrassonográfico, quando identificado o CL, foram retiradas as medidas em diâmetro do mesmo.

3.5. Transferência de embriões (TE)

Sete dias após a ovulação (17 dias após iniciar a sincronização) foi realizada a inováção dos embriões. Os embriões eram provenientes de um laboratório de PIVE localizado na cidade de Mogi Mirim, São Paulo. No sétimo dia (D7) de desenvolvimento embrionário os embriões produzidos foram classificados de acordo com seu estágio de desenvolvimento, como mórula, blastocisto inicial, blastocisto ou blastocisto expandido, envasados em palhetas de 0,25 mL, e acondicionados em estufa com temperatura regulada a 36 °C para transporte ao local da TE.

Nestas condições os embriões foram mantidos até o momento de sua transferência para o útero receptor. A inovulação se deu a partir da colocação da palheta contendo o embrião em uma bainha plástica, acoplado ao inovulador e coberta posteriormente com uma camisa sanitária. As receptoras pré-selecionadas, foram preparadas com anestesia peridural com 3ml de lidocaína 2%, e higienização perineal. O aplicador via vaginal para transpor a cérvix e despejar o embrião no corno uterino ipsilateral ao ovário que contém o CL, foi introduzido pelo técnico responsável pela inovulação.

3.6. Diagnóstico de gestação

Trinta dias após a TE foi feito o diagnóstico de gestação que se verificou a presença ou ausência de embrião e batimentos cardíacos, com o auxílio de ultrassom Chisson D600 Vet com a probe linear transretal de 7,5MHz.

3.7 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas pelo método de Qui-quadrado das médias adquiridas pelo diâmetro do corpo lúteo e taxa de concepção. Depois foram submetidas a uma análise de variância, em caso de significância.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Efeito do tamanho do corpo lúteo sobre a taxa de concepção em receptoras de embriões bovinos.

Diâmetro do CL (mm)	N	N gestantes	% concepção
< 15	14	6	42,9 ^a
> 15	12	4	33,3 ^b
Total	26	10	38,5

As letras sobrescritas indicam diferença na coluna entre os grupos testados. Análise realizada pelo teste de Tukey $P < 0,05$

Receptoras que apresentavam diâmetro do CL menor 15mm no total de 14 animais 6 ficaram gestantes (42,9%), que comparado com o grupo de maior diâmetro 15mm (33,3%) 4 ficaram gestantes, pois mesmo ele se apresentando em menor diâmetro a taxa de gestação foi superior ao outro grupo.

Conforme os estudos apresentados por Gonçalves *et al.*(2008), a TE é uma biotécnica de grande potencial, que oferece uma série de vantagens para a seleção zootécnica na seleção e multiplicação de animais geneticamente superiores com consequente reflexo sobre a produção animal, existindo por isso, várias aplicações de importância zootécnica, biotécnica e comercial.

Identificando com os estudos de Mariani *et al.* (2013), que também não verificaram correlação entre o tamanho do CL e taxa de prenhez, independente do protocolo utilizado, onde ovários foram avaliados por palpação retal no momento antes da inovulação dos embriões, após foram classificados os corpos lúteos nos seguintes tipos: CL-1 tamanho pequeno, com 10 a 15 mm de diâmetro, CL-2 tamanho médio, com 16 a 20mm de diâmetro, CL-3 tamanho grande, maior que 20mm de diâmetro e CL-4 incluso, sem assimetria na superfície ovariana, medidas obtidas utilizando o ultrassom. O diagnóstico de gestação foi realizado também 30 dias após as inovulações, onde a taxa de prenhez foi de 35,77% sendo 34,78% nas receptoras que apresentaram CL-1 (n=46), 36,25% nas que apresentaram CL-2 (N=80), 35,96% nas que apresentaram CL-3 (n=114) e 35,00% nas que apresentaram CL-4 (n=20).

Pessoa *et al.* (2014), em seus resultados também descreveram não ter efeito significativo sobre a taxa de prenhez, onde foram analisadas 524 transferências de embriões produzidos *in vitro*, sendo 371 oriundo de embriões frescos e 153 de embriões vitrificados. A seleção das receptoras também foi pela identificação do CL em: 1- grande (>16mm), 2 – médio (>12 e e < 16mm) e 3 – pequeno (<12mm). A taxa de prenhez para CL grau 1 foi de 53,68% (102/190), CL grau 2 foi de 42,42% (42/99) e o grau 3 foi de 48,44(31/64).

Confrontando com os estudos de Jimenes *et al.* (2009), que afirmaram que receptoras com corpo lúteo de tamanho entre 18 e 20mm, obtiveram as melhores taxas de prenhez. Nesse estudo as receptoras foram separadas em grupos com CL de 16mm, grupo de CL 18mm, grupo de CL 20mm. A taxa de prenhez foi de 33,33% para o primeiro grupo de tamanho de 16mm (2/16), 46,15% para o segundo grupo 46,15(17/37) e para o terceiro grupo 59,46%(20/32).

Segundo os relatos de Pieroni (2009), as taxas de concepção de 30 e 60 dias, e a perda gestacional não se alteraram em função da qualidade do CL, que os autores traduzem por tamanho de corpo lúteo.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na literatura tem trabalhos que sugerem que quanto maior o CL menor seja a taxa de prenhez, porém com esses resultados é possível observar que receptoras com menor diâmetro de CL tiveram taxa de prenhez superior ao grupo de maior diâmetro, ficando claro dessa forma, que mesmo apresentando menor tamanho de CL, não prejudica a taxa de concepção obtido.

REFERÊNCIAS

AKINPELUMI, O.P.; ORJI, B.I. **Gross morphological and morphometric changes in ovaries of cycling white Fulani cows – Bos indicus**. Bulletin Animal Health, v.38, n.4, p.431-436, 1990.

BERTAN, C.M.; CESAR, M.C.; PUGINE, S.M.P. et al. **Indução da ovulação em vacas com gonadotrofina coriônica humana (hCG) purificada por cromatografia de afinidade**. Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science, v.43, n.3, p.379-386, 2006

BÓ, G.A; MORENO, D.; CUTAIA, L.; BARUSELLI, P.S; REIS, E.L. **Manipulação hormonal do ciclo estral em doadoras e receptoras de embrião bovino**. Acta Scientiae Veterinariae, Porto Alegre, v.32, p.1-22, 2004.

BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M. et al. **Desenvolvimento luteal e concentrações plasmáticas de progesterona em vacas das raças Gir e Nelore**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.32, n.2, p.276- 283, 2003.

BRIDGES G.A. **Impact of preovulatory estradiol concentrations on mechanisms affecting fertility in cattle**. Dissertation (Doctor of Philosophy) - School of the Ohio State University, OH, 2007.

FIELDS, M.J.; FIELDS, P.A. **Morphological characteristics of the bovine corpus luteum during the estrus cycle and pregnancy**. Theriogenology, v.45, n.7, p.1295-1325, 1996.

GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2008.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Coogan, 2008. 542 p.

KASTELIC, J.P.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. **Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers**. Theriogenology, v.33, p.1269-1278, 1990.

LUZ, M.R. **Função luteal e luteólise em cadelas: aspectos morfofuncionais**. 2004. 153f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu, SP, 2004.

MANTOVANI, A.P., BARUSELLI, P.S., BÓ, G.A., CAVALCANTE, A.K.S., GACEK, F. **Aumento das dimensões do folículo dominante e do corpo lúteo, da concentração plasmática de progesterona e da taxa de aproveitamento de receptoras de embrião bovino sincronizadas com CIDR-B por tempo prolongado.** Revista Brasileira de Reprodução Animal, 2002 (enviado para publicação).

MARIANI, A. C. B.; LOPES, F. B., SOUZA, J. F.; DIAS, F. E. F.; ARRIVABENE, M.; SOUSA, J. A. T; CAVALCANTE, T. V. **Influência do protocolo de sincronização de estro e do tamanho de corpo lúteo sobre a taxa de prenhez em receptoras inovuladas com embriões produzidos in vitro.** Comunicata Scientiae, v. 4, n. 3, p. 224-230, 2013.

MARINHO, L.S.R; UMTURA, R.M; MORETTI, F.; MOINO, L.L; RIGO, A.G; SANCHES, B.V; PONTES, J.H.F; SENEDA, M.M. **Programas de larga escala para receptora de embriões produzidos in vitro.** . In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 26, 2012. Foz do Iguaçu, Anais... Foz do Iguaçu, 2012, p 217-221.

MARTINS, C. F. **O impacto da transferência de embriões (TE) e da fecundação in vitro (FIV) na produção de bovinos no Brasil.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010. Disponível em: <<http://www.cpac.embrapa.br/noticias/artigosmidia/publicados/243/>>. Acesso em: 25.02 2016.

MILVAE, R.A.; HINCKLEY, J.C.; CARLSON, J.C. **Luteotropic and luteolytic mechanisms in the bovine corpus luteum.** Theriogenology, v.45, p.1327-1349, 1996.

MOURA M.T., MARQUES M.O., FRARE J., MADUREIRA E.H., BÓ G.A., BARUSELLI P.S. **Sincronização da ovulação com Crestar e Cidr para inovulação de embriões bovinos em tempo fixo.** Resúmenes do 4o Simposio Internacional de Reproducción Animal, p. 269, 2001. Huerta Grande, Córdoba, Argentina – 22 a 24 de Junho, 2001.

NEVES J.P, MIRANDA K.L, TORTORELLA R.D. **Progresso científico em reprodução na primeira década do século XXI.** Rev Bras Zootec. v.39, p.414-421, 2010.

NISWENDER, G.D.; NETT, T.M. **Corpus luteum an its control in infraprimate species.** In: KNOBIL, E.; NEILL, J.D. Physiology of Reproduction, 2nd ed. New York: Raven, 1994. v.2, p.781-816.

NISWENDER, G.D.; JUENGEL, J.L.; SILVA, P.J. et al. **Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum.** Physiological Reviews, v.80, n.1, p.1-29, 2000.

PESSOA, A.B.C.M.; PEREIRA E.T.N.; MELO M.I.V. **Influência do local de inovulação e do tamanho de corpo lúteo sobre a taxa de prenhez em programa de transferência de embriões bovinos em tempo fixo.** Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, v.38, n.4, p.237-241, out./dez. 2014.

PIERONI, J. S. P. **Influência do local de inovação de embriões produzidos in vivo e in vitro sobre as taxas de concepção de fêmeas bovinas e sua relação com a morfologia uterina.** 2009. 121f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal.

VASCONCELOS J.L.M, SARTORI R, OLIVEIRA H.N, GUENTHER J.G, WILTBANK M.C. **Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate.** Theriogenology.v.56, p.307-314, 2001.

VIANNA, J.H.M.; FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F. et al. **Características morfológicas e funcionais do corpo lúteo durante o ciclo estral em vacas da raça Gir.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.51, n.3, 1999.

CONTAGEM BACTERIANA TOTAL E ISOLAMENTO DE *Staphylococcus* sp. EM LEITE DE CABRA CRU DA REGIÃO DE SANTA MARGARIDA-MG

Acadêmica: Wirginia Henrique do Carmo

Orientador: Leandro Silva de Araújo

RESUMO

O leite caprino é altamente nutritivo e vem conquistando espaço no mercado, principalmente entre as pessoas com algum tipo de intolerância ao leite bovino. Constitui também um excelente meio de cultura para microrganismos que podem oferecer risco ao consumidor, e devem ser evitados por meio de medidas higiênic-sanitárias durante o manejo e processamento do leite. Entre os microrganismos que se encontram no leite cru, destaca-se o *Staphylococcus aureus*, capaz de produzir enterotoxinas termo resistentes. O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade microbiológica do leite de cabra cru proveniente de uma propriedade localizada no município de Santa Margarida-MG. As análises revelaram uma contagem de mesófilos totais inferior ou no limite estabelecido pela legislação vigente. Porém foi possível isolar *Staphylococcus* sp. Em nove das dez amostras coletadas a sensibilidade dos isolados foi variada frente a determinados antibióticos, sendo os mais eficientes a vancomicina, gentamicina, estreptomicina e enrofloxacina.

PALAVRAS-CHAVE: Cabra, leite, *Staphylococcus* sp.

1.INTRODUÇÃO

A participação da caprinocultura de leite, no cenário agropecuário nacional, tem aumentado de forma bastante significativa e superando o constante desafio de conquistar e manter novos mercados para o leite de cabra e seus derivados (GONÇALVES,2005).

O leite caprino vem assumindo importância na alimentação devido à sua composição nutricional, além de ser uma alternativa para aqueles indivíduos que possuem intolerância ao leite bovino, havendo também um aumento do consumo de derivados como iogurte e queijos (PEREIRA *et al.*,2005).

Por possuir uma riqueza nutritiva, o leite constitui em um excelente meio de cultura para o desenvolvimento de diversos microrganismos. O crescimento microbiano deve ser evitado por meio de condições higiênic-sanitárias adequadas, reduzindo a contaminação durante e após a ordenha, uma vez que microrganismos veiculados no leite conferem um risco à saúde pública, principalmente quando consumido *in natura* (MULLER, 2002).

Os produtos lácteos, especialmente o leite cru, são apontados como responsáveis por surtos de toxinfecções. Dentre os microrganismos comumente encontrados no leite e em seus derivados, destaca-se *Staphylococcus aureus*, reconhecido por sua capacidade de produzir enterotoxinas termo resistentes (GERMANO *et. al*, 2008).

Vários fatores influenciam na qualidade microbiológica do leite, entre elas citam-se as condições higiênico-sanitárias durante a ordenha e o armazenamento do leite nas propriedades que exploram a caprinocultura leiteira. E dentre as possíveis causas de perdas desta matéria-prima, destaca-se a acidificação decorrente da multiplicação bacteriana no leite, podendo ocorrer em toda a cadeia produtiva, desde a fazenda até a chegada na indústria de beneficiamento (MULLER, 2002).

A avaliação microbiológica do leite cru é, portanto fundamental como indicativo de sua qualidade, pois fornece o perfil da propriedade em relação à saúde dos animais, a higiene na ordenha, o sistema de armazenamento e a produtividade da fazenda. Inferindo assim também a respeito do potencial nutricional do leite, além de caracterizar a segurança alimentar do produto (PALES *et al.*, 2005).

Tendo em vista a importância da qualidade microbiológica do leite, O presente trabalho objetivou verificar a qualidade higiênico-sanitária do leite de cabra cru por meio da caracterização microbiológica de amostras obtidas em uma propriedade rural localizadas no município de Santa Margarida, Minas Gerais.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O leite caprino tem em sua composição ácidos graxos essenciais, vitaminas e proteínas com alto valor biológico, assim o produto é considerado altamente nutritivo. Possui boa digestibilidade e hipoalergenicidade que se dá pelos glóbulos de gordura pouco presentes (JUNIOR *et al.*, 2015)

Existem no Brasil aproximadamente 7,1 milhões de caprinos. Um total de 286.553 criadores registrados. Destes 18.008 criadores dedicam-se à produção de leite. Em 2014 a produção chegou a 21.275.000 litros, e cada estabelecimento chega a produzir 1.181,41 litros de leite ao ano, com produção diária por animal de 3,24 litros em média (CEZARIO, 2014).

Em Minas Gerais a caprinocultura ainda se apresenta menos desenvolvida que em outras regiões do país, sendo que no ano de 2012, encontrava-se com 114.682 caprinos, número bem menor em relação aos demais estados. No entanto, a região da zona da Mata mineira tem se destacado com grupos de criadores de caprinos, como na região de Barbacena, onde foi fundada a primeira Associação de Produtores de Leite de Cabra (FAEMG, 2014).

A qualidade do leite *in natura* é influenciada por vários fatores zootécnicos que estão associados ao manejo, alimentação, genética dos rebanhos e armazenagem do leite. Uma das causas de perdas em sua composição físico-química por exemplo é a mastite, que provoca um aumento na contagem de células somáticas (CCS) no leite, e contagens bacterianas, o que figura como risco potencial à saúde do consumidor (MULLER, 2002).

Os microrganismos encontrados no leite, além de provocarem alterações como a degradação de seus constituintes normais, o que torna o produto inaceitável para consumo, pode se tornar um veículo de enfermidades (CORDEIRO *et al.*, 2002), relacionados a deficiências na higiene durante o processo de obtenção, manipulação, fabricação e conservação do leite (ALMEIDA & FRANCO, 2003).

As bactérias são os principais microrganismos envolvidos com o decréscimo na qualidade do leite, visto que os vírus, fungos e leveduras têm participação reduzida em termos de contaminação. Com relação à faixa de temperatura ótima para multiplicação, as bactérias podem ser classificadas em psicrófilas, mesófilas e termófilas. A faixa ótima de crescimento da microbiota psicrófila encontra-se entre 0°C e 15°C; a das mesófilas, entre 20°C e 40°C; e das termófilas entre, 44°C e 55°C. Além dessas, duas outras categorias de microrganismos são importantes: as bactérias psicrotróficas e as termodúricas (FONSECA & SANTOS, 2007).

A maioria das bactérias patogênicas são mesófilas. Os mesófilos totais são utilizados como indicadores da possível presença de bactérias patogênicas no leite. A contagem deste grupo de bactérias inclui os microrganismos que crescem em aerobiose e em temperatura de incubação entre 15 e 40°C com uma temperatura ótima de 35°C. Este tipo de contagem é utilizado na determinação da qualidade bacteriológica do alimento examinado. Além de fornece informações sobre a eficácia da higiene no processo de fabricação, do efeito da temperatura de conservação, e do grau de alteração do alimento (GOTTARDI *et al.*, 2008).

Dentre os microrganismos possíveis de serem encontrados no leite e em seus derivados, destaca-se o *Staphylococcus aureus*, reconhecido por sua capacidade de produzir enterotoxinas. Este agente apresenta-se na forma de cocos Gram positivos, β – hemolíticos, formador de colônias pigmentadas de coloração variável de acordo com o meio utilizado. Aos testes bioquímicos exibe resultado positivo aos testes de catalase, coagulase, maltose e manitol. (FAGUNDES *et al*, 2004)

Os *Staphylococcus* sp. crescem bem a uma temperatura de 37°C, porém tem melhor formação de seus pigmentos em temperatura ambiente de 20 a 25°C. Suas colônias em meio sólido tomam formas arredondadas, lisas, elevadas e brilhantes. As colônias de *S. aureus* são acinzentadas a amarelo intenso, as de *S. epidermidis* apresentam-se de cor cinza a branco e as de *S. saprophyticus* são brancas. Em condições anaeróbicas e em caldo não formam pigmento. (FREITAS, 2007)

A avaliação microbiológica dos alimentos reflete as condições higiênicas relacionadas com a produção, armazenamento, transporte e manuseio, e é uma ferramenta valiosa não apenas na prevenção de doenças transmitidas por alimentos, mas também para identificação dos agentes etiológicos responsáveis em ocorrência das mesmas. O leite, independente de sua origem, deve garantir qualidade e inocuidade ao consumidor (SENA, 2000).

A qualidade higiênica pode ser avaliada utilizando-se muitos parâmetros como contagem bacteriana total (CBT) e a contagem de células somáticas (CCS) (Picinin, 2003). De acordo com a Instrução normativa nº 37 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) o leite de cabra, quando cru, deve apresentar Contagem Padrão em Placas (CPP) de, no máximo, 500.000 UFC/mL 5×10^5 Unidades Formadoras de Colônias por mililitro) (BRASIL, 2000).

Para uma boa qualidade e higienização do leite durante a ordenha deve-se adotar padrão de rotina correto, o local deve ser limpo, os utensílios bem conservados e higienizados, o ordenhador também deve estar limpo, principalmente as mãos bem lavadas e com luvas. Ainda na ordenha deve-se manter um padrão de entrada das cabras, para que as fêmeas sadias e as primíparas sejam ordenhadas primeiro, em seguida as múltiparas, depois as fêmeas que já tiveram mastite e, por último, as doentes. Essa ordem tem como principal finalidade de manter a saúde do úbere, controlar a mastite, evitar o descarte de animais produtivos, reduzindo,

portanto, a contaminação por microrganismos no leite para o consumo. (MORORÓ *et al.*; 2010).

É necessária também a implantação de medidas preventivas e de controle nas propriedades ou identificação de falhas em programas de controle já instalados nas criações leiteiras, afim, de que seja possível limitar a contaminação durante a cadeia produtiva do leite, de modo a oferecer um produto de maior qualidade (PEIXOTO *et al.*, 2011).

Com relação à susceptibilidade *in vitro* dos agentes contaminantes do leite, vem sendo observado o aumento da resistência bacteriana aos antimicrobianos convencionais, o que se alerta para adoção de novos protocolos.(JUNIOR *et al.*, 2011). A resistência aos antimicrobianos é um fenômeno genético, relacionado à existência de genes contidos no microrganismo que codificam diferentes mecanismos bioquímicos que impedem a ação das drogas. A resistência pode ser originada em mutações que ocorrem durante seu processo reprodutivo e resultam de erros de cópia na sequência de bases que formam o DNA cromossômico ou a partir da importação dos genes causadores do fenômeno em processos de transdução, transformação e conjugação (TAVARES,2000).

No Brasil, os estafilococos, tanto o *S. aureus* como o *S. epidermidis*, mostram-se resistentes à diversos antimicrobianos como a penicilina G, ampicilina e amoxicilina em mais de 70% das cepas isoladas. É necessário, porém, a contínua averiguação da sensibilidade destes patógenos, a fim de se determinar o aumento dos estafilococos resistentes (TAVARES, 2000).

Como exposto acima a avaliação microbiológica é fundamental na determinação da qualidade dos alimentos, principalmente no que tange a leite cru. Deste modo, neste trabalho, amostras de leite de cabra cru foram analisados quanto à Contagem Bacteriana Total (CBT), presença de *Staphylococcus* sp. e perfil de sensibilidade destes últimos a diferentes antimicrobianos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local de Execução

Foram coletadas 10 amostras de leite de cabra cru, em um total de 85 animais em lactação na propriedade produtora de leite de cabra, no município de Santa Margarida-MG. O proprietário foi previamente comunicado a respeito da

manipulação necessária, coletas de amostra e métodos utilizados na pesquisa. As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia Veterinária do Hospital Escola Univértix.

3.2. Coleta de amostras

No dia da coleta foram levantados dados a respeito das instalações, do manejo, de produção e número de animais em lactação. Em seguida foi realizado o exame clínico da glândula mamária e o Califórnia Mastite Teste (CMT) em dez caprinos em lactação selecionados aleatoriamente.

O exame clínico foi realizado através da palpação e inspeção de todo úbere, em um total de 85 animais, observando a presença de processo inflamatório, traumatismos e arranhões. O CMT foi realizado com auxílio de uma raquete com marcação correspondente para cada teto. Para tanto, posicionou-se a raquete abaixo de cada teto e retirou-se um jato de leite sobre a marcação correspondente e em seguida foi adicionado o reagente comercial. De acordo com a reação, ausência ou presença de grumos, bem como conforme a intensidade dos grumos formados, foram estabelecidos os resultados (zero, 1, 2 e 3), anotados em planilha própria.

Independentemente dos resultados obtidos nestes exames foram coletadas amostras de leite dos 10 animais selecionados sem distinção de tetos. Foram coletados 50 mL de leite em frascos estéreis com tampa rosqueável devidamente identificados, após os tetos terem sido desinfetados com álcool 70% e o primeiro jato descartado. Após a coleta, os frascos foram armazenados sob refrigeração até seu processamento, para exame bacteriológico.

3.3. Avaliação microbiológica

3.3.1. Contagem Padrão em Placa

Para enumeração dos aeróbios mesófilos, cada amostra de leite foi diluída em água peptonada 0,1% até 10^{-3} , inoculados em Ágar de Contagem em Placa (OXOID) pelo método Spread Plate e incubados a uma temperatura de 37°C por 24-48 horas. O crescimento foi avaliado e as colônias enumeradas nas diluições que apresentaram número entre 25 e 250 colônias. Todas as colônias, de diferentes morfologias, provenientes de cada amostra, foram isoladas por estria simples em ágar BHI.

3.3.2. Isolamento de *Staphylococcus* sp.

As colônias isoladas provenientes do crescimento em meio BHI, foram semeadas em meio Chapman (OXOID), seletivo para *Staphylococcus*, e incubadas a 37°C por 24/48 horas. Bactérias do gênero *Staphylococcus* resistem a alta concentração de sal e manitol no meio e formam colônias de cor salmão a alaranjadas. As colônias que cresceram foram avaliadas quanto à morfologia esperada, coloração de Gram e submetidos ao teste da Catalase.

3.3.3 Antibiograma dos Isolados

Os microrganismos foram testados frente a 11 antimicrobianos pelo método de difusão em Ágar Müller-Hinton. As colônias isoladas ao meio seletivo foram diluídas e padronizadas em solução de NaCl 0,85% de acordo com o tubo 5 (grau 0,5 de turbidimetria que equivale a aproximadamente $1,5 \times 10^6$ células) da escala de McFarland. Em seguida, foi inoculado 0,1mL em Agar Muller-Hinton. Após breve período para a secagem da superfície do ágar, foram colocados os discos de antibiograma contendo os seguintes antibióticos: Estreptomocina (10µg), Enrofloxacina (10µg), Vancomicina (30µg), Gentamicina (10µg), Tetraciclina (30µg), Ceftiofur (30µg), Eritromicina (15µg), Amoxicilina (10µg), Amoxicilina+ Ácido Clavulânico (30µg). As placas foram então incubadas a 37°C por 18/24 horas, ao final deste período foram medidos os halos de inibição ao redor de cada disco. Para a interpretação dos resultados foi utilizada a tabela CLSI (CLSI, 2011). Após a medição dos halos a definições classificação foi a seguinte: Sensível (sugere que a cepa pode ser tratada com as doses usualmente recomendadas), Intermediária (ocorre quando o diâmetro do halo se encontra próximo ao do resistente) e Resistente (ocorre quando os microrganismos não são inibidos pelas concentrações usuais de antimicrobianos) (SILVA, 2007).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de caprinos que compunham o rebanho da propriedade eram de 230 animais entre adultos e filhotes, sendo 4 machos e 95 fêmeas. No momento da coleta encontravam-se em lactação 85 animais. Na propriedade, predominam plataformas de ordenha mecânica onde os animais ficavam dispostos lado a lado,

estando o ordenhador posicionado atrás do animal, e são adotadas medidas de higiene como pré e pós dipping, afim de se evitar enfermidades como a mastite.

Nenhum dos 10 animais submetidos a exames de palpação, teste da caneca do fundo preto e inspeção apresentou alteração ao exame clínico, indicando assim ausência de mastite clínica. Da mesma forma nenhum dos animais apresentou alterações ao teste CMT sendo a eles conferidos resultado zero. Segundo Muricy (2003), de um modo geral, os casos de mastite clínica em caprinos são pouco frequentes, o que é reafirmado por Contreras *et al.* (2007), onde relatam a incidência da mastite clínica em pequenos ruminantes inferior a 5% e subclínica entre 5 e 30%.

Todas as amostras foram positivas para o crescimento de aeróbio mesófilo, com valores de Contagem Padrão em Placa (CPP) variando de 2 a 12×10^3 UFC/mL (Tabela 1)

De acordo com a legislação brasileira vigente, o leite de cabra quando cru não deve ter uma carga de bactérias aeróbias mesófilas superior a 5×10^5 UFC/mL BRASIL (2000) de tal forma que todas as amostras analisadas se apresentaram em conformidade com a exigência para este produto. Os valores encontrados na contagem de aeróbios estão em concordância com a ausência de reagentes ao teste CMT.

Tabela 1: Número de aeróbios mesófilos, colônias diferentes isoladas de cada amostra e número de colônias positivas para crescimento em meio seletivo para *Staphylococcus* sp. encontrados em amostras de leite de cabra cru.

Amostra	Aeróbios mesófilos (UFC/mL)	Nº de colônias diferentes	Positivos para <i>Staphylococcus</i> sp.
1	$7,4 \times 10^3$	2	1 (50%)
2	$6,4 \times 10^3$	4	3 (75%)
3	$3,3 \times 10^3$	2	1 (50%)
4	$4,2 \times 10^3$	3	3 (100%)
5	5×10^3	2	0
6	$3,3 \times 10^3$	2	1 (50%)
7	10×10^3	1	1 (100%)
8	$12,1 \times 10^3$	3	1 (33%)
9	$11,6 \times 10^3$	3	1 (33%)
10	$2,6 \times 10^3$	3	2 (66%)
TOTAL	10	25	14 (56%)

Nó entanto valores abaixo do limite nem sempre são encontrados, como Menezes *et al.*, 2015, que observaram valores de que é de 3×10^5 UFC.mL, acima do limite de mesofilos em leite de cabra cru sem refrigeração. Os valores baixos obtidos neste trabalho podem ser decorrentes das boas técnicas de manejo, utilização de

ordenha mecânica bem como a higienização realizada nos animais, principalmente no momento da ordenha (pré e pós dipping).

Souza *et al.* (2006) atestam que exceto em casos de mastite, o leite ejetado apresenta baixo número de microrganismos, assim como registrado neste estudo. Afirmando ainda que a contaminação bacteriana do leite cru pode ocorrer a partir do próprio animal, do homem e do ambiente.

Paralelamente à contagem padrão foram observadas 25 colônias de morfologias diferentes. Foi possível a identificação de colônias brancas e circulares, amarelas e circulares, brancas produtoras de halos escuros. Alaranjadas e colônias cor de creme com bordas irregulares (Figura 1).

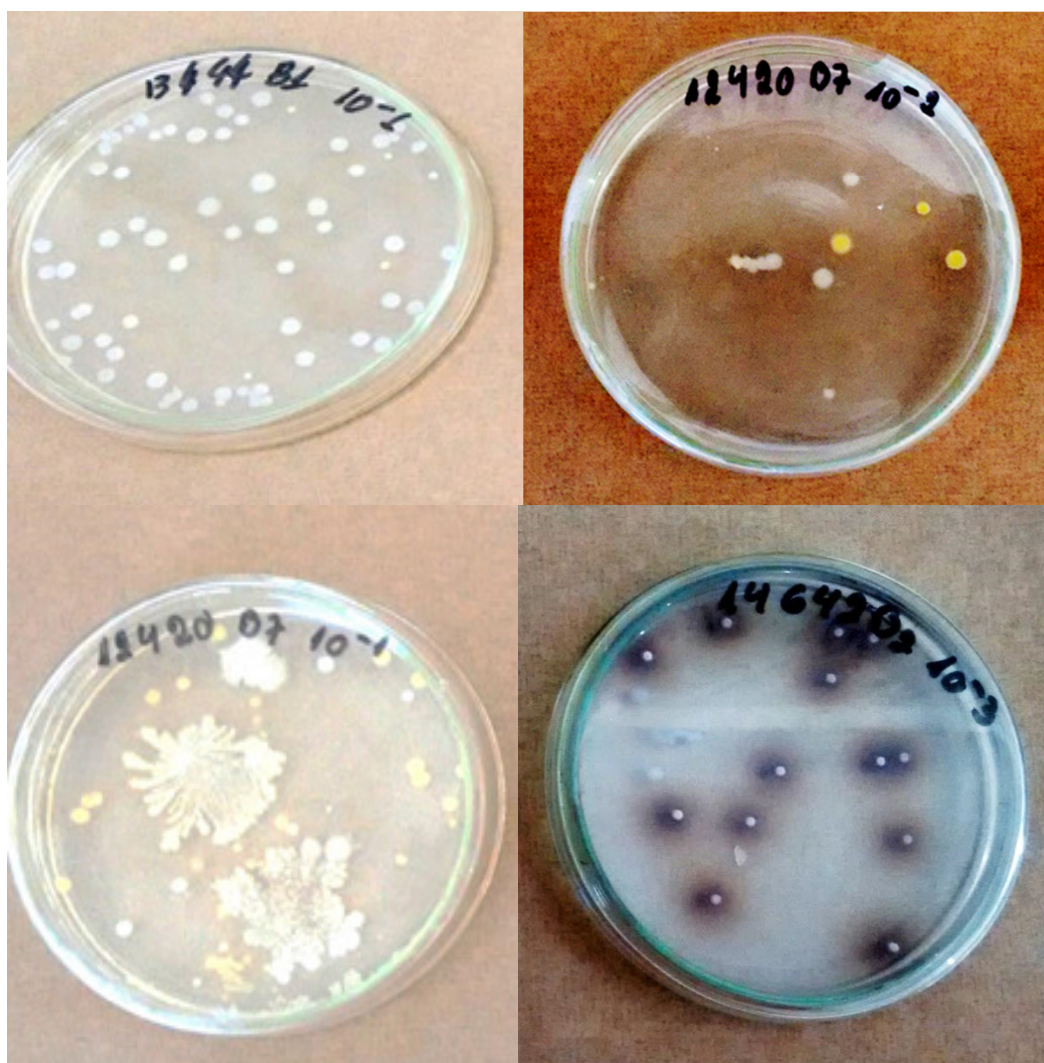


Figura 1: Colônias morfologicamente diferentes observadas durante a passagem das amostras em meio de Contagem Padrão em Placa.

O leite pode apresentar diversas espécies de contaminantes, depois de ser secretado pelo alvéolo, pode ser contaminado por microrganismos dentro da glândula mamária, na superfície exterior do úbere (tetos) e na superfície dos equipamentos, utensílios de ordenha e tanque de leite (GUERREIRO *et al.*, 2005).

Pode-se dizer que as bactérias mesófilas predominam em situações em que há falta de condições básicas de higiene de uma forma geral, bem como falta de refrigeração do leite. Bactérias como *Lactobacillus*, *Streptococos*, *Lactococos* e algumas enterobactérias atuam na fermentação da lactose, produzindo ácido lático e gerando, assim, acidez do leite, que é um dos problemas detectados com mais frequência em termos de plataforma para o leite não resfriado (FONSECA, 2007).

Após o isolamento destas colônias a seleção das mesmas em meio Chapman revelou 14 (56%) presença de *Stahylococcus* patogênicos cujas colônias típicas apresentam cor creme a alaranjadas, provenientes de 9 das 10 amostras coletadas (Figura 2A). Após o período de incubação as colônias típicas foram submetidas à coloração de Gram, que revelou arranjos de estafilococos gram positivos (Figura 2B). Ao teste da catalase todas as amostras obtidas a partir do meio seletivo revelaram-se positivas.

No trabalho de Muricy (2003), 90% das bactérias isoladas de 239 amostras de leite cru de caprinos do Rio Grande do Sul, em 2001, pertenciam ao gênero *Staphylococcus*. Gottardi *et al.* (2008) obtiveram contagens de colônias típicas de estafilococos coagulase-positiva entre 0 e 4×10^3 UFC/mL e nenhuma colônia, típica ou atípica, foi confirmada estafilococos coagulase-positiva. É ressaltado no mesmo trabalho que os estafilococos coagulase-negativa são agentes mais encontrados na glândula mamária dos caprinos.

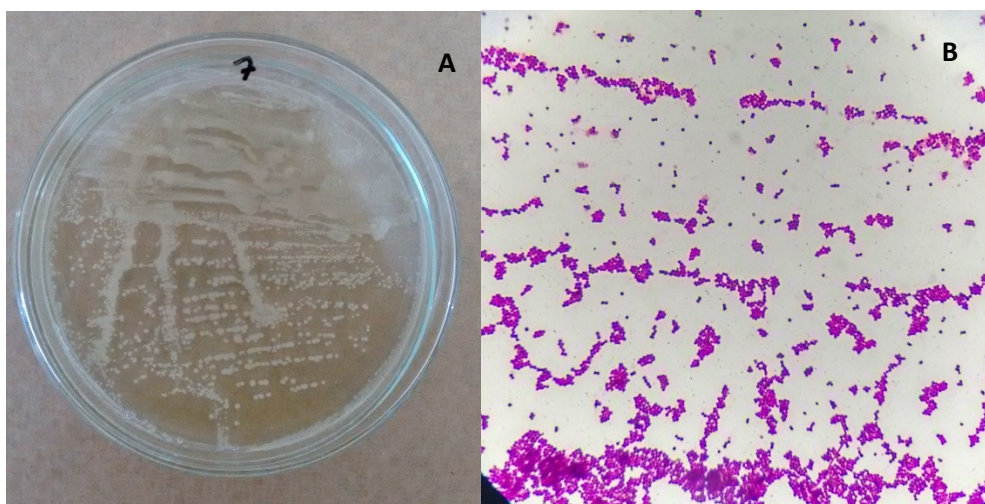


Figura 2: Isolamento de *Staphylococcus*. (A) Colônias cor creme típicas de *Staphylococcus* sp. estriadas em meio Chapman. (B) Coloração de Gram feita em colônias típicas.

O perfil de sensibilidade antimicrobiana dos *Staphylococcus* sp. isolados das amostras de leite caprino revelaram halos de inibição que variaram de 1mm até 41mm (Figura 3). A interpretação da mensuração dos halos é apresentada individualmente para cada isolado na Tabela 2. Os antimicrobianos mais eficientes foram Vancomicina, Gentamicina, Amoxicilina+clavulanato, Estreptomicina e Enrofloxacin para os quais 100% dos isolados foram sensíveis. Resistência foi demonstrada mediante os antimicrobianos Amoxicilina, para qual 71,4% dos isolados foram resistentes, Ceftiofur (85,7%), Tetraciclina (35%), Oxitetraciclina (28,5%).

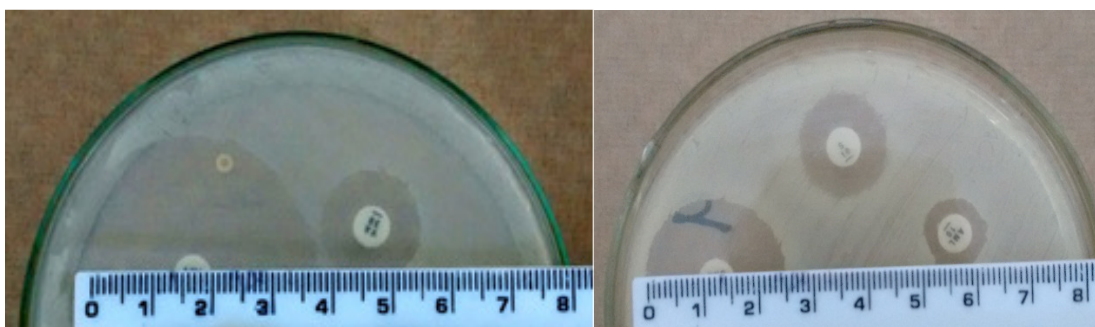


Figura 3: Halos de inibição formados ao redor dos discos de antimicrobianos.

Tabela 2: Resultados do antibiograma para 10 antimicrobianos, realizado com as colônias de *Staphylococcus* isolados do leite de cabra cru.

Colônia	Eritro	Tetra	Vanco	Genta	Amoxi	Oxitet	Amox+clav	Ceft	Estrepto	Enrof
1	I	R	S	S	R	R	S	R	S	S
2	S	R	S	S	R	R	S	R	S	S
3	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
4	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S
5	S	R	S	S	R	S	S	R	S	S
6	S	R	S	S	R	R	S	R	S	S
7	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S
8	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
9	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S
10	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S
11	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
12	S	R	S	S	R	S	S	R	S	S
13	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
14	S	I	S	S	R	S	S	R	S	S

I: sensibilidade intermediária, R: resistente. S: sensível Er: eritromicina; Tetra: tetraciclina; Vanco: vancomicina; Genta: gentamicina; Amoxi: amoxicilina; Oxitet: oxitetraciclina; amoxicilina+clavulanato; Ceft: ceftiofur; Estrepto: estreptomicina; Enrof: enrofloxacina.

Resultados semelhantes foram encontrados por Freitas *et al.* (2005), cujos isolados de *Staphylococcus*, provenientes de leite bovino, apresentaram 100% de sensibilidade à vancomicina e resistência a amoxicilina. No trabalho de Rapini *et al.* (2004), também foi observada resistência para tetraciclina, porém em desacordo com o obtido neste trabalho, observaram resistência também a gentamicina e eritromicina ao analisar *Staphylococcus* isolados de queijo coalho. De acordo com Salaberry *et al.*, (2013) há concordância nos resultados relativos à Vancomicina, gentamicina, amoxicilina e eritromicina, entretanto o ceftiofur foi altamente eficiente ao ser testado com leite proveniente de cabras com mastite subclínica. Rapini *et al.* (2004) relataram que a resistência pode estar relacionada ao uso indiscriminado de antibióticos.

Segundo Freitas *et al.* (2005) a alta eficácia da vancomicina deve-se, possivelmente, ao pouco uso deste antibiótico em medicina veterinária. A amoxicilina pertence ao grupo de antibióticos beta-lactâmicos e geralmente os estafilococos mostram elevada resistência (acima de 70%) à penicilina G, bem como, ampicilina e amoxicilina(TAVARES, 2000).

Através das análises foi possível verificar a presença de multirresistência em algumas colônias como a colônia 1, que apresentou resistência a tetraciclina, amoxicilina, oxitetraciclina e ceftiofur. A ocorrência de multirresistência é preocupante e implica em limitações para utilizações destes antibióticos na propriedade.

O teste de sensibilidade *in vitro*, permitiu detectar a sensibilidade das cepas de estafilococos e sugerir a utilização da estreptomicina ou gentamicina no tratamento *in vivo*, ao invés, de um medicamento de última geração. Devendo lembrar que muitas vezes um antibiótico apresenta-se sensível no teste *in vitro*, mas não tem boa eficácia *in vivo*.

Por tudo apresentado acima é possível afirmar que os *Staphylococcus* estão muito presentes na propriedade e podem tornar-se um problema, principalmente ser relacionado como um dos principais causadores de mastite. As medidas de controle

de infecções devem ser mantidas com rigor para prevenção de enfermidades bacterianas e queda na qualidade do leite.

5. CONCLUSÃO

As amostras coletadas revelaram que as medidas higiênico-sanitárias adotadas na propriedade são eficientes na prevenção da mastite e, por conseguinte gerou contagens baixas de aeróbio mesófilos. Entretanto a presença de *Staphylococcus* é frequente, uma vez que foi isolado de 9 das 10 amostras de leite de cabra cru coletadas.

Os resultados obtidos oferecem subsídios aos criadores quanto ao perfil de sensibilidade aos antimicrobianos, contribuindo dessa forma para o tratamento e controle de infecções causadas por estafilococos nos rebanhos estudados.

A presença de cepas de estafilococos multirresistentes é preocupante para a clínica veterinária e para a Saúde Pública, pois o leite além de fonte de renda para criadores de caprinos, é também um alimento em ascensão no mercado e na dieta de pessoas de várias faixas etárias.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA P.M.P,FRANCO R.M. 2003. Avaliação bacteriológica de queijo tipo minas frescal com pesquisa de patógenos importantes à saúde pública: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* e coliformes fecais. Higiene Alimentar. Vol.17; n.111; p.79-85.

BRASIL, Ministério da Agricultura. Instrução Normativa n° 37 de 31 de outubro de 2000. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade de leite de cabra. **Diário Oficial da União**, Brasília, p. 23, 8 nov. 2000. Seção 1.

CORDEIRO C.A.M., CARLOS L.A, MARTINS M.L.L. 2002. Qualidade microbiológica do leite pasteurizado tipo C proveniente de micro-usinas de Campos - RJ. Higiene Alimentar 16(92-93):41-44. Jay J.M. 2005. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Editora Artmed, Porto Alegre. 711 p.

CONTERAS A., SIERRA D., SANCHEZ A., CORRALES J.C., MARCO J.C., PAAPEM.J, GONZALO C. 2007. Mastitis in small ruminants. Small Rumin. Res. V.68,p.145-153.

CONTRERAS, A, PAAPE, M. J, MILLER, R. H. Prevalence of subclinical intramammary infection caused by *Staphylococcus epidermidis* in a commercial dairy goat herd. **Small Ruminant Research**, v.31, p.203-208, 1999.

CLSI. Normas de desempenho para testes de sensibilidade antimicrobiana: 15º suplemento informativo Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicos/saude/manuais/clsi/clsi_OPASM100S15.pdf. Acesso em: 25/05/2016.

FREITAS M.F.L, PINHEIRO J.W , STAMFORD T.L.M., RABELO S.S. A., SILVA D.R., SILVEIRA V.M. SANTOS F.G.B, SENA M.J. MOTA R.A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro de *Staphylococcus* Coagulase positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do estado de Pernambuco **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, Vol.72,N.2, P.171-177, abr./jun., 2005

FREITAS G.D, Comparação entre crescimento de unidade formadora de colônias (ufc) de *Staphylococcus* e *Klebsiella pneumoniae* e a sensibilidade destas cepas ao processo de pasteurização lenta, Dissertação pos-graduação, São Paulo-2007

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos. 3ª edição. Editora Manole, 2008.

GUERREIRO, KIARA.P, Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.29, n.1, p. 216-222, 2005.

GATTARDI. C.P.T, MURICY.R.F, SCHMIDT .M.C.V, Qualidade higiênica de leite caprino por contagem de califormes e estafilococos, UFRGS, **Ciência rural**, Santa Maria, v.38, n,3,p 743-748, Mai-Jun, 2008.

GONÇALVES .A.L, Avaliação de sistemas de reprodução de caprinos leiteiros na região sudeste do Brasil, Viçosa-MG, 2005

JANTSCH,T.F; FUCKS M.B. Avaliação estatística da qualidade microbiológica do leite em uma plataforma leiteira. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária** Ano XI – N.20 – Janeiro de 2013

MULLER E.E, Qualidade do leite, Células Somáticas e Prevenção da Mastite, Universidade Estadual de Londrina, 2002.

MENEZES I.R, ALMEIDA.A.C,MORÃO .R.P,SANTOS .C.A,LOPES .I.L.N, Qualidade microbiológica do leite cru produzido no Norte de Minas Gerais, **Revista Leros civet**, v.22,n,1, p.58-63, jan/mar.2015.

MURICY.R.F, OCORRÊNCIA DE MASTITE SUBCLÍNICA EM CAPRINOS E QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DO LEITE PRODUZIDO EM PROPRIEDADES ASSOCIADAS À COOPERATIVA LANGUIRU, TEUTÔNIA –RS. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003

PEREIRA .R.A.G,QUEIROGA .R.C.R.E,VIANNA .R.P.T,OLIVEIRA .M.E.G, Qualidade química e física do leite de cabra distribuído no Programa Social “ Pacto novo cariri” no estado da Paraíba. **Ver, Instituto Adolfo Lutz** 64(2): 2005-2011, 2005.

PALES.A.P, SANTOS K.J.G, FIGUEIRAS .E.A, MELO C.S, A importância da contagem de células Somaticas e contagem Bacteriana total para melhoria da qualidade do leite no Brasil.**Revista eletrônica Faculdade Montes Belos**, Goiás ISSN 1808-8597, v.1,n.2,p162-173, Novembro 2005.

RAPINI.L.S., TEIXEIRA J.P., MARTINS, N. E. , CERQUEIRA M.M.O.P., SOUZA M.R., PENNA C.F.A.M. Perfil de resistência antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* sp. isoladas de queijo tipo coalho. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**. v.56, n.1, p.130-133, 2004

SOUZA G.N,Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 3, p. 440-446, 2006.

SENA M.J. 2000. Perfil epidemiológico, resistência a antibióticos e aos conservantes nisina e sistema lactoperoxidase de *Staphylococcus* sp. isolados de queijos coalho comercializados em Recife (PE). Tese de doutorado, Escola de Veterinária, **Universidade Federal de Minas Gerais** (UFMG), Belo Horizonte. 75p.

TAVARES, W. Bactérias gram positivas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.33, n.3, p.281-301, 2000.

VITTORI J. SCHOCKEN.R.P,POIATTIL.M.L, PIGATOLL.C.P, CHIODAL T.P, RIBEROLL C.A.M. GARCIA.G.R, RAGAZANIL A.V.F, Qualidade microbiológica de leite UHT caprino: pesquisa de bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Bacillus* e *Clostridium* **Revista Ciência Rural**, v.38, n.3, mai-jun, 2008

TAVARES W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. V.33.n.3.p.281-301, mai-jun, 2000.

COMPORTAMENTO SEXUAL DE ZEBUÍNOS: ESTUDO DE CASO

Acadêmicos: Lucas Pierotti Stopa e Ulisses Condé Matos

Orientadora: Bruna Waddington de Freitas

RESUMO

O potencial reprodutivo de um touro é determinado pela soma de vários fatores, dentre eles está fortemente destacado à libido sexual, que é extremamente necessário para o sucesso da monta natural e fecundação da fêmea, além de ser um fator determinante para a seleção de touros utilizados na reprodução. O presente trabalho tem como objetivo relatar o caso de um animal com comportamento sexual inadequado para sua idade, que em função disso foi suplementado hormonalmente com medicamento à base de testosterona, e a partir disso, foram observados os resultados em relação ao interesse pelas fêmeas, e estudados com auxílio de testes de libido e pesquisas na literatura. No teste de libido realizado o animal apresentou apenas o reflexo do Flehmen e perseguição insistente da fêmea em estro, podendo concluir que este, possui uma libido insatisfatória, de acordo com parâmetros estipulados na literatura. Diante da realização de somente duas coberturas, num plantel de dez vacas, pode-se concluir que o animal é subfértil.

PALAVRAS CHAVE: libido; testosterona; touros.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho comercial de bovinos do mundo, com predominância de 80% de raças zebuínas (*Bos taurus indicus*) (MENDONÇA, 2010). Visto que 55% do rebanho bovino brasileiro é composto por fêmeas, o touro apresenta relevância na reprodução, uma vez que cerca de 93% dessas vacas são cobertas em manejo de monta natural (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

Neste cenário, a abordagem acerca do comportamento sexual de touros é importante e apresenta-se como contribuição zootécnica em função da especialidade da bovinocultura brasileira com elevado potencial comercial (BASCUNÃN *et al.*, 2008). A seleção de touros com alta capacidade reprodutiva e elevada fertilidade apresenta-se, dessa forma, fundamental para obtenção de melhores índices produtivos e reprodutivos do rebanho (SILVA *et al.*, 2002).

Normalmente, adota-se um critério de seleção que seja fácil de medir, tenha alta repetibilidade e, obviamente, que seja herdável. No entanto, existe outra perspectiva quando se trata de seleção de um reprodutor que se relaciona com o seu potencial biológico reprodutivo, para o qual muitas vezes utilizamos critérios

também utilizados para o melhoramento genético, mas adotando interpretações diferentes: a seleção para o potencial fértil fundamentada no exame andrológico. Porém, são inúmeras as variáveis que influenciam na fertilidade de um touro, o que torna extremamente complexo definir qualitativamente um reprodutor quanto a este aspecto (COSTA e SILVA *et al.*, 2015). Existem vários parâmetros biológicos já consolidados como idade à puberdade, qualidade seminal e comportamento sexual.

Para avaliação do comportamento sexual de touros, Pineda *et al.*, (2000) e Santos *et al.*, (2004) sugerem a utilização de testes de libido como fator de seleção para animais que apresentam melhor desempenho reprodutivo, visando elevar os índices de fertilidade de rebanhos, auxiliar na proporção touro:vaca, reduzir os custos na aquisição de novos animais e aumentar a produtividade.

O presente trabalho tem como objetivo relatar o caso de um animal com comportamento sexual inadequado que, em função disso, recebeu suplementação hormonal, e estudar seus efeitos e possíveis consequências observados.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O potencial reprodutivo do touro é determinado pela soma de vários fatores inerentes à reprodução e necessários para o sucesso da monta e fertilização como idade à puberdade, qualidade do sêmen, circunferência escrotal, libido e condição física. Já o comportamento sexual relaciona-se à libido e à capacidade de serviço, ambas influenciadas por fatores genéticos (DIAS *et al.*, 2008). Para a avaliação de aspectos relacionados à reprodução desses animais, fatores ambientais, nutricionais, hormonais, frequência de acasalamento, atividade sensorial, experiência quando jovens, sociabilidade e fatores genéticos devem estar interligados (LOPES *et al.*, 2009).

A libido de touros, definida como a avidez do macho pela fêmea, de acordo com Hultnas (1959), apresenta diferença entre raças, sendo que características individuais, idade, conforto térmico, nutrição e fatores genéticos influenciam diretamente no resultado observado (FONSECA, CRUDELLI e COSTA e SILVA, 1992).

Embora a testosterona seja necessária para a manutenção da capacidade de serviço (BLOCKEY e GALLOWAY, 1978) e das características sexuais secundárias (HAFEZ, 2003), não são observadas correlações entre os níveis séricos desse

andrógeno e a libido em touros (SANTOS *et al.*, 2000), nem relação com características do sêmen ou com a circunferência escrotal (CHENOWETH, 1983).

Em animais de origem taurina, a maturidade sexual é alcançada em torno de 13 a 16 meses de idade em condições de clima temperado, porém em condições de trópicos somente é atingida em torno de 16 aos 20 meses de idade (FRENEAU, 1991). Em animais de origem indiana, os animais mostram-se extremamente tardios com relação à maturidade sexual, atingindo-a somente aos 30 a 36 meses de idade, quando criados em manejo extensivo (VALE FILHO *et al.*, 1985).

Atualmente, uma metodologia adotada para avaliar a libido de touros zebuínos é a tabela elaborada por Pineda *et al.*, (1997) e preconizada pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998). O teste é realizado no curral, com período de observação de 10 minutos, atribuindo-se escores de 0 (sem interesse sexual) a 10 (duas ou mais montas com serviço completo), de acordo com a tabela 1.

Tabela1: Classificação da libido de touros zebuínos, de acordo com Pineda *et al.* (1997).

PONTUAÇÃO	ATITUDE
0	Sem interesse Sexual.
1	Identificação da fêmea em cio.
2	Olfação e perseguição insistente.
3	Tentativa de monta sem salto.
4	Tentativa de monta sem salto, com pênis exposto.
5	Tentativa de monta com salto e pênis exposto.
6	Duas ou mais tentativas de monta, com salto, sem pênis exposto.
7	Tentativas de monta com salto, pênis exposto, sem introdução.
8	Duas ou mais tentativas de monta, com salto e pênis exposto sem introdução.
9	Monta com serviço completo.
10	Duas ou mais montas com serviço completo.

Em ambos os testes para animais de origem taurina ou zebuína, há classificação, como excelente (atitude 9-10), muito bom (atitude 7-8), bons (atitude 4-6) e com a libido questionáveis (atitude 0-3), de modo que podem ser utilizados animais classificados como bons ou acima deste (atitude 4-10) (GUIMARÃES *et al.*, 2011).

Uma das principais características associada ao desempenho reprodutivo dos machos é o volume testicular. A medida mais utilizada para refletir o volume dos testículos é o perímetro escrotal, também chamado de circunferência escrotal. Além de estar favorável e geneticamente correlacionado ao volume testicular (QUIRINO, 1999), esta característica é de fácil e econômica mensuração e tem alta

confiabilidade e repetibilidade quando tomada por diferentes técnicos (COULTER e FOOTE, 1979).

A técnica da ultrassonografia testicular vem sendo utilizada, na intenção de diagnosticar bovinos precoces, assegurando uma avaliação dos touros antes de atingirem a puberdade (ARAVINDAKSHAN *et al.*, 2000). De acordo com os relatos de Cartee *et al.*, (1986, 1989) em touros, o ultrassom, um método não invasivo, permitindo determinar as medidas dos testículos de forma direta, podendo ser usada para prever o volume testicular e a produção espermática.

A determinação da ecotextura permite identificar a capacidade espermatogênica dos testículos (GABOR *et al.*, 1998), sendo altamente correlacionada com a área de túbulos seminíferos, indicando que a imagem testicular do ultrassom é considerada uma forma potencial para avaliação da função dos testículos em touros (COSTA e SILVA *et al.*, 2015).

De acordo com Costa e Silva *et al.*, (2015), outro método promissor é a dosagem do hormônio anti-mülleriano (AMH), sendo uma glicoproteína homodimérica, produzida a partir do momento que ocorre a diferenciação dos túbulos seminíferos no testículo fetal à maturação puberal em seres humanos (JOSSO *et al.*, 1993) atuando como um marcador para uma possível detecção da puberdade precoce em tourinhos (COSTA e SILVA *et al.*, 2015). Em seres humanos, o AMH já é utilizado como marcador de puberdade precoce e tardia (REY *et al.*, 1993; OKAY, 2003).

Quando o objetivo da seleção é a redução da idade à puberdade, a avaliação do perímetro testicular em touros deve ser feita antes dos 24 meses de idade, em zebuínos, por ser o período que antecede, ou coincide, com o início de sua atividade reprodutiva. Adicionalmente, é em torno da puberdade que os testículos crescem mais rapidamente e de forma quase linear (ABDEL-RAOULF, 1960; PIMENTEL *et al.*, 1984). O início da puberdade é marcado por mudanças dos níveis circulantes de hormônios, que estimulam as células de Leydig a sintetizar testosterona (FONSECA, 1989), atuando nos estádios finais da espermatogênese, prolongando a vida útil dos espermatozoides no epidídimo e auxiliando no crescimento, no desenvolvimento e a atividade secretora dos órgãos sexuais do macho, bem como as características sexuais secundárias; o comportamento sexual ou a libido também são controladas pelos andrógenos (HAFEZ, 1995).

As gonadotrofinas hormônio folículo estimulante e hormônio luteinizante (FSH e LH) controlam a proliferação e diferenciação das células de Sertoli e Leydig desde a fase pós-natal, de modo que os esteroides e fatores de crescimento secretados por estas células têm ação direta ou indireta sobre o desenvolvimento das células germinativas (ANWAY e RAVINDRANATH, 2003; WALKER, 2003; AGUIAR *et al.*, 2006).

A puberdade é altamente influenciada por fatores ambientais, principalmente nutrição e condições climáticas, onde os animais na condição de trópicos são tão precoces quanto os de origem taurina, quando o manejo a que os animais são submetidos oferece o mínimo necessário para que possam expressar todo potencial genético (GUIMARÃES *et al.*, 2011).

Para eliminar as perdas causadas por subfertilidade e infertilidade, a capacidade reprodutiva dos touros deve ser avaliada antes da monta, por meio de um exame andrológico completo. Essa avaliação deve ser conduzida de modo a possibilitar tempo suficiente para a substituição e adaptação dos touros adquiridos e deve incluir: 1) exame físico, onde são observadas todas as condições que possam interferir com a habilidade de monta, tais como, defeitos de aprumos, condição corporal, incidência de doenças, problemas respiratórios e de dentição etc.; 2) exame do trato reprodutivo, para diagnóstico de anormalidades dos órgãos genitais internos (glândulas vesiculares, ampolas do ducto deferente e próstata) e externos (pênis, prepúcio, escroto, consistência do testículo, epidídimo, perímetro escrotal e cordão espermático). O perímetro escrotal é um excelente indicador da produção espermática e da precocidade sexual das filhas e irmãs; 3) avaliação das características físicas (volume, aspecto, cor, pH, motilidade, vigor, turbilhonamento, concentração e percentagem de vivos e mortos) e morfológicas (defeitos maiores, menores e total de defeitos) do sêmen; 4) avaliação da libido, ou seja, desejo de procurar a fêmea e completar a monta. Touros considerados férteis podem apresentar baixa libido, reduzindo a capacidade de monta; 5) capacidade de monta ou relação touro/vaca: as recomendações gerais são de 25 a 30 vacas para cada touro, no entanto, os resultados mais recentes indicam que essa relação pode ser alterada para mais de 40 vacas por touro, desde que este tenha sido previamente selecionado por exame andrológico completo. Os principais fatores que podem influir nessa relação são a idade, a capacidade de monta, o estado sanitário e nutricional

dos touros, o tamanho e a topografia das pastagens. Com relação aos touros mais jovens, recomenda-se que sejam colocados com as novilhas, pois eles poderão ter dificuldades em cobrir as vacas adultas. Outro ponto importante é não colocar no mesmo pasto touros adultos e jovens, pois os adultos, devido à dominância social, poderão impedir o desempenho reprodutivo dos mais jovens (VALLE *et al.*, 1998).

3. ESTUDO DE CASO

3.1 Histórico

Um bovino, macho, da raça Gir PO foi adquirido em junho de 2015, com idade de 3,5 anos na ocasião, por um bovinocultor de São Pedro dos Ferros/MG na intenção de utilizá-lo como reprodutor na sua propriedade. Porém, após dois meses em observação, o proprietário relatou que o animal não apresentava interesse sexual, mesmo em um ambiente com vacas em estro. Visando solucionar o problema, o proprietário foi orientado a utilizar um medicamento denominado Androgenol® (Hertape Calier Saúde Animal S/A), que tem como princípio ativo propionato de testosterona (10 mg/mL). O proprietário fez então cinco aplicações de 10 mL, via intramuscular, de Androgenol no animal, em intervalos de três dias, conforme recomendado na bula do medicamento.

O animal foi adquirido de uma propriedade onde ficava em piquets de Mombaça, recebendo sal mineral como suplementação, e passou a ficar solto a pasto de *Brachiaria decumbens*, recebendo sal mineral como suplementação e cana moída 2 vezes ao dia.

3.2 Teste de libido

Em janeiro de 2016, cerca de 5 meses após a aplicação do Androgenol®, foi realizado o primeiro teste de libido, onde foram detectadas duas fêmeas em comportamento de estro sendo uma delas uma vaca de 3,5 anos da raça holandesa e a uma novilha da raça gir de 2,5 anos. Ambas detectadas em estro aleatoriamente em um rebanho de 22 fêmeas, demonstrando comportamento homossexual, edema de vulva, micção freqüente e vocalização alterada.

Após a detecção do cio, as duas fêmeas foram encaminhadas a um curral isolado das demais fêmeas juntamente com o touro, onde foram observados por um período de 10 minutos.

Cerca de 45 dias após a realização do primeiro teste de libido, um segundo teste de libido foi executado, porém por um período de tempo maior. Duas vacas foram induzidas ao estro com o medicamento Sincrocio® (Cloprostenol sódico), análogo sintético da prostaglandina, sendo levadas para um curral após a manifestação do estro, onde foram colocadas junto com o touro por um período de trinta minutos, para observação do comportamento deste.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

De acordo com relato do proprietário, após a administração do medicamento, o touro passou a manifestar comportamento sexual, sendo observada a cobertura de algumas fêmeas a campo. Porém, das 10 fêmeas que eram mantidas no mesmo lote com o animal, somente duas vieram a confirmar gestação. Tal resultado é considerado insatisfatório, uma vez que é recomendado um mínimo de 70% de taxa de concepção em bovinos de corte, de forma a manter a produtividade otimizada de acordo com Valle *et al.*, (1998). Ainda segundo esses autores, touros considerados férteis podem apresentar baixa libido, reduzindo a capacidade de monta.

Em função do relatado, a realização do teste de libido fez-se necessária na intenção de escalonar de forma criteriosa o comportamento do animal. Na primeira execução do teste, realizado num intervalo de 10 minutos, o touro não apresentou comportamento sexual desejável: apenas um ato de Flehmen, sem exposição peniana (classificação 1). A repetição do teste foi efetuada na intenção de confirmar a baixa pontuação do animal no teste, mesmo num intervalo de tempo maior, uma vez que segundo Oliveira *et al.*, (2007), o touro necessita de um tempo maior do que o padronizado pelo CBRA (Colégio Brasileiro de Reprodução Animal), no teste de libido, que é de 10 minutos. À medida que o tempo de teste se transcorre, há aumento na porcentagem de touros excelentes e redução na de touros questionáveis.

De fato, foram observadas poucas diferenças entre os testes. Na segunda ocasião, o touro realizou reflexo do Flehmen nas duas vacas e as perseguiu frequentemente, porém sem a realização da monta, atingindo classificação 2, o que é insatisfatório, se tratando de um touro que já adquiriu maturidade sexual. Segundo Fonseca (1989), o macho pode ser classificado de acordo com a nota obtida no

teste de libido: zero a três – questionável; quatro a seis – bom; sete a oito – muito bom; nove a dez – excelente ou superior. É constatado que o protocolo para os animais zebuínos, embora seja uma referência, parece não ser definitivo, de modo que somente animais com escore 9 realize a primeira monta completa, acarretando maior pontuação para os sinais comportamentais de identificação e corte da fêmea em estro (GUIMARÃES *et al.*, 2011). Segundo Santos (2000), os efeitos de dominância e do estresse atribuídos ao teste realizado no curral podem comprometer os resultados finais.

Infelizmente não foi possível a avaliação do sêmen do animal em estudo por questão de infraestrutura inadequada para a coleta do mesmo. Porém, o conhecimento do perímetro escrotal do animal e o reconhecimento da alta correlação dessa característica com a qualidade seminal conforme relatos descritos na literatura científica (COULTER *et al.*, 1967; QUIRINO e BERGMAN, 1998) permitem certa inferência sobre a qualidade seminal esperada, uma vez que o perímetro escrotal é considerado uma característica complementar para a avaliação da capacidade reprodutiva de touros, estando relacionada com a fertilidade dos animais (MARTINEZ *et al.*, 2000; FOLHADELLA *et al.*, 2006). O animal em estudo apresentou um perímetro escrotal de 40 cm, valor superior aos observados por Folhadella *et al.*, (2006) e Martinez *et al.*, (2000) ao estudarem características reprodutivas de touros da raça Gir acima de 30 meses, podendo ser considerado excelente para animais na sua faixa etária. Touros que apresentam testículos mais desenvolvidos apresentam em média maior volume e maior concentração espermática no ejaculado, podendo produzir maior número de doses e cobrir um maior número de fêmeas (PEREIRA, 2001; HAFEZ e HAFEZ, 2004), embora não seja garantia de fertilidade (COSTA e SILVA *et al.*, 2015).

Para se ter garantida a fertilidade de um reprodutor, é necessário que o produtor tenha consciência da importância da avaliação andrológica anual. Em rebanhos sem rotina de exame andrológico, há registros de diagnóstico de cerca de 30% dos reprodutores como estéreis ou subférteis (GARCIA, 1971; VALE FILHO *et al.*, 1979; FONSECA, 1989), sendo que após sucessivos exames anuais a porcentagem de descarte por problemas reprodutivos pode cair para cerca de 20% do rebanho de touros. Porém, a maioria dos pequenos produtores adquirem seus reprodutores com base em características morfológicas dos animais e, muitas vezes,

só descobrem a ineficiência reprodutiva após sucessivas tentativas de monta natural sem confirmação de gestação.

No caso em estudo, o proprietário notou o desinteresse do animal por fêmeas em cio e recorreu ao uso da testosterona sintética para melhorar o comportamento sexual. O produto em questão tem como princípio ativo o propionato de testosterona, na concentração de 10 mg/mL. De acordo com o fabricante, o tratamento deve ser iniciado 30 dias antes das coberturas, sendo indicado para casos com evidência clínica de deficiência de hormônio sexual masculino e no preparo de machos para a cobertura. Embora sejam poucos os estudos atuais acerca do uso de andrógenos exógenos em touros, especialmente voltados para avaliação de comportamento sexual, sabe-se que a manutenção das características sexuais secundárias, da produção espermática, do comportamento sexual ou da libido do macho é controlada pelos andrógenos (HAFEZ e HAFEZ, 1995). POST e CHRISTENSEN (1976), trabalhando com touros mestiços, verificaram maiores concentrações de testosterona naqueles com maiores taxas de fertilidade, avaliadas pelo número de vacas prenhas, enquanto ANDERSSON (1992) encontrou correlação positiva entre a concentração de testosterona sérica e a fertilidade de touros, avaliada pela taxa de não retorno ao estro.

Segundo Barros et al. (2014) o propionato de testosterona, apesar de potente e possuir ação imediata, possui curta duração de ação, sendo o período de vida ativa desta droga na corrente sanguínea de 1 a 2 dias no ser humano. Não foram encontrados estudos que comprovassem o tempo de meia vida plasmática em touros, mas em pesquisa conduzida por Godfrey et al. (1992), foi observada rápida recuperação endócrina após retirada do implante de propionato de testosterona de touros jovens (2,5 meses).

Dentre os fatores que exercem influência direta sobre a manifestação de comportamento sexual em touros, destacam-se os fatores genéticos, ambientais, hormonais e até mesmo a ordem de dominância social do indivíduo no grupo (CHENOWETH, 1983). A testosterona, andrógeno mais conhecido pelo público leigo, é reconhecidamente importante para a manutenção reprodutiva de machos por atuar no desenvolvimento das características sexuais secundárias e no comportamento sexual.

Fraser (1980) relatou que a libido depende basicamente da produção de testosterona, enquanto que Santos (2000) não observou correlação entre os níveis de testosterona e a libido de touros da raça Nelore. Para Chenoweth (1983), a libido e a capacidade de serviço de touros são fortemente influenciadas por fatores genéticos e, aparentemente, a libido não está relacionada com as características seminais ou com a circunferência escrotal. Desse modo, é possível obter sêmen de boa qualidade de animais com baixa ou alta libido. Santos (2000) também não observou correlação entre libido, circunferência escrotal, concentração espermática, vigor, motilidade espermática progressiva e defeitos espermáticos totais em touros da raça Nelore. Tem-se observado que alterações que comprometem o bem-estar do animal reduzem a libido e a capacidade de serviço.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante da realização do teste de libido e relatos do proprietário, conclui-se que o touro em estudo não possui um comportamento sexual compatível com sua idade. Apesar de não ter sido realizado o exame andrológico completo, o touro em estudo pode ser classificado como subfértil, considerando que o mesmo realizou algumas coberturas efetivas, porém com baixa taxa de prenhez nas vacas da propriedade.

REFERÊNCIAS

ABDEL-RAOUF, M. The postnatal development of the reproductive organs in bulls with special reference to puberty. *Acta. Endocr.*, v. 49, p. 1-19, 1960. (Suppl.). apud MARTINS-FILHO, R. **Estimativas de correlação genéticas entre circunferência escrotal em bovinos da raça Nelore e características reprodutivas em suas meias-irmãs paternas**. Ribeirão Preto, 1991. 92 p. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

ANDERSSON, M. Relationship between GnRH-induced maxima, sperm motility and fertility in Ayrshire bulls. ***Animal Reproduction Science***, v.27, n.2, p.107-111, 1992.

ANWAY, M.D.; LI, Y.; RAVINDRANATH, N. Expression of testicular germ cell genes identified by differential display analysis. ***Journal of Andrology***, v.24, n.2, p.173-184, 2003.

ARAVINDAKSHAN, J.P.; HONARAMOOZ, A.; BARTLEWSKI, P.M.; BEARD, A.P.; PIERSON, R.A.; RAWLIIS, N.C. Pattern of gonadotropin secretion and ultrasonographic evaluation of developmental changes in the testis of early and late maturing bull calves. ***Theriogenology***, v.54, p.339-354, 2000.

BARROS, D.D.; SILVA, V.C.; SILVA, I.A.; FERREIRA, E.A.A.P. Anabolizantes: uma abordagem científica. **REBES – Revista Brasileira de Educação e Saúde**, v.4, n.1, p.24-28, 2014.

BASCUNÁN, D.S.R.; MENDES, A.J.; ROCHA, G.P.; WESCHLER, F.S.; ANDRIGHETTO, C. Comportamento sexual de touros zebuínos e Angus em central de coleta e processamento de sêmen. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p.254-260, 2008.

BERGMANN, J.A.G.; QUIRINO, C.R.; VALE FILHO, V.R.; ANDRADE, V.J.; PEREIRA, J.C.C. Evaluation of four mathematical functions to describe scrotal circumference maturation in Nelore bulls. **In: World Congress on Genetics Applied to Livestock Production**, 6, 1998.

BLOCKEY, M.A.B.; GALLOWAY D.B. Hormonal control of serving capacity in bulls. **Theriogenology**, v.9, p.143-151.1978.

CARTEE, R.E.; GRAY, B.W.; POWE, T.A.; HUDSON, R.S.; WHITESIDES, J. Preliminary implications of B-mode ultrasonography of the testicles of beef bulls with normal breeding soundness examinations. **Theriogenology**, v.31, p.1149-1158, 1989.

CARTEE, R.E.; POWE, T.A.; GRAY, B.W.; HUDSON, R.S.; KUHLERS, D.L. Ultrasonographic evaluation of normal boar testicles. **American Journal of Veterinary Research**, v.47, p.2543-2548, 1986.

CHENOWETH, P.J. Sexual behavior of the bull: a review. **Journal of Dairy Science**, v.66, p.173-179, 1983.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL – CBRA. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2.ed. Belo Horizonte: CBRA, 1998. 49p.

COSTA e SILVA, E.V.; COSTA FILHO, L.C.C.; SOUZA, C.C.; OLIVEIRA, C.C.; QUEIROZ, V.L.D.; ZÚCCARI, C.E.S.N. Seleção de touros para reprodução a campo: novas perspectivas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 39, n. 1, p. 22-31, 2015.

COULTER, G.H.; ROUNSAVILLE, T.R.; FOOTE, R.H. Heritability of testicular size and consistency in Holstein bulls. **Journal of Animal Science**, v. 43, n. 1, p. 9-12, 1976.

COULTER, G. H.; FOOTE, R.H. Bovine testicular measurements as indicators of reproductive performance and their relationship to reproductive traits in cattle: a review. **Theriogenology**, v.11, p.297-311, 1979.

FOLHADELLA, I.M.; SÁ, W.F.; FERREIRA, A.M.; CAMARGO, L.S.A.; VIANA, J.H.M.; RAMOS, A.A.; SILVA, M.V.G.B. Características andrológicas de touros da raça Gir.

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.58, n.5, p.809-815, 2006.

FONSECA, V.O.; CRUDELI, G.A.; COSTA E SILVA, E.V. Aptidão reprodutiva de touros da raça Nelore: efeito de diferentes estações do ano sobre as características seminais, circunferência escrotal e fertilidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. V.44, p.7-15.1992.

FONSECA, V.O. Puberdade, adolescência e maturidade sexual: aspectos histopatológicos e comportamentais. In: **VII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, 1989, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, p.77-93, 1989.

FRENEAU, G.E. **Desenvolvimento reprodutivo de tourinhos Holandeses-PB e mestiços F1 Holandês x Gir desde os seis até os 21 meses de idade** (Puberdade e pós-adolescência). 194f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária - UFMG, Belo Horizonte.1991.

GABOR, G.; SASSER, R.G.; KASTELIC, J.P.; MÉZES, M.; FALKAY, G.; BOZÓ, S.; CSÍK, J.V.; BÁRÁNY, I.; HIDAS, A.; SZÁSZ, F. Jr.; BOROS, G. Computer analysis of video and ultrasonographic images for evaluation of bull testes. **Theriogenology**, v.50, p.223-228, 1998.

GODFREY, R.W.; LUNSTRA, D.D.; SCHANBACHER, B.D. Effect of implanting bull calves with testosterone propionate, dihydrotestosterone propionate or oestradiol-17 β prepubertally on the pituitary-testicular axis and on post-puberal social and sexual behavior. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.94, p. 57-69, 1992.

GUIMARÃES, J.D.; GUIMARÃES, S.E.F.; SIQUEIRA, J.B.; PINHO, R.O.; ELER, J.P.; FERRAZ, J.B.S.; SILVA, M.R.; BORGES, J.C. Seleção e manejo reprodutivo de touros zebu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.379-388, 2011.

HAFEZ, E.S.E. **Reprodução animal**. 6ª ed. São Paulo: Manole Ltda., 1995. 582p.

HAFEZ, E.S.E; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7ª ed. São Paulo: Manole, 2004. 513 p.

HULTNAS, C.A. Studies on variation in mating behavior and semen picture in young bulls of the Swedish-red and white breed and on causes of this variation. **Acta Agriculture Scandinavian**. v.9, p.81-82.1959.

JOSSO, N.; CATE, R.L.; PICARD, J.Y.; VIGIER, B.; DI CLEMENTE, N.; WILSON, C.; IMBEAUD, S.; PEPINSKY, R.B.; GUERRIER, D.; BOUSSIN, L.; LEGEAI, L.; CARRÉ-EUSÉBE, D. Anti-Müllerian hormone: the Jost factor. **Recent Progress in Hormone Research**, v.48, p.1-59, 1993.

MARTINEZ, M.L.; VERNEQUE, R.S.; TEODORO R.L.; PAULA, L.R.O.; CRUZ, M.; CAMPOS, J.P.; RODRIGUES, L.H.; OLIVEIRA, J.; VIEIRA, F.; BRUSCHI, J.H.; DURÃES, M.C. Correlações entre características da qualidade do sêmen e a

circunferência escrotal de reprodutores da raça Gir. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 3, p. 700-706. 2000.

MENDONÇA, L. F. **Comportamento sexual de touros nelore (*bos taurus indicus*) e sua caracterização temporal em monta natural a campo**. Belo Horizonte, 2010, p. 13. Dissertação/Mestrado. Reprodução animal – Curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.

OKAY, T.S. Hormônio anti-mülleriano: importância na prática pediátrica. **Revista Associação Médica Brasileira**, v.49, p.1-23, 2003.

OLIVEIRA, C. B.; GUIMARÃES, J.D.; COSTA, E. P.; SIQUEIRA, J. B.; TORRES, C. A. A.; CARVALHO, G.R.; GUIMARÃES, S. E. F. Avaliação do comportamento sexual em touros Nelore: comparação entre os testes da libido em curral e do comportamento sexual a campo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, p.32-42, 2007.

PEREIRA, J.C.C. **Melhoramento genético aplicado à produção animal**. 3ª ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2001. 554 p.

PIMENTEL, C.A.; FERREIRA, J.M.M.; MORAES, J.C.F.; CHAGAS, P.R.; AMARAL, C.O.; MEDEIROS, E.L.; BENTO, C.L.R. Desenvolvimento testicular e corporal em touros de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.8, n.1, p. 27-33, 1984.

PINEDA, N.R.; FONSECA, V.O.; ALBUQUERQUE, L.G. Estudo preliminar da influência do perímetro escrotal sobre a libido em touros jovens da raça Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.1, p.69-75, 2000.

PINEDA, N.R.; LEMOS, P.F.; FONSECA, V.O. Comparação entre dois testes de Avaliação do comportamento sexual (libido) de touros Nelore (*Bos taurus indicus*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.21, n.4, p.29-34, 1997.

POST, T.B.; CHRISTENSEN, H.R. Testosterone variability and fertility in bulls. **Theriogenology**, v.6, n.6, p.615-616, 1976.

QUIRINO, C.R. **Herdabilidades e correlações genéticas entre medições testiculares, características seminais e libido em touros Nelore**. 1999.78p. (Tese, Doutorado). Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil, 1999.

QUIRINO, C.R.; BERGMAN, J.A.G. Heritability of scrotal circumference adjusted and unadjusted for body weight in Nelore bulls, using univariate and bivariate animal models. **Theriogenology**, v. 49, p. 1389-1396, 1998.

REY, R.A.; LORDEREAU-RICHARD, L.; CAREL, J.C.; BARBET, P.; CATE, R.L.; ROGER, M.; CHAUSSAIN, J.L.; JOSSO, N. Anti-Müllerian hormone and testosterone serum levels are inversely related during normal and precocious pubertal development. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.77, p.1220-1226, 1993.

SANTOS, N.R.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M.; MACHADO, G.V. Teste da libido e atividade de monta natural em touros da raça Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.4, p.504-510, 2004.

SANTOS, M.D. **Comportamento sexual, qualidade seminal e eficiência reprodutiva de touros da raça Nelore em regime de monta natural**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 88p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2000.

SANTOS, M.D.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M.; MACHADO, G.V.; COSTA, D.S.; AUNGULO, L.M. Concentrações séricas de testosterona em touros zebu. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.29, p.738-744.2000.

SILVA, A.E.D.F.; UNANIAN, M.M.; CORDEIRO, C.M.T.; FREITAS, A.R. Relação da Circunferência Escrotal e Parâmetros da Qualidade do Sêmen em Touros da Raça Nelore, PO. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1157-1165, 2002.

VALLE, E. R.; ANDREOTTI, R.; THIAGO, L.R.L.S. **Estratégias para aumento da eficiência reprodutiva e produtiva em bovinos de corte**. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1998. 80 p. (EMBRAPA-CNPGC. Documentos, 71).

VALE FILHO, V.R. Influência do touro na taxa de fertilidade do rebanho. **Informe Agropecuário**, n.153-154, p.90-93, 1988.

DETERMINAÇÃO DAS ALTERAÇÕES CITOLÓGICAS DO LÍQUIDO PERITONEAL DE EQUINOS COM SÍNDROME CÓLICA E SEU PAPEL COMO PARÂMETRO DE GRAVIDADE E ÍNDICE DE PROGNÓSTICO.

Acadêmica: Camila de Jesus Oliveira

Orientador: Bruno Santos Cândido de Andrade

RESUMO

A síndrome cólica é manifestada por um conjunto de condições e disfunções tanto de vísceras abdominais, como do peritônio, gerando sinais sistêmicos e laboratoriais. Nos equinos com cólica, a análise do líquido peritoneal é um meio indireto de avaliação das alças intestinais, pois, quando apresentam hipóxia em decorrência de torções, obstruções, infartos e ou outras alterações, ocorrerá passagem de células e proteínas para o LP, alterando sua composição normal. O objetivo do presente trabalho é descrever as principais alterações do líquido peritoneal de equinos com cólica, e sua utilização como parâmetro de intensidade das lesões, bem como do prognóstico.

PALAVRAS- CHAVES: Líquido peritoneal; Síndrome cólica; alterações citológicas.

1. INTRODUÇÃO

A síndrome cólica é uma das urgências mais frequentes na clínica de equinos e as diversas lesões que ocorrem nas alças intestinais e peritônio podem resultar em importantes alterações clínicas sistêmicas e, portanto, laboratoriais (DI FILIPPO *et al.*, 2009).

A cólica pode ser descrita como um grupo de desordens manifestadas por sinais clínicos de dor abdominal. Tais sinais são geralmente decorrentes de disfunção e outros processos patológicos inerentes ao aparelho digestório, como as obstruções extra ou intraluminais e os distúrbios morfológicos graves, como os deslocamentos intestinais, vólvulos e torções (FERREIRA *et al.*, 2009).

As alterações patológicas das alças intestinais repercutem diretamente na composição dos fluidos orgânicos, que tornam-se alterados em função do tempo de cólica, localização e intensidade da afecção. Nessas condições, marcadores bioquímicos são permeáveis aos fluidos corporais, constituindo-se em indicadores sensíveis e específicos de degeneração intestinal (DI FILIPPO *et al.*, 2012).

Na cavidade abdominal a serosa que reveste os órgãos é denominada peritônio visceral e está em continuidade com o mesentério (membrana delgada revestida por mesotélio nos dois lados), que suporta os intestinos, e com o peritônio

parietal, uma membrana serosa que reveste a parede da cavidade abdominal (OLIVEIRA *et al.*, 2010b). O espaço entre os peritônios visceral e parietal é denominado cavidade peritoneal e contém pequena quantidade de líquido peritoneal (LP) (MENDES *et al.*, 2000).

Segundo Faleiros (2011), a avaliação seriada do LP pode indicar possíveis alterações progressivas em intensidade em testes laboratoriais realizados rotineiramente. O exame do LP é considerado o teste laboratorial mais esclarecedor para o estabelecimento do diagnóstico, para o direcionamento da terapia e também para determinar a intensidade das lesões abdominais e, portanto, estabelecer o prognóstico (DI FILIPPO *et al.*, 2009).

O objetivo deste trabalho é descrever as principais alterações do líquido peritoneal de equinos com cólica atendidos no HV – Univértix, no período de fevereiro de 2015 a fevereiro de 2016, correlacionando essas alterações ao tipo e tempo de cólica, e determinar indicadores para o estabelecimento da intensidade das lesões, bem como do prognóstico.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Anatomia e fisiologia do LP

O peritônio é uma camada mesotelial que reveste grande parte dos componentes dentro da cavidade abdominal, onde o peritônio é dividido em peritônio parietal, que reveste a parede abdominal e o diafragma, e pelo peritônio visceral, que se estende em continuação a porção parietal e recobre os dois lados dos mesentérios e forma a superfície serosa dos intestinos. A camada de células mesoteliais apresenta em uma de suas funções a capacidade de ser uma barreira semipermeável à difusão de água e de solutos que apresentam baixo peso molecular entre o sangue e a cavidade abdominal (MENDES *et al.*, 2000).

O LP é um ultrafiltrado do plasma. Seu volume, celularidade e composição bioquímica dependem da fisiologia das superfícies mesoteliais parietal e visceral, pressão hidrostática capilar, pressão oncótica plasmática, alterações na permeabilidade vascular e fluxo linfático (OLIVEIRA *et al.*, 2010b).

O LP localiza-se no espaço entre os peritônios visceral e parietal denominado de cavidade peritoneal. Tem como principal função lubrificar e banhar as vísceras, e tanto a sua produção quanto a reabsorção dependem e estão submetidas a fatores

como pressão hidrostática e oncótica do sangue e do espaço intersticial, permeabilidade capilar e do fluxo sanguíneo (ROCHA *et al.*, 2007).

Em circunstâncias normais o LP é drenado da cavidade abdominal por uma especializada lacuna linfática do diafragma, que está conectada com o ducto linfático direito. Tal drenagem é crítica para a recirculação de proteínas que entram na cavidade peritoneal. A taxa normal de produção do mesmo é de 60 ml/kg/dia. Em casos de infecção bacteriana, essa taxa aumenta de forma proporcional à intensidade da infecção (OLIVEIRA *et al.*, 2010b).

2.2 Fisiopatologia da síndrome cólica em equinos

A etiologia da síndrome cólica é acima de tudo complexa, e muito estudada devido a sua grande importância na clínica médica de equinos. Na maior parte das vezes a dor abdominal que estes equídeos sofrem está relacionada ao aparelho gastrointestinal, sabendo também que o foco da dor pode originar-se em vários outros locais. A cólica é classificada de acordo com a fisiopatologia, sendo estes: obstruções simples, obstruções com estrangulamento, enfarte sem estrangulamento, enterite ou colite, peritonite e ulceração (FERNANDES, 2009).

As alterações no LP ocorrem rapidamente em resposta a mudanças inflamatórias envolvendo o peritônio ou alças intestinais, uma vez que as células mesoteliais iniciam a resposta inflamatória que ocorre em uma cascata de eventos, havendo influxo de líquido rico em proteínas, macrófagos e células polimorfonucleares (MENDES *et al.*, 1999).

Dentre as células de defesa do organismo, é possível citar e descrever a função dos macrófagos, uma vez que estas células tem função fagocítica e está relacionada com a resposta inflamatória do organismo do animal (SOUZA, *et al.*, 2001).

Os neutrófilos presentes no líquido peritoneal são achados comuns em animais que apresentam tal afecção, visto que tais células atuam na defesa do organismo, contra infecções bacterianas, fagocitando microorganismos, células mortas e debris celulares (DI FILIPPO *et al.*, 2012). Quando há inflamação no peritônio, a resposta inflamatória estará aumentada, sendo a consequência à liberação de substâncias quimiotáticas, que levam à passagem de leucócitos para a cavidade peritoneal (LOPES *et al.*, 1999).

As alterações no LP, como transudação, decorrem da obstrução do fluxo sanguíneo venoso, por obstrução linfática, ou ainda pelo aumento da permeabilidade capilar por lesão do endotélio. Vale salientar ainda que a natureza e composição do líquido dependem da extensão da oclusão vascular ou gravidade da alteração inflamatória (BACCARIN *et al.*, 1995).

Nos processos patológicos presentes nos animais que apresentam cólica, quanto ao tocante serosa, quando há isquemia e reperfusão nas alças intestinais, ocorre então edema, deposição de fibrina e infiltração de neutrófilos e macrófagos. A resposta inflamatória local é a exagerada produção de fibrina e inibição da fibrinólise (FERNANDES, 2009).

Diagnóstico por análise do LP

Nos equinos com cólica, a análise do líquido peritoneal é um meio indireto de avaliação das alças intestinais, pois, quando apresentam hipóxia em decorrência de torções, obstruções, infartos e ou outras alterações, ocorrerá passagem de células e proteínas para o LP, alterando sua composição normal (ROCHA *et al.*, 2007).

Os principais parâmetros a serem avaliados no LP são os qualitativos como a cor, turbidez, presença de coagulação, e os quantitativos, como dosagem de proteínas, citologia, presença de bactérias, fibrinogênio, densidade, glicose e presença de hemácias. De acordo com a intensidade da variação dos parâmetros citados, podemos classificar as alterações do LP em transudato, transudato modificado e exsudato (OLIVEIRA *et al.*, 2010a).

A paracentese abdominal é considerada uma técnica invasiva de baixo custo (MENDES *et al.*, 2000). Cavalos com crises abdominais agudas podem sofrer paracentese várias vezes dentro de um período de 24 h (JUZWIAK *et al.*, 1991).

O exame do líquido peritoneal é método auxiliar ao diagnóstico e ainda pouco utilizado na avaliação de rotina e condições abdominais em equinos, e sabe-se que o líquido peritoneal reflete a condição em que se apresenta a superfície mesotelial da cavidade abdominal (NEVES *et al.*, 2000).

A lenta deterioração do estado cardiovascular, a falta de manifestação de dor severa e a ausência de mudanças significativas nos valores laboratoriais geralmente atrasam o atendimento médico para o paciente e podem comprometer o processo

de tomada de decisão sobre os procedimentos cirúrgicos quando necessários. Dessa forma, desvitalização intestinal pode ocorrer levando a ruptura intestinal e contaminação da cavidade peritoneal, o que geralmente leva à necessidade de eutanásia na maioria dos casos (FALEIROS *et al.*, 2011)

A obtenção do líquido peritoneal por meio da paracentese abdominal é considerada uma prática fácil, segura para o animal e de baixo custo, sendo o teste laboratorial mais esclarecedor para auxiliar a classificação do tipo de doença e também para determinar a severidade da lesão abdominal (NEVES *et al.*, 2000).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Hospital Veterinário Univértix (HV-Univértix) com devida aprovação do Comitê de Ética no Uso Animal da UNIVERTIX (CEUA/UNIVÉRTIX).

3.1. Animais

Foram utilizados 14 (quatorze) animais encaminhados ao HV-Univértix, sendo 5 fêmeas com média de idade de 5 (cinco) anos, e 9 (nove) machos com média de idade de 4 anos, sendo triados pela queixa principal de terem apresentado síndrome cólica. Sendo realizada a resenha do animal, anamnese, exame físico completo, com aferição dos parâmetros vitais, ausculta abdominal, achados de palpação retal e posterior coleta do LP pelo procedimento de paracentese.

3.2. Coleta de variáveis não paramétricas

As informações como tempo de cólica, alimentação, tratamentos prévios, hábitat e alterações comportamentais sobre o paciente foram obtidas através de diálogo com o proprietário e através dos sinais clínicos.

3.3. Paracentese abdominal

A paracentese abdominal seguiu os rigores de técnica cirúrgica asséptica, com realização de tricotomia na região ventral do abdômen, seguida de antissepsia por 5 minutos com os antissépticos Clorexidina 2% e álcool 70%. A anestesia local foi realizada em botão anestésico próximo à linha alba com lidocaína a 2% no volume de 0,5 ml. Incisão em estocada foi realizada com lâmina de bisturi n.º 22, em

uma profundidade aproximada em 1 cm através da linha alba suficiente para a introdução da cânula de coleta. Após a incisão foi introduzida a cânula de coleta esterilizada, pela incisão da parede abdominal, sendo aprofundada até a punção do peritônio, através da gordura retroperitoneal. O LP foi então colhido diretamente para os tubos com e sem anticoagulantes, e outro com fluoreto de sódio com auxílio de gases na interface cânula/abdômen para se prevenir contaminações.

3.4. Acondicionamento das amostras

As amostras de LP foram armazenadas em três tubos, um com anticoagulante (EDTA), sem anticoagulante e outro com fluoreto de sódio e enviadas para análise no laboratório de patologia clínica veterinária do HV-Univértix.

3.5. Análise do líquido peritoneal

3.5.1 Exame físico

As amostras armazenadas nos tubos com EDTA e sem EDTA são avaliadas quanto a cor, turbidez e presença de coagulação.

3.5.2 Contagem total de células nucleadas (CTCN)

Uma alíquota do LP foi pipetada e diluída em reagente de Turk na proporção de 1:20 (20 µL de LP em 400 µL de diluente) em seguida a amostra foi pipetada e transferida para a câmara de Neubauer, para posterior contagem. A contagem foi realizada nos quadrantes laterais maiores e o resultado multiplicado pelo fator 50.

3.5.3 Preparação da lâmina

A coleta do LP foi realizada em tubo de armazenamento com EDTA e centrifugado por 5 minutos a 1500 rpm. O sobrenadante foi então descartado e um *pellet* de 0,5 ml ressuspendido com ligeira agitação, uma gota da suspensão foi transferida para uma lâmina para confecção do esfregaço, posteriormente corada com corante hematológico e avaliada a microscopia óptica.

3.5.4 Contagem diferencial

Após a confecção do esfregaço foi realizado diferencial de células nucleadas e análise da presença de bactérias, no microscópio Olympus CX22®, na objetiva de 40.

3.5.5 Determinação da proteína plasmática total (PPT)

A amostra foi pipetada e transferida para o refratômetro para análise em escala apropriada.

3.5.6 Determinação do Fibrinogênio

Dois tubos de micro-hematócrito foram preenchidos com LP com EDTA, após, os tubos foram centrifugados na centrífuga Micro spin 1000®, um dos tubos foi então quebrado na base da coluna do plasma, sendo transferido para o refratômetro e posterior leitura em escala de leitura correta. O Segundo tubo de micro-hematócrito foi a banho-maria na temperatura de 56-58°C por 3 minutos, após a incubação o tubo foi novamente centrifugado e a PT avaliada em refratômetro, sob técnica de precipitação pelo calor. O valor da concentração da PT do segundo tubo foi subtraído do primeiro tubo. A diferença correspondeu ao teor de fibrinogênio do LP.

3.5.7 Determinação de densidade

A amostra foi centrifugada e o sobrenadante transferido para o refratômetro para análise em escala apropriada.

3.5.8 Contagem total de hemácias

Uma alíquota do LP foi pipetado e diluído em solução fisiológica de NaCl 0,9% na proporção de 1:200 (20µL de LP em 4.000µL de diluente) em seguida a amostra foi pipeta e transferida para a câmara de Neubauer, para posterior contagem. A contagem foi então realizada nos cinco quadrados médios da câmara de Neubauer e multiplicada pelo fator 10.000.

3.5.9 Determinação de glicose

Para determinação de glicose do LP a amostra foi armazenada em tubo com anticoagulante fluoreto de sódio. A amostra foi então processada no aparelho bioquímico semi-automático Mindray BA – 88A, através de um método enzimático.

3.6. Análise estatística

A análise estatística utilizada para as referidas amostras coletadas no presente estudo foi média e desvio padrão e análise de correlação.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ao exame físico é possível observar os diferentes tipos de coloração, turbidez e presença de coagulação (Figura 1). Para os parâmetros qualitativos avaliados quanto à turbidez, apenas um animal apresentou LP translúcido, todas as outras 13 (treze) amostras apresentaram-se turvas, sendo assim sugestivo de elevada quantidade de leucócitos e hemácias (Tabela 1) (OLIVEIRA *et al.*, 2010). O LP no seu estado normal apresenta-se claro a cor de palha, sem presença de coagulação.

Seis amostras apresentaram coloração amarelada ao exame físico. A coloração de LP rósea a avermelhada foi identificada em 8 amostras, sendo indicativa de presença de hemoglobina na forma livre e/ou hemorragia (MENDES, 2000). De acordo com o diagnóstico clínico, 9 animais apresentaram obstrução simples e não estrangulativa sendo a intensa presença de hemácias nas amostras de forma livre, correlacionadas à contaminação das amostras. Já para os 5 animais que apresentaram obstrução estrangulativa a presença de hemácias indica hemorragia. Aumento significativo de hemácias com ausência de plaquetas é sugestivo de lesão vascular, e apoia o diagnóstico de obstrução estrangulativa ou infarto intestinal (OLIVEIRA *et al.*, 2010) justificada pelo processo de ruptura da vascularização da alça intestinal acometida. O sangue presente na amostra deve ser diferenciado, quanto a sua presença de forma endógena no LP ou introduzido de forma iatrogênica, diferença pela qual se dá pela presença de plaquetas e quando apresenta um processo de degeneração intestinal e perda transmural de hemácias. LP de cor castanha escura ou verde e odor fétido são indicativos de ruptura intestinal e/ou necrose tecidual, sendo que apenas para um paciente diagnosticado com ruptura de intestino delgado durante a laparotomia exploratória não indicou

alteração de coloração em sua amostra de LP, não sendo possível observar presença de fibras de alimento ao exame físico do LP ou odor fétido, pois se tratava de uma hérnia inguinoescrotal estrangulada e a região em que ocorreu a ruptura da parede intestinal encontrava-se aprisionada na bolsa escrotal, sendo impedida de ser reduzida manualmente ao seu local de origem (Tabela 1). Nenhum dos animais apresentou presença de coagulação do LP e odor alterado, sendo que o odor nas condições fisiológicas normais é inodoro (MENDES *et al.*, 2000; RADOSTITS *et al.*, 2000; REED, S. M. & BAYLY, W. M., 2000; OLIVEIRA, 2010;).

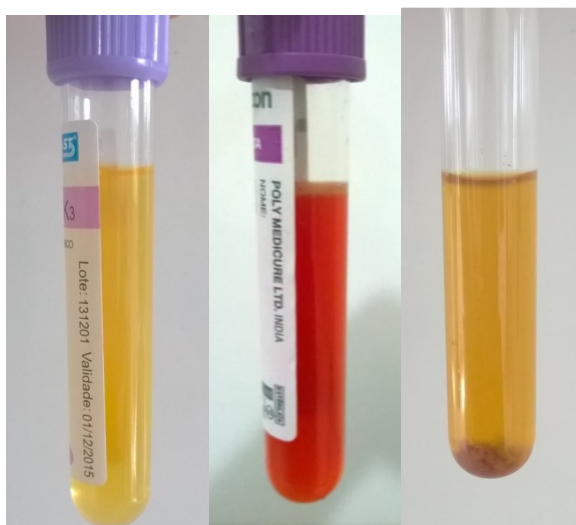


Figura 1: Coloração dos diferentes tipos de animais com cólica com LP normal e exsudato.

Tabela 1: Análise dos parâmetros qualitativos quanto à turbidez e coloração das 14 amostras coletadas.

Animais	A 1	A 2	A 3	A 4	A 5	A 6	A 7	A 8	A 9	A 10	A 11	A 12	A 13	A 14
Turbidez	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Coloração	1	2	2	1	1	2	2	3	2	1	1	2	3	1

Coloração: 1 – amarelado; 2 – avermelhado; 3 – alaranjado.

Os resultados dos 14 animais analisados do presente experimento mostraram-se alterações relevantes quanto as variáveis paramétricas (proteína total, densidade, contagem total de células nucleadas (CTCN), fibrinogênio e glicose (Tabela 2)). Foram realizadas as médias e desvio padrão para os valores das variáveis analisadas.

As obstruções simples por muitas vezes não lesionam abruptamente as alças intestinais como as obstruções estrangulativas que causam danos teciduais, pela isquemia e reperfusão e endotoxemia. Essas lesões vasculares propiciam a

passagem de proteínas e eritrócitos, tanto para o lúmen intestinal, quanto para a cavidade peritoneal, bem como sinais clínicos característicos (FERNANDES, 2009).

O valor normal da contagem total de células nucleadas é menor que 5.000 cel/ μ L (MENDES *et al.*, 2000), 3 (três) amostras apresentaram valor de CTCN menor que o normal para a espécie (Tabela 4) e observou-se que maior parte das afecções encontradas nos animais diagnosticados deveu-se a processos obstrutivos não estrangulativos, resultando em 9 casos (tabela 5) e 5 obstruções estrangulativa. Dentre as 9 amostras analisadas dos animais do grupo de obstruções não estrangulativa 5 animais não apresentaram alteração na CTCN e 4 (quatro) animais apresentaram valores maiores na CTCN. Quanto á contagem diferencial de leucócitos no presente trabalho a média de neutrófilos das 14 amostras obtidas foi de 66% e desvio padrão de 6,08 (Figura 8). Estudos realizados por Neves (2000), os neutrófilos encontram-se em maior quantidade sendo 51% e em um trabalho realizado por LOPES (1999) com 19 animais que foram submetidos à laparotomia exploratória a média de neutrófilos obtida foi de 49,5%.

O valor normal de PT é <2,5 g/dL e apresentou-se aumentada em todos os animais, com média de 4,9 g/dL e desvio padrão de 1,5 (Tabela 2) MENDES, *et al.*, (2000) (Tabela 4). A resposta à inflamação na cavidade abdominal e/ou oclusão vascular faz com que ocorra o extravasamento de proteínas para o LP através do aumento da permeabilidade capilar e conseqüentemente o seu aumento (MENDES, *et al.*, 2000). É possível observar aumento da PT em peritonites primárias ou secundárias, e a contaminação bacteriana se correlaciona com a peritonite, uma vez que tal afecção pode ser infecciosa e não infecciosa. A densidade manteve-se dentro dos padrões de normalidade em apenas dois animais (Tabela 4), e média de 1.025 e desvio padrão de 8,8, sendo o valor de normalidade para a densidade <1.017 (LOPES *et al.*, 2007). O tipo de transudação, ou seja, as características, físicas, químicas e citológicas influenciam no valor da densidade, uma vez que está relacionada com a quantidade de solutos dissolvidos presentes no LP. O aumento da permeabilidade de parede faz com que ocorra a passagem de células, PT, enzimas e outros fatores inflamatórios, alterando assim a quantidade de solutos presentes no LP normal (BACCARIN *et al.*, 1995; HILLYER & WRIGHT, 1997; LOPES *et al.*, 2007; FEITOSA, 2014;).

A glicose presente no LP é advinda do plasma, com valores normais em equinos entre 74 a 203 mg/dL (MENDES *et al.*, 2000), nos animais analisados obteve-se média de 129,9 mg/dL e desvio padrão de 76,8 (Tabela 2), sendo que 6 (seis) amostras não foram possíveis de serem analisadas. Segundo Stockham (2011) a presença de exsudato bacteriano não se relaciona com a alteração de valores padrões da glicose, uma vez que a diferença de concentração de glicose está relacionada com a concentração de células nucleadas, sendo que o LP alterado independente da origem a lesão observada no peritônio, faz com que as células nucleadas se desloquem para a cavidade peritoneal para exercer suas funções. Não foi possível comparar os valores de glicose presente no LP com a glicemia, pois todos os pacientes tiveram hemograma e glicemia solicitados previamente à cirurgia devido ao estado emergencial do mesmo, bem como pelos horários de chegada ao atendimento no HV – Univértix, muitas das vezes fora do expediente normal do laboratório clínico.

O fibrinogênio mostrou-se alterado em 4 (quatro) dos 6 animais analisados com valores acima do normal, tendo média de 390,0 mg/dL e desvio padrão de 357,2 mg/dL (Tabela 2), ao passo que o valor normal é de 100 mg/dL (MENDES *et al.*, 2000). Sendo que 6 (seis) animais não foi possível realização do teste de fibrinogênio. Segundo Oliveira (2010) a inflamação do peritônio tanto o visceral como o parietal é denominado peritonite, sendo este um achado comum na síndrome cólica, independente da causa de tal inflamação, a peritonite provoca alteração no LP e no hemograma. Sabe-se que durante a isquemia e reperfusão, a infecção e outros processos patológicos ocorre em resposta à fase aguda da inflamação com a liberação de proteínas de fase aguda sendo que estas aumentam de acordo com a resposta de mediadores químicos liberados por macrófagos e leucócitos nos processos inflamatórios e infecciosos. O fibrinogênio é considerada uma das proteínas de fase aguda mais mensuráveis nos equinos (SAQUETTI *et al.*, 2008) e seus valores aumentam 24 horas após indução a inflamação (YANAKA, 2013). No presente trabalho foi possível observar que um animal apresentou valor de fibrinogênio abaixo do normal, mesmo este apresentando quando clínico a 5 dias.

Dos 14 animais analisados, 5 animais apresentaram diagnóstico clínico, confirmado na laparotomia exploratória de obstruções estrangulativas e com os resultados das amostras analisadas foi possível justificar que obstruções

estrangulativas resultam em valores citológicos, bioquímicos e físicos aumentados e lesões mais graves da parede intestinal.

De todos os animais atendidos apenas dois foram eutanasiados, devido ruptura intestinal, segundo OLIVEIRA *et al.*, (2010) dentre os 67 (sessenta e sete) animais atendidos com peritonite, 59,7% vieram a óbito, sendo que todos os animais que apresentaram ruptura intestinal morreram, 56% óbitos por consequência da peritonite pós-operatória e 42,9% apresentaram peritonite não associada a ruptura intestinal e cirurgia.

As alterações do LP nem sempre correspondem à gravidade da lesão tecidual, uma vez que obstruções não estrangulativas e estrangulativas podem apresentar alterações marcantes ou não. Baccarin *et al.*, (1995) também relata essa observação, e também descreve a relação do tempo de cólica, desde o início dos primeiros sinais de cólica até o momento da coleta da amostra. Os sinais iniciais da cólica nem sempre são associados com alterações no LP. Justificando esta afirmação, exemplo se dá em obstrução aguda com estrangulamento de alça, onde a lesão não progrediu o suficiente para a passagem de proteínas e células para o LP, ao passo que em peritonites, infartos não estrangulativos e enterites as mudanças do LP são observadas concomitantemente com os primeiros sinais clínicos. Segundo Morris e Johnston (1986), cada afecção apresenta variações entre si em virtude do tempo da lesão e grau de comprometimento da alça.

Tabela 2: Média e desvio padrão dos valores das 14 amostras do LP de PT e densidade; Das 8 amostras de glicose e das 8 amostras de fibrinogênio analisadas.

PT (g/dL)	DENSIDADE	GLICOSE (mg/dL)	FIBRINOGENIO (mg/dL)
4,9± 1,5	1,027± 8,2	129,8± 76,8	390± 357,3

PT: Proteína total.

Tabela 4: Valores absolutos de contagem total de células nucleadas, proteína total, densidade e fibrinogênio, das 14 amostras de LP analisadas.

ANIMAIS	CTCN(μL)	PT(g/dL)	DENSIDADE	FIBRINOGENIO (mg/dL)
A 1	178.350	4,5	1027	-
A 2	37.900	6,6	1037	600
A 3	460.000	3,4	1015	-
A 4	350	2,8	1017	100
A 5	36.900	6,1	1035	600
A 6	14.000	3,6	1.020	-
A 7	41.650	5,2	1.018	-
A 8	9.000	7,5	1.042	600
A 9	13.000	5,3	1.020	100
A 10	39.000	6,8	1.023	1000
A 11	850	3,8	1.022	100
A 12	72.000	5,6	1.032	-
A 13	33.000	5,6	1.032	20
A 14	4.400	3,0	1.018	-

Tabela 5: Grupo de 9 animais com obstrução não estrangulativa com valores citológicos, PT, densidade, glicose, fibrinogênio, diagnóstico de cólica e tempo de cólica.

OBSTRUÇÃO NÃO ESTRANGULATIVA	CTCN	PT	DENS.	GLIC.	FIBRIN.	DIAGNÓSTICO	TEMPO DE CÓLICA
A1	178.350	4,5	1027	-	-	Fecaloma de transição do cólon transverso para o colón menor e destroflexão direita da flexura pélvica	96 h
A4	350	2,8	1017	-	100	Compactação de colón transverso	24 h
A5	36.900	6,1	1035	42	600	Compactação de colón maior e ruptura intestinal	165 h
A6	14.000	3,6	1020	12	-	Compactação de ceco	72 h
A7	41.650	5,2	1018	0	-	Compactação de colón maior	12 h
A10	39.000	6,8	1.023	125	1000	Compactação de colón maior	24 h
A11	850	3,8	1.022	116	100	Compactação de colón maior	24 h
A13	33.000	5,6	1.032	-	20	Fecaloma de colón menor e compactação de colón dorsal direito	120 h
A14	4.400	3	1.018	120	-	Fecaloma de colón menor	48 h

CTCN: Contagem total de células nucleadas; PT: Proteína total; DENS: Densidade; GLIC: Glicose; FIBRIN: Fibrinogênio.

Tabela 6: Grupo de 5 animais com obstrução estrangulativa com valores citológicos, PT, densidade, glicose, fibrinogênio, diagnóstico de cólica e tempo de cólica.

OBSTRUÇÃO ESTRANGULATIVA	CTCN	PT	DENS.	GLIC.	FIBRIN.	DIAGNÓSTICO	TEMPO DE CÓLICA
A 2	37.900	6,6	1037	-	600	Torção da raiz do mesentério	24 h
A 3	460.000	3,4	1015	-	-	Encarceramento do cólon menor no lig. Nefroesplênico	120 h
A 8	9.000	7,5	1.042	192	600	Hérnia inguinoescrotal e ruptura de intestino delgado	24 h
A 9	13.000	5,3	1.020	235	100	Hérnia inguinoescrotal	24 h
A 12	72.000	5,6	1.032	197	-	Torção da raiz do mesentério	24 h

CTCN: Contagem total de células nucleadas; PT: Proteína total; DENS: Densidade; GLIC: Glicose; FIBRIN: Fibrinogênio

A correlação realizada entre a densidade e o tempo de cólica, em obstruções não estrangulativa, os valores de densidade tenderam a aumentar, e a correlação foi forte em função do tempo, sendo $R^2: 0,9$ (Figura 2). Já as correlações das demais variáveis com o tempo de cólica apresentaram-se baixas, não sendo observada importância marcante quanto aos seus valores. Quanto à correlação entre o diagnóstico e as variáveis analisadas não foi possível, pois houve alta variância quanto aos valores.

A correlação apresentou-se baixa devido ao baixo número de animais coletados e analisados.

No grupo das obstruções estrangulativas não foi possível correlacionar tempo de cólica com alteração das variáveis paramétricas, pois obteve intervalos extremos de tempo de cólica, bem como entre o diagnóstico e as variáveis paramétricas, não foi possível correlacionar pela variação dos valores das amostras analisadas.

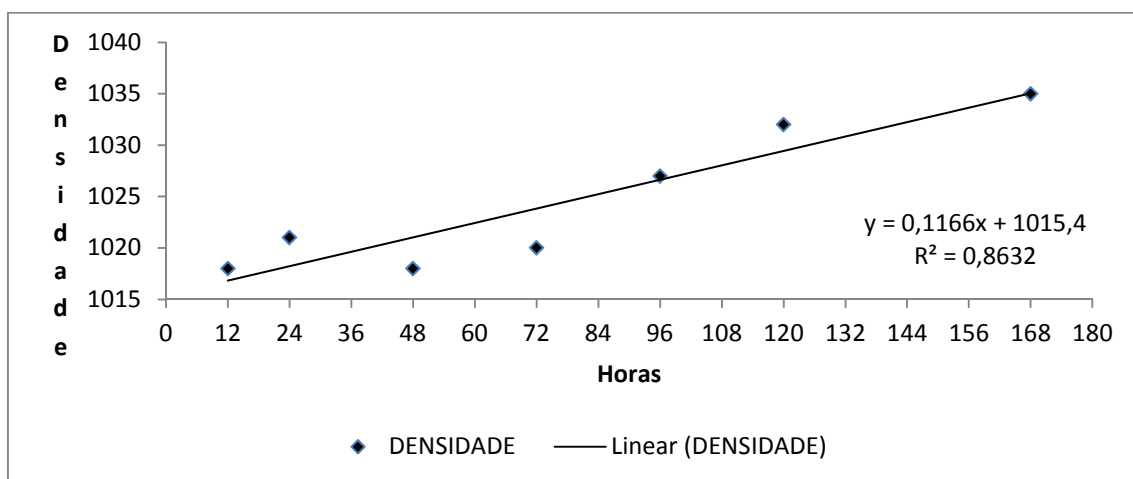


Figura 2: Análise de correlação entre os valores de densidade e o tempo de cólica.

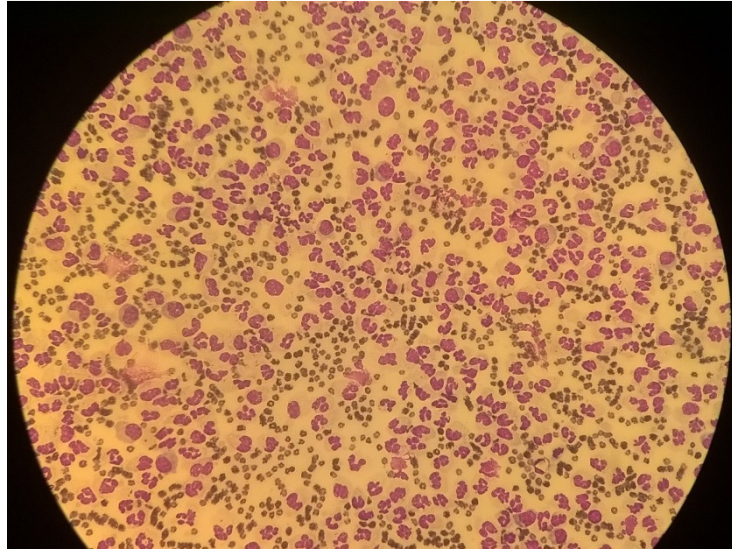


Figura 3: Esfregaço de LP de um animal que apresentou obstrução estrangulativa (torção da raiz do mesentério), observa-se intensa presença de hemácias e leucócitos.

5. CONCLUSÃO

A análise do LP nos equinos acometidos pela síndrome cólica foi um importante parâmetro para mensuração da intensidade das alterações peritoneais e intestinais, elucidando quanto ao prognóstico, auxiliando no diagnóstico e tratamento. Exames complementares podem direcionar a precisão do diagnóstico, incluindo-se nessa análise o exame do LP, pois trata-se de um líquido que se encontra intimamente associado às alterações na cavidade abdominal. O exame citológico descrito tem relevante valor auxílio diagnóstico, indicando resposta sistêmica e/ou específica do LP, bem como as alterações do teor de proteínas totais presentes nas amostras, primordiais na identificação de possíveis injúrias nas alças intestinais e no peritônio previamente à laparotomias exploratória. O tempo de cólica não influenciou no grau de lesão das alças intestinais, uma vez que o que relacionou com a gravidade de lesão é o tipo de obstrução (estrangulativa ou não-estrangulativa).

REFERÊNCIAS

BACCARIN, R. Y.; THOMASSIAN, A.; NICOLETTP, J. L. M.; GANDOLFP, W.; HUSSNT, C. A.; LOPES, R. S. Alterações do líquido peritoneal em equinos com desconforto abdominal e suas relações com o tipo de lesão implantada e evolução após tratamento médico ou cirúrgico: análise de 74 casos. **Brazilian Journal veterinary Res. animal. Sei.** São Paulo, v. 32, n. 4. p. 256-265, 1995.

DI FILIPPO, P. A.; ALVES, A. E.; HERMETO, L. C.; SANTANA, A. E. Indicadores bioquímicos séricos e do líquido peritoneal de equinos submetidos à obstrução intestinal. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.13, n.4, p. 504-511, out./dez., 2012.

DI FILIPPO, P. A.; SANTANA, A. E.; NOGUEIRA, A. F. S.; ANAI, L. A.; FILHO, E. C. Características celulares e bioquímicas do líquido peritoneal de equinos submetidos à obstrução experimental do duodeno, íleo e cólon maior. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.6, p.1281-1289, 2009.

FALEIROS, R.R.; MACORIS, D.G.; SAQUETTI C. H. C.; AITA, A. C.; MALHEIROS, E. B.; SAMPAIO, B. M.; Peritoneal fluid changes in horses subjected to small colon distension. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**. v.31, n.5, p. 367-373, maio, 2011.

FEITOSA, F. L. **Semiologia veterinária: A arte do diagnóstico**. Terceira edição. São Paulo: Editora Roca, 2014.

FERNANDES, C. S.; **Fatores de prognóstico da cólica em equinos**. Lisboa, 2009. 37f. Tese/ Mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade técnica de Lisboa.

FERREIRA, C.; PALHARES, M. S.; MELO, U. P.; GHELLER, V. A.; BRAGA, C. E. Cólicas por compactação em equinos: etiopatogenia, diagnóstico e tratamento. **Acta Veterinária Brasília**, v.3, n.3, p.117-126, 2009.

HILLYER, M.H.; WRIGHT, C.J. Peritonitis in the horse. **Equine Veterinary Education**. v. 9, n. 3, p. 136-142., 1997.

JUZWIAK, J. S.; RAGLE, C. A.; BROWN, C. M.; KREHBIEL, J. D.; SLOCOMBE, R.F. The effect of repeated abdominocentesis on peritoneal fluid constituents in the horse. **Veterinary research communications**. v.15, n.3, p. 177-180, 1991.

MENDES, L. C. N.; PEIRÓ, J. R.; MARQUES, L. C.; BORGES, A. S. Avaliação laboratorial do fluido peritoneal em modelos experimentais utilizados para indução de reação inflamatória intra-abdominal em equinos. **Revista educação continuada CRMV-SP / Continuous Education Journal CRMV-SP**, São Paulo, volume 3, fascículo 3, p. 21 – 27, 2000.

MENDES, L.C.N.; MARQUES, L.C.; BECHARA, G.H.; PEIRÓ J.R.; Experimental peritonitis in horses: peritoneal fluid composition. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia** vol.51 no.3, Belo Horizonte, June, 1999.

MORRIS, D.D.; JOHNSTON, J.K. Peritoneal fluid constituents in horses with colic due to small intestine disease. **Procedings Symposium at the University of Georgia**, v. 2. p. 130-3, 1986.

NEVES, M. M.; MARQUES, A. P. J.; ALVES, G. E. S.; FARIA, E. P. Valores referenciais da análise do líquido peritoneal de equinos sadios. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.5, p.809-811, 2000.

OLIVEIRA, D. A.; ALMEIDA, K. B.; OLIVEIRA, V. A. Aspectos clínicos e laboratoriais após tiflocentese em equinos. **Enciclopédia biosfera**, Goiânia, vol.6, n.9, p. 1, 2010a.

OLIVEIRA, D. A.; ALMEIDA, K. B.; OLIVEIRA, V. A. Peritonite em equinos. **Enciclopédia biosfera**, Goiânia, vol.6, n.9, p. 1, 2010b.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária**: Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, caprinos. 9ª edição, 2000.

REED, S. M.; BAYLY, W. M. **Medicina interna equina**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan LTDA, 2000.

ROCHA, E. J. N.; SOUZA, W. A.; FAGUNDES E. S.; FILHO D. Z. Avaliação laboratorial de líquido peritoneal e análise bioquímica sérica, resultante da abdominocentese em equinos. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, ano IV, número, 08, janeiro de 2007.

SAQUETTI, C. H. C.; FALEIROS, R. R.; MACORIS, D. G.; FAGLIARI, J. J.; SILVA, S. L. Perfil eletroforético do proteinograma do líquido peritoneal de equinos com obstrução experimental do cólon menor. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 14, n. 1, p. 57-62, jan./jun. 2008.

SMATTHEWS, DART, A. J.; REID, S.W.J.; DOWLING, B.A.; HODGSON D. R.; Predictive values, sensitivity and specificity of abdominal fluid variables in determining the need for surgery in horses with an acute abdominal crisis. **Aust Veterinary Journal**. Vol 80, No 3, March, 2002.

SOUZA, P. I.; KANG, C. H.; NARDINELLI, L.; BORELLI, P. Desnutrição protéica: efeito sobre o espraçamento, fagocitose e atividade fungicida de macrófagos peritoneais. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. vol. 37, n. 2, maio/ago., 2001.

STOCKHAM, S. L. **Fundamentos de patologia clínica veterinária**. Segunda edição. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan LTDA, 2011.

YANAKA, R. **Concentrações sérica e peritoneal de proteínas de fase aguda em equinos submetidos à endotoxemia experimental, tratados ou não com lidocaína**. Araçatuba. 8f. Tese/ Doutorado. Universidade estadual paulista "júlio de mesquita filho" - Faculdade de medicina veterinária, 2013.

DISPLASIA COXOFEMURAL EM CÃES DA RAÇA ROTTWEILER: ESTUDO DE TRÊS CASOS

Acadêmicos: Mhaique Henrique de Paula e Willian Jacob Pereira

Orientadora: Mayara Cristine Ferreira de Aguiar

RESUMO

A Displasia Coxofemoral (DFC) é uma afecção de extrema relevância, afetando principalmente cães de médio e grande porte. Apesar dos diversos tratamentos descritos, nenhum é considerado de eleição, variando de acordo com o estado clínico e avanço da doença. O diagnóstico deve ser baseado agregando informações como o histórico do paciente, sinais clínicos, exame ortopédico e radiográfico da pelve. Foram avaliadas as radiografias de 3 animais da raça Rottweiler, realizadas no Hospital veterinário da faculdade Univértix correlacionando os achados radiográficos com a clínica desses animais. Foi escolhido método radiográfico convencional (MRC), sendo feita a gradação das alterações encontradas, além de mensuração de ângulo de Norberg. O exame radiológico revelou alterações compatíveis com o diagnóstico de DCF nos três cães examinados. O MRC mostrou-se eficaz no diagnóstico da DCF, sendo considerado como padrão para avaliação radiológica. Foi possível observar que as modificações encontradas se tornam mais graves de acordo com o avanço da idade do animal.

PALAVRAS-CHAVE: Displasia coxofemoral em cães, doença articular degenerativa, Rottweiler, ângulo de Norberg.

1. INTRODUÇÃO

A displasia coxofemoral (DCF) é a alteração articular mais comum na espécie canina (FRIES E REMEDIOS, 1995; MADSEN, 1997), caracterizando-se pelo desenvolvimento anormal da cabeça do fêmur e do acetábulo (THRALL, 2010). A etiologia da doença é multifatorial, havendo importante influência genética, ambiental e nutricional (CARNEIRO *et al.*, 2006). Raças como Bulldog Inglês, Pastor Alemão, Fila Brasileiro, Dogue Alemão e Collie são as mais acometidas (LAFOUND *et al.*, 2002, CARNEIRO, 2006, BETTINI *et al.*, 2007; ORTHOPEDIC..., 2015).

A doença manifesta-se por meio da combinação entre o genótipo do indivíduo, fatores ambientais e manejo ao qual ele foi exposto durante sua fase de desenvolvimento (BETTINI *et al.*, 2007). Os animais doentes podem apresentar claudicação uni ou bilateral, dorso arqueado, peso corporal deslocado em direção aos membros torácicos, rotação lateral desses membros e andar bamboleante (BRASS, 1989).

O diagnóstico clínico é baseado em anamnese, sinais clínicos, avaliação do modo de andar e palpação da articulação coxofemoral (SCHULZ, 2007). O diagnóstico definitivo é realizado por meio do exame radiográfico convencional da articulação coxofemoral (BRINKER *et al.*, 1999; SOUZA *et al.*, 2003; NOGUEIRA *et al.*, 2005). A avaliação utilizando-se a técnica de distração dos membros consiste em se determinar o índice de distração das articulações coxofemorais (SMITH *et al.*, 1990), e tem sido considerada uma ferramenta importante no diagnóstico precoce da lassidão articular em cães (ROCHA e TÔRRES, 2007).

O tratamento baseia-se no estágio da doença, sendo principalmente paliativo. Em casos iniciais é indicado repouso e analgésicos. Em condições avançadas, com dor considerável, repouso com restrição de atividade, e analgésicos podem ser adequados. Em certos casos há a indicação cirúrgica (ETTINGER, 2014).

Objetiva-se com este estudo, relatar a ocorrência de DCF em três cães da raça Rottweiler, portadores da doença, correlacionando os achados bibliográficos à realidade encontrada na clínica médica de animais de companhia.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. DEFINIÇÃO E ETIOLOGIA

A DCF pode ser definida como a incongruência da articulação coxofemoral, devido à anormalidade no desenvolvimento desta (THRALL, 2010). A etiologia da doença é multifatorial e, portanto, inclui fatores tais como a predisposição racial e genética; influência ambiental e manejo nutricional. Apesar de não haver influência sexual, entretanto o status reprodutivo do animal deve ser considerado (DASSLER, 2003; CARNEIRO *et al.*, 2006). Esta doença acomete principalmente as raças de médio e grande porte (ETTINGER E FELDMAN, 2004; KEALY E MACALLISTER, 2005).

Dentre as raças descritas na literatura como predispostas ao desenvolvimento da doença, Bulldog Inglês, Pastor Alemão e Fila Brasileiro, são as mais acometidas (LAFOUND *et al.*, 2002, ORTHOPEDIC..., 2015), entretanto em um estudo realizado por Tôrres *et al.* (2001), onde foram avaliados 93 cães da raça Labrador Retriever, com média de 24,5 meses, 25,8% dos cães eram normais e 74,2% apresentavam algum grau de DCF. A alteração também é identificada nas raças Pointer, São Bernardo, Old English Sheepdog, Rottweiler e Golden Retriever (SANTANA *et al.*,

2010). Em um estudo realizado em Collies, 76% dos animais examinados manifestaram a DCF, incluindo esta raça entre os cães mais acometidos (BETTINI *et al.*, 2007).

Em um estudo prospectivo realizado por Pasteur *et al.* (2005) identificando as fontes de relatórios publicados pela Orthopedic Foundation for Animals (OFA), observou-se que a prevalência de DCF em Golden Retrievers variou entre 53% e 73% e em Rottweilers variou entre 41% e 69%.

A displasia decorre de uma má formação da articulação coxofemoral, acompanhada de lassidão da cápsula articular, que se desenvolve durante o crescimento e a maturação do esqueleto (SOUZA; TUDURY, 2003; NOGUEIRA *et al.*, 2005), sendo estrutural e funcionalmente normal ao nascimento (TÔRRES *et al.*, 2001). Durante o crescimento, pode haver um desequilíbrio entre o esqueleto e o sistema muscular de suporte que levam à incongruência articular (ALTUNATMAZ, 2003). Ocorre uma disparidade no desenvolvimento dos tecidos ósseos e moles de suporte, que altera a biodinâmica da articulação, causando pequenos e repetidos traumas, com conseqüente inflamação da membrana sinovial. O resultado destas alterações será o surgimento de instabilidade articular e alterações ósseas degenerativas (TÔRRES *et al.*, 1999; SOUZA; TUDURY, 2003; NOGUEIRA *et al.*, 2005).

Os fatores intrínsecos e extrínsecos envolvidos incluem estrutura e conformação corpórea, alteração no desenvolvimento ósseo-muscular, crescimento rápido, nutrição desbalanceada em proteínas, cálcio e fósforo, distrofia do músculo pectíneo, atrofia muscular pélvica, excesso de exercícios em cães jovens, distúrbios hormonais e fatores ambientais como tipo de piso, presença de escadas, entre outros (BETTINI *et al.*, 2007).

Segundo Carneiro (2006), a superalimentação de filhotes de raças gigantes, com fornecimento de ração de alta densidade energética e palatável *ad libitum* está associada ao aparecimento de DCF em animais predispostos.

2.2. SINAIS CLÍNICOS

Segundo Souza *et al.*, (2015) os sinais mais comumente demonstrados são dor, claudicação unilateral ou bilateral progressiva e crônica, marcha rígida, atrofia muscular e relutância durante a realização de exercícios constantes.

Já Piermattei *et al.*, (2006) e Ginja *et al.*, (2010) afirmaram que os animais que manifestam sinais clínicos da DCF podem ser classificados em dois grupos: cães jovens entre 4 e 12 meses de idade, e aqueles acima de 15 meses de idade com doença crônica. Para estes autores, a intensidade e característica destas alterações podem variar de acordo com a idade do indivíduo.

Para Schulz, (2007), no caso de cães jovens, a subluxação estira a cápsula articular fibrosa, promovendo dor e claudicação, que podem ser agravadas com a ocorrência de fraturas do osso esponjoso acetabular. Os sinais clínicos mais frequentes são redução da atividade, dificuldade de se levantar após o descanso e claudicação intermitente ou contínua (MORGAN *et al.*, 2000; DASSLER, 2003; SCHULZ, 2007). Os músculos da área pélvica e da coxa, em geral, estão pouco desenvolvidos (PIERMATTEI, 2006). A locomoção ao correr assemelha-se a um coelho saltando e, à palpação, observa-se a presença de sinal de Ortolani (DASSLER, 2003; PIERMATTEI, 2006). O teste ortopédico de Ortolani é comumente utilizado. Para ser realizado, o paciente, sob contenção física ou química, deve ser posicionado em decúbito lateral com o membro a ser avaliado para cima. Aplica-se uma força no fêmur no sentido ventrodorsal fazendo com que a cabeça do fêmur saia parcialmente ou totalmente do acetábulo. Em seguida é realizada a abdução do fêmur voltando à cabeça femoral para a fossa acetabular, que ao sair da borda do acetábulo, é produzido som de estalo que pode ser ouvido ou sentido pelas mãos do examinador, caracterizando o sinal de Ortolani positivo (SOUZA & TUDURY, 2003).

Radiograficamente, esses cães apresentam as cabeças femorais com conformação normal, mas algum grau de luxação pode ser observado, e o ângulo de inclinação da cabeça femoral pode aumentar além de 146° (PIERMATTEI, 2006). Com relação ao método PennHip, pode-se notar diferenças em frouxidão articular entre as raças (ARNBJERG, 1999). Destaca-se ainda que, entre 12 e 14 meses de idade, a maioria dos cães displásicos caminha e corre livremente e são livres de dor, apesar da aparência radiográfica da articulação (PIERMATTEI, 2006).

No caso de cães mais velhos, esses apresentam um quadro diferente devido à doença articular degenerativa (DAD) e à dor a ela associada (MORGAN, 2000; SCHULZ, 2007). A condição artrítica é insidiosa e raramente promove uma manifestação aguda de claudicação (DASSLER, 2003). Os cães tornam-se claudicantes após exercícios prolongados ou pesados, apresentam um modo de

andar gingado e, frequentemente, manifestam crepitação e restrição da amplitude de movimento da articulação (PIERMATTEI, 2006; DASSLER, 2003). O cão prefere manter-se sentado mais do que em estação, levantado-se vagarosamente e com grande dificuldade (MORGAN, 2000; PIERMATTEI, 2006).

Há tendência de o animal manter o andar como coelho saltando, semelhante ao verificado em filhotes, desde que essa forma de movimento dos membros pélvicos diminua a amplitude de movimento da cabeça femoral dentro do acetábulo malformado pela máxima utilização da articulação lombossacra (MORGAN, 2000), no entanto muitos cães com displasia não mostram sinais de dor, outros apresentam apenas sinais intermediários e médios (PIERMATTEI, 2006). Os músculos da área pélvica e da coxa estão atrofiados e há hipertrofia compensatória dos músculos do ombro, em resposta ao desvio de peso cranial e uso maior dos membros torácicos (MORGAN, 2000; DASSLER, 2003; PIERMATTEI, 2006). O sinal de Ortolani é raramente presente em cães velhos de porte grande em decorrência do arrasamento do acetábulo e fibrose da cápsula articular (PIERMATTEI, 2006).

2.3. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico deve ser baseado na resenha, histórico completo, sinais clínicos, exame ortopédico e radiográfico (BETTINI *et al.*, 2007).

Na anamnese, o proprietário deve ser questionado sobre o ambiente que o animal permanece, dificuldade ou não de se levantar, intolerância ao exercício, claudicação, crepitação ao movimento, dor, hipertrofia da musculatura torácica e atrofia da musculatura pélvica (OHLERTH *et al.*, 2001).

Para a realização do teste ortopédico de Ortolani, o paciente posicionado em decúbito lateral com o membro a ser avaliado para cima, no qual aplica-se uma força no fêmur, produzindo som de estalo que pode ser ouvido ou sentido pelas mãos do examinador, caracterizando o sinal de Ortolani positivo (TUDURY *et al.*, 2003).

Para o diagnóstico definitivo são necessárias radiografias na incidência ventrodorsal obtidas com o paciente posicionado de maneira que possam ser visibilizados cabeça e colo femorais, além do bordo acetabular (BETTINI *et al.*, 2007); para isso, os membros posteriores devem ficar estendidos e os fêmures paralelos entre si e em relação à coluna vertebral. Os membros pélvicos devem ser rotacionados internamente, permitindo que as patelas se centralizem nos côndilos

femorais e a pelve fique em simetria. Existem alguns escores de avaliação radiográfica como da Fédération Cynologique Internationale (FCI) usada na Europa e OFA, usada principalmente nos Estados Unidos (FLUCKIGER, 2007).

Esse método de diagnóstico é recomendado pelo Colégio Brasileiro de Radiologia Veterinária, que adotou cinco classificações no qual avaliam os graus de DCF em diferentes etapas (Tabela 1).

Tabela 1: Classificação de grau de DCF

Grau	Ângulo de Norberg	H.D.	Características
A	~ 105°	H.D. -	A cabeça femoral e o acetábulo são congruentes.
B	~ 105°	H.D. +/-	A cabeça femoral e o acetábulo são ligeiramente incongruentes.
C	~ 100°	H.D. +	A cabeça femoral e o acetábulo são incongruentes.
D	~ 95°	H.D. ++	A incongruência entre a cabeça femoral e o acetábulo é evidente, com sinais de subluxação.
E	~ 90°	H.D. +++	Há evidentes alterações displásicas da articulação coxofemoral, com sinais de luxação ou distinta subluxação.

Fonte: site ABRV, 2015.

O mais utilizado em cães é o ângulo de Norberg, onde é avaliado a partir da linha traçada entre o centro das duas cabeças femorais e outra linha entre esse ponto e a borda acetabular, devendo ser igual ou superior a 105°, quando menor confirma subluxação (BETTINI *et al.* 2007).

Para melhorar a sensibilidade e especificidade dos métodos radiográficos, foi desenvolvido exame com a articulação coxofemoral sob estresse, denominado Método Radiográfico em Distração (MRD), que permite a detecção precoce da lassidão articular e, conseqüentemente, do risco de desenvolvimento da DCF e DAD (SMITH *et al.*, 1990; RISLER *et al.*, 2009).

O diagnóstico diferencial deve ser realizado em animais jovens com claudicação, para panosteíte, osteocondrose, separação fiseal, osteodistrofia hipertrófica e lesão completa do ligamento cruzado cranial; já em animais mais

velhos deve-se eliminar a possibilidade de doenças neurológicas como a síndrome da cauda equina, e ortopédicas como ruptura do ligamento cruzado cranial, poliartrite, traumas e neoplasias ósseas (HULSEN e JOHNSON, 2002).

2.4. TRATAMENTO

A escolha do tratamento correto para um cão com DCF depende de inúmeros fatores como idade, tamanho e atividade física do paciente, ambiente doméstico, grau de displasia e de osteoartrite, qualidade e profundidade do acetábulo, formato da cabeça femoral, presença ou não de afecções concomitantes, além dos custos do tratamento médico e cirúrgico e preferências do Médico Veterinário (HULSE e JOHNSON, 2002).

O tratamento conservador é indicado para DCF leve, mostrando-se menos eficaz no retardo a evolução da DAD em animais jovens (ANDERSON, 2011; KIRKBY e LEWIS, 2012).

2.4.1. TRATAMENTO CLÍNICO

O tratamento clínico baseia-se em: administração de analgésicos, anti-inflamatórios não-esteroidais ou esteroidais, sulfato de condroitina e glucosamina, controle do peso com dietas rigorosas para reduzir o estresse mecânico sobre a articulação para prevenir ou aliviar o processo inflamatório presente, fisioterapia, acupuntura e manejo (ROCHA *et al.*, 2013).

O uso de anti-inflamatórios não esteroidais e analgésicos é importante no alívio da dor, contudo não pode ser utilizado prolongadamente devido à possibilidade da formação de úlceras gástricas, sendo necessário o uso de protetores gástricos concomitantes ao anti-inflamatório (BARROS *et al.* 2008). Diacereína é inibidor de citocina pró-inflamatórias, além de estimular componentes cartilagosos, havendo ação antiosteoartrósica, analgésica e anti-inflamatória (FINGER e RICCI JUNIOR, 2012).

A gabapentina mostrou-se eficaz no tratamento de dor crônica em cães. Seu metabolismo ocorre rapidamente via esterase hepática e eliminada pelos rins,

oferecendo propriedades analgésicas quando administrada 2 ou 3 vezes ao dia (LASCELLES, 2005). Segundo Mao e Chen (2011), a gabapentina reduz consideravelmente os sintomas da dor neuropática como hiperalgesia e alodinia.

Dentre os nutracêuticos, condroitina e glucosamina possuem efeito anti-inflamatório benéfico e condroprotetor, por serem importantes constituintes da cartilagem hialina (SANTANA *et al.*, 2010). O primeiro inibe ação de enzimas que degradam cartilagem, já a glucosamina estimula produção de colágeno e proteoglicanos pelos condrócitos, havendo efeito condroprotetor sinérgico pelas duas moléculas (BEYNEN, 2003). Contudo o efeito desses compostos é tardio, sendo necessário 6 a 8 semanas para observar melhora no quadro clínico do animal (HENROTIN, 2005).

O controle de peso é um dos fatores mais importantes para impedir a evolução de osteoartrite (KIRKBY e LEWIS, 2012). O paciente deve ser acompanhado semanalmente, determinando-se ingestão calórica diária necessária (HULSE e JOHNSON, 2002).

Segundo Kirkby *et al.*, (2012), a utilização de exercícios ativos e passivos visa à recuperação da amplitude de movimentos, metabolismo e difusão de nutrientes na cartilagem. Ainda segundo os autores, a melhora na amplitude de movimentos em cães portadores de DCF ainda pode ocorrer apenas com o alongamento passivo.

Acupuntura também é indicada nos pacientes acometidos, é considerada eficaz no alívio da dor, melhorando a mobilidade da articulação e marcha do paciente e fortalecendo os músculos que envolvem a articulação afetada (JAEGER *et al.*, 2007).

O tratamento cirúrgico deve ser instituído quando a terapia conservativa não estiver mais surtindo efeito ou o paciente se encontrar incapacitado por período extenso (MUELLER *et al.*, 2007).

2.4.2 TRATAMENTO CIRÚRGICO

Sobre opções cirúrgicas, podem ser citadas a osteotomia intertrocantérica, a osteotomia tripla da pélvis (OPT), a denervação articular, a substituição articular por prótese e a excisão da cabeça e colo femorais (REMEDIOS, 1995; ARNBJERG, 1999; SCHULZ e DEJARDIN 2003; SCHULZ, 2007).

3. METODOLOGIA

Foram atendidos no Hospital Veterinário Gardingo – Faculdade Vértice/Univértix localizado em Matipó – MG, três animais da raça Rottweiler, sendo 2 fêmeas e 1 macho, positivos para a DCF (Tabela 2), sendo feita a avaliação clínica e radiográfica dos pacientes.

A avaliação clínica constou em análise subjetiva de qualidade de caminhada do animal, graduação de dor com e sem manipulação da articulação, realização de teste de Ortolani, graduação de escore corporal e questionário previamente preparado, realizado com o proprietário.

Tabela 2 – Descrição dos animais participantes do estudo.

Animal	Idade*	Sexo	Peso Inicial **	Peso Final**	Status Reprodutivo
1	5 anos	Fêmea	70,00	57,00	Castrada
2	6 anos	Macho	65,00	52,40	Não Castrado
3	8 anos	Fêmea	64,00	56,00	Castrada

* Idade ao final do estudo.

** Peso em quilogramas

Os exames radiográficos foram realizados no Departamento de Diagnóstico por Imagem do Hospital Veterinário Gardingo – Faculdade Vértice/Univértix localizado em Matipó – MG. O equipamento utilizado foi o aparelho de raios-X Job Corporation Xmaru1210PCB, sistema Leonardo, em ambiente adequado e seguindo as normas do departamento.

Para realização de exame radiográfico os animais foram submetidos ao Método de Radiografia Convencional, sendo feita a sedação dos animais. No animal 1 com Acepromazina na dose de 0,05 mg/kg e morfina na dose de 0,3 mg/kg por via intramuscular (IM), no animal 2 utilizou-se Diazepan na dose de 0,2 mg/kg e Propofol na dose de 6 mg/kg por via intravenosa (IV), enquanto no animal 3 foi feita tranquilização com Acepromazina na dose 0,05 mg/kg, Morfina na dose de 0,3 mg/kg, ambos por via IM, e Propofol a na dose de 6 mg/kg por via IV. Foi realizada radiografia na posição padrão utilizada para o diagnóstico da DCF, na qual os animais são posicionados em decúbito dorsal, com projeção ventrodorsal incidindo na pelve dos pacientes que ficam com os membros posteriores completamente

estendidos, fêmures paralelos entre si e em relação à coluna vertebral e a pelve em simetria.

Com a digitalização das imagens, foi feita a mensuração do ângulo de Norberg, o qual é avaliado a partir da linha traçada entre o centro das duas cabeças femorais e outra linha entre esse ponto e a borda acetabular, devendo ser igual ou superior a 105°, quando menor confirmará a subluxação e possível displasia. Foram também observados os seguintes parâmetros: incongruência da cabeça do fêmur e acetábulo; espessamento do colo femoral; formação ou presença de osteófitos no acetábulo; esclerose subcondral; irregularidade do contorno da cabeça femoral; contorno de colo femoral; cobertura acetabular; presença de linha de Morgan e outros sinais de DAD. Esses dados foram correlacionados e analisados individualmente.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para a realização das radiografias, foi eleito o MRC, uma vez que os cães avaliados possuíam idade superior a 24 meses. De acordo com Adams (2000) 95% dos animais, nessa idade, terão evidências radiográficas de DCF, aumentando a confiabilidade da avaliação. Logo o MRC é considerado padrão para avaliação radiológica da DCF (BRASS, 1989; GINJA *et al.*, 2010).

Os resultados são apresentados no Quadro 1, descrevendo a presença das alterações radiográficas observadas.

Quadro 1 – Presença e intensidade de alterações radiográficas nos animais avaliados.

Alterações	Cão 1		Cão 2		Cão 3	
	M.D.	M.E.	M.D.	M.E.	M.D.	M.E.
Linha de Morgan	+	-	-	-	-	-
Esclerose	++	-	++	-	+++	+++
Espessamento do colo femoral	+	-	+	+	+	+
Aumento do espaço articular coxofemoral	+	-	+	+	+	+
Deformação/achatamento da cabeça do	+	+	++	++	++	++

fêmur

Cobertura acetabular	1/3	2/3	<1/3	<1/3	<1/3	<1/3
Presenças de osteófito	-	-	+/-	+/-	++	++
Arrasamento do acetábulo	+	-	+	+	+	+
Angulo de Norberg	104,1°	104,8°	88,6º	91,6º	83,9°	89,2°

(-) Sem alterações (+/-) Alterações discretas (+) Alteração leve (++) Alterações moderadas
(+++) Alterações intensas/gravas

A mensuração do ângulo de Norberg foi realizada em todos os cães e estes classificados segundo a ABRV (Tabela 1) verificando-se os seguintes resultados: No cão 1 sendo portanto H.D.+; no cão 2 sendo H.D.+++ e no cão 3 sendo H.D.+++.

O Ângulo de Norberg (AN) é o mais utilizado na Europa e foi criado pela Federação Cinológica Internacional (FCI), sendo que ele combina a projeção radiográfica ventrodorsal convencional de membros estendidos com a medição do AN (VERHOEVEN *et al.*, 2011). O AN é uma característica radiográfica usada como medida da lassidão articular em estudos de investigação e como critério de seleção em registros de algumas raças. Esta medição relaciona o centro da cabeça femoral com a margem craniolateral do bordo acetabular dorsal. Um ângulo menor que 105° classifica um animal como displásico, enquanto um ângulo maior ou igual indica ausência de displasia (PIEMARTTEI *et al.*, 2006; VIEIRA *et al.*, 2010; VERHOEVEN *et al.*, 2011). Há, no entanto, estudos que revelam que o AN pode levar a falso-negativos e falso-positivos quando usado o ângulo de 105° para classificar todas as raças (CULP *et al.*, 2006).

Por meio da avaliação radiográfica dos pacientes, foi constatada esclerose intensa nas articulações do cão 3, e moderada no membro direito dos animais 1 e 2. Além disso, constatou-se presença moderada de osteófitos nas articulações do cão 3 e alterações discretas no cão 2. Segundo Powers (1996), a presença de osteófitos periacetabulares e esclerose do osso subcondral são os critérios radiográficos comumente utilizados para o diagnóstico de DAD provocada pela DCF, sendo estas alterações sinais frequentes de osteoartrose (MCLAUGHLIN R.; TOMLINSON J., 1996). A presença de osteófitos está frequentemente associada ao agravamento da

osteoartrose, apesar de Smith *et al.* (1999) considerarem que possam representar resposta apenas à instabilidade articular e que seu número ou tamanho não necessariamente refletem a gravidade das alterações da DAD. Mas, como citado por Vignon *et al.* (1983), eles parecem indicar que o processo de reação ao estresse anormal não está restrito apenas à cartilagem articular, mas também às estruturas adjacentes.

Na avaliação do arrasamento do acetábulo, todos os cães apresentaram alterações leves, exceto a articulação esquerda do animal 1. Segundo Tomlinson e Johnson (2000), uma das alterações radiográficas da DCF é a mudança no formato do acetábulo, caracterizada pelo arrasamento das bordas dorsal e crânio-lateral. O acetábulo raso vai contribuir potencialmente para um menor percentual de cobertura.

Com relação à cobertura acetabular, o cão 1 apresentou cobertura de 1/3 na articulação coxofemoral esquerda, sendo que os cães 2 e 3 apresentaram medida menor que 1/3 em suas articulações. De acordo com Lust *et al.*, (1999), com avanço da idade, o aumento da gravidade da DCF produz menores valores para a porcentagem de cobertura acetabular, além de espessamento do colo femoral, sendo encontrado em grau leve nas articulações dos cães 2 e 3 e no membro direito do cão 1. Essas modificações são explicadas por Rodaski (2002) e Fossum *et al.* (2005), onde esclareceram que o osso esponjoso acetabular é facilmente deformado por subluxação contínua dorsal da cabeça femoral. A subluxação dinâmica do acetábulo e a diminuição da área de superfície articular, a qual concentra estresse de sustentação de peso sobre uma pequena área na articulação coxofemoral, promovem fraturas do osso esponjoso trabecularacetabular e do colo femoral, apresentando como respostas fisiológicas à frouxidão articular a fibroplasia proliferativa da cápsula articular e maior espessura do osso trabecularacetabular levando o seu arrasamento, além de espessamento do colo femoral.

Quanto à deformação e achatamento da cabeça do fêmur, foram encontradas alterações moderadas nas articulações dos animais 2 e 3, e alterações leves no animal 1. Essas modificações se devem porque com aumento da instabilidade articular há a subluxação da cabeça femoral durante a marcha, modificando a relação de forças que atuam sobre o esqueleto imaturo e extremamente plástico. Forças compressivas se concentram no aspecto medial da cabeça femoral e na borda craniodorsal do acetábulo, atrasando o processo de ossificação

(HAZEWINKEL, 1994), resultando em arredondamento dessa borda, arrasamento acetabular e achatamento da cabeça femoral (ALEXANDER, 1992), agravando a instabilidade (FRIES e REMEDIOS, 1995).

Foi vista alteração leve na articulação coxofemoral direita do cão 1 e em ambas articulações dos cães 2 e 3, no que diz respeito a aumento do espaço articular. Segundo Tôrres *et al.* (2007), a perfeita integridade dos tecidos e a congruência adequada entre suas estruturas são fundamentais para uma articulação saudável, de forma que com o aumento do espaço articular, há modificação da biomecânica, resultando em instabilidade articular e alterações degenerativas secundárias representadas pelas artroses, que provocam alterações clínicas de dor, claudicação e dificuldade de locomoção.

Foi observado na articulação do membro direito do animal 1 a presença de linha de Morgan, não sendo observada nas articulações dos cães 2 e 3, isso se deve por ser o cão 1 o mais jovem dentre os animais avaliados, o que afirmaram Adams (2000) e Verhoeven *et al.* (2007), dizendo que a linha de Morgan é uma alteração radiográfica precoce da DCF indicativa de instabilidade articular, considerando Miranda (2013) ser o primeiro sinal radiográfico de DAD associada à subluxação da cabeça femoral, auxiliando a identificação positiva da DCF. Aos quatro meses de idade, mudanças patológicas frequentemente são observadas na cartilagem articular, tanto na cabeça do fêmur quanto no acetábulo. Ainda que a subluxação seja pouco evidente, ocorrem alterações das cartilagens articulares que resultam em uma formação óssea periarticular anormal. Devido à perda do contorno normal da superfície articular, ocorrem modificações na biomecânica, levando a alterações da densidade óssea na porção mediocaudal do colo do fêmur. Quando essa nova formação óssea se desenvolve, adquire densidade que permite sua identificação na radiografia, sendo conhecida como linha de Morgan (MORGAN, 1987; KLIMT *et al.*, 1992).

Os animais avaliados encontravam-se com escore corporal de 4,5 em uma escala de 1 a 5, segundo Mclaughin e Tomlinson (1996), animais com maior peso corporal possuem graus de DCF grave. Estando de acordo Bennett e May (1997), citando que o excesso de peso favorece a manifestação e a gravidade dessa doença.

5. CONCLUSÃO

A DCF tem variadas etiopatogenias e pode ser prevenida de diversas maneiras com orientação correta aos proprietários. O tratamento é paliativo e depende da idade, do tamanho e das condições físicas gerais do animal, porém não impede a progressão da DAD. O MRC mostrou-se eficaz no diagnóstico da DCF, através do qual é possível observar as alterações de DAD, as quais se alteram de acordo com a idade do animal.

REFERÊNCIAS

ADAMS, W.M. Radiographic diagnosis of hip dysplasia in the young dog. **Veterinary Clinician of North America: Small Animal Practice**, v.30, n.2, p.267-280, 2000.

ALEXANDER, J.W., The pathogenesis of canine hip dysplasia. **Veterinary Clinician of North America Small Animal Practice**, 1992.

ALTUNATMAZ, K. Treatment of canine hip dysplasia using triple pelvic osteotomy. **Vet. Med. Czech**, a. 1, v.2, p. 41-46, 2003.

ANDERSON, A. Treatment of hip dysplasia. **Journal of Small Animal Practice**. 52(1):182-189, 2011

ARNBJERG, J. Recent information about hip dysplasia. **Vet. Clin. North Am Small Anim Pract**. 29:921-43, 1999.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE RADIOLOGIA VETERINÁRIA. *Normas da f.c.i. para avaliação da displasia coxofemoral*. Disponível em: <<http://www.abrv.com.br/colégio.htm>>. Acesso em: 18 out. 2015.

BARROS, G.S.; VIEIRA, G.L.T.; VIANNA, L.R.; TÔRRES, R.C.S. Frequência da displasia coxofemoral em cães da raça Pastor Alemão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 60(6): 1557-1559, 2008.

BENNETT, D.; MAY, C. Moléstias articulares de cães e gatos. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. (Eds.). **Tratado de medicina interna veterinária**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1997.

BETTINI, C. M.; ASSIS, M. M. Q.; MONTEIRO, E. R.; GRACIANO, T. S. Incidence of hip dysplasia in the Border Collie. **Arq. Ciênc. Vet. Zool.** Unipar, Umuarama, v. 10, n. 1, p. 21-25, 2007.

BEYNEN AC. Nutraceuticals: Claims vs. evidence. In: **Anais of Production**.

BRASS, W. Hip dysplasia in dogs. **J. Small Anim. Pract.**, v.30, p.166-170, 1989.

BRINKER, W. O.; PIERMATTEI, D. L.; FLO, G. L. **A articulação coxofemoral. In: Manual de ortopedia e tratamento das fraturas de pequenos animais.** 3. ed. São Paulo: Manole, 1999.

CARNEIRO, S.C.M.C.; FERREIRA, R.P.; FIORAVANTI, M.C.S. Superalimentação e desenvolvimento do esqueleto de cães da raça Dogue Alemão: aspectos clínicos e radiográficos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58, p.511-517, 2006.

CULP, W.T.N.; KAPATKIN, A. S.; GREGOR, T. P. Evaluation of the Norberg angle threshold: a comparison of Norberg angle and distraction index as measures of coxofemoral degenerative joint disease susceptibility in seven breeds of dogs. **Veterinary Surgery**, v.35, n.5, p.453-9, 2006.

DASSLER, C.L. Canine hip dysplasia: diagnosis and nonsurgical treatment. In: Slatter D. **Textbook of small animal surgery.** 3^a ed. Philadelphia: Saunders; p.2019-29, 2003.

DUELAND, R.T.; ADAMS, W.M.; FIALKOWSKI, J.P. Effect of pubic symphysiodesis in dysplastic puppies. **Vet. Surg.**, v.30, p.201-217, 2001.

ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária: doenças do cão e do gato.** 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

FINGER, A.; RICCI J. E. Estudo do perfil de dissolução de cápsulas manipuladas de diacereína. **Revista Brasileira de Farmácia.** 93(3): 392-395, 2012.

FLUCKIGER, M. Scoring radiographs for canine hip dysplasia- the big three organizations in the world. **European Journal of Companion Animal Practice.** 17(1):135-140, 2007.

FOSSUM, T.W.; HEDLUND, C.S.; HULSE, D.A. **Hip dysplasia. In: Small animal surgery.** Saint Louis: Mosby, 1997.

FOSSUM, T. W.; HEDLUND, C.S.; HULSE, D.A. Cirurgia de Pequenos Animais. 2^a edição, **editora Rocca**, São Paulo, pg. 1087, 2005.

FRIES, C.L.; REMEDIOS, A.M. The pathogenesis and diagnosis of canine hip dysplasia: A review. **Can. Vet. J.**, v.36, p.494-501, 1995.

GINJA, M.M.D.; SILVESTRE, A.M.; GONZALO-ORDEN, J.M.; FERREIRA, A.J.A.; Diagnosis, genetic control and preventive management of canine hip dysplasia. **Vet J.**; 184:269-76, 2010.

HAZEWINKEL, H.A. Skeletal diseases. In: WILLIS, J.M.; SIMPSON, K.W., **The Waltham book of clinical nutrition of the dog and cat.** Frome: Butler and Tanner, 1994.

HENROTIN, Y. Pharmaceutical and nutraceutical management of canine osteoarthritis: Present and future perspectives. **Veterinary Journal.** 170: 113-123, 2005.

HULSE, D.A.; JOHNSON A.L. Tratamento da doença articular. In: Fossum T.W. **Cirurgia de Pequenos Animais**. 2. ed. São Paulo: Roca. pp. 1042 – 1087, 2002.

JAEGER, G.T.; LARSEN, S.; SOLI, N.; MOE, L. Two years follow-up study of the pain-relieving effect of gold bead implantation in dogs with hip-joint arthritis. **Acta Veterinaria Scandinavica**. 49(9):1-7, 2007.

JANUTTA, V.; HAMANN, H.; DISTL, O. Genetic and phenotypic trends in canine hip dysplasia in the German Shepherd dogs. **Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift**, v. 121, n. 3, p. 102-109, 2008.

KEALY, J.K.; MACALLISTER, H. Diagnostic radiology and ultrasonography of the dog and cat. St. Louis: **Elsevier Saunders**, 2005.

KIRKBY, K.A.; LEWIS, D.D. Canine Hip Dysplasia: Reviewing the Evidence for LAFOND, E.; BREUR, G.J.; AUSTIN, C.C. Breed susceptibility for developmental orthopedic diseases in dogs. **J. Am. Hosp. Assoc.**, v. 38, p. 467-477, 2002.

KLIMT, U., TELLHELM, B., FRITSCH, R. Die Bedeutung der "Morgan-Linie" für die Untersuchung auf HD beim Hund. **Kleintierpraxis**, v. 4, p. 211-214, 1992.

LAFOND, E.; BREUR, G.J.; AUSTIN, C.C. Breed susceptibility for developmental orthopedic diseases in dogs. **J. Am. Hosp. Assoc.**, v. 38, p. 467-477, 2002.

LASCELLES, B. D. X. Manejo da dor crônica em pequenos animais: Terapia multimodal. In: Otero, P. **Dor – Avaliação e Tratamento em Pequenos Animais**. Buenos Aires: Interbook, 2005.

LUST, G., WILLIAMS A.J., BURTON-WURSTER N., PIJANOWSKI G.J., BECK K.A., RUBIN G. & SMITH G.K. 1993. Joint laxity and its association with hip dysplasia in Labrador Retrievers. **Am. J. Vet.** 1999.

MADSEN, J.S. The joint capsule and joint laxity in dogs with hip dysplasia. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 210, p. 1463-1465, 1997.

MANLEY, P.A.; ADAMS, W.M.; DANIELSON, K.C. Long-term outcome of juvenile pubic symphysiodesis and triple pelvic osteotomy in dogs with hip dysplasia. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, 230, p. 206-210, 2007.

MAO, J.; CHEN, L. L. Gabapentin in pain management. *Anesthesia Analgesia*, v. 91, n. 3, p. 680-687, MARTINS, T. L.; SOUTO, M. T. Antidepressivos e anticonvulsivantes. In: Fantoni, D. T. **Tratamento da Dor na Clínica de Pequenos animais**. São Paulo: Elsevier. 2011.

MCLAUGHLIN, R.; TOMLINSON J. Alternative surgical treatments for canine hip dysplasia. Symposium on CHD: Surgical Management. **Vet Med**. 1996.

MINIHANE, K.P.; TURNER, T.M.; URBAN, R.M.; WILLIAMS, J.M.; THONAR, E.J.;

SUMNER, D.R. Effect of hip hemiarthroplasty on articular cartilage and bone in a canine model. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, v.437, p.157-163, 2005.

MIRANDA, F.G. Linha de Morgan e sua relação com a Displasia Coxofemoral em cães. **Escola de Veterinária-UFMG**, Belo Horizonte, 2013.

MORGAN, J.P.; WIND, A.; DAVIDSON, A.P. Hip dysplasia. In: Hereditary bone and joint diseases in the dog. **Hannover: Schlütersche**; p.109-208, 2000.

MORGAN, J.P. Canine hip dysplasia: significance of early bone spurring. **Vet. Radiol.**, v.28, p.2-5, 1987.

MUELLER, M.; BOCKSTAHLER, B.; SKALICKY, M.; MLACNIK, E.; LORINSON, D. Effect of radial shock wave therapy on the limb function of dogs with hip osteoarthritis. **Veterinary Record**. 160(1): 762–765, 2007.

NOGUEIRA, S. R.; ROCHA, L. B.; TUDURY, E. A. Utilização do índice de distração no diagnóstico da displasia coxofemoral canina. **Clín. Vet**, a. 10, n. 54, p. 28- 41, jan./fev, 2005.

OHLERTH, S.C. Estimation of genetic population variables for six radiographic criteria of hip dysplasia in a colony of Labrador Retrievers. **American Journal of Veterinary Research**. 62(6): 846-852, 2001.

OLMSTEAD, M.L.; HOHN, R.B.; TURNER, T.M. A five-year study of 221 total hip replacement in the dog. **Am. J. Vet. Med. Assoc.**, v.183, n.2, p.191-194, 1983.

ORTHOPEDIC Foundation For Animals. Hip grades. Available from: <http://www.offa.org/stats_hip.html>. Cited: 25/08/2015.

PASTER, E.R.; LAFOND, E.; BIERY, D.N.; IRIYE, A.; GREGORY, T.P.; SHOFER, F. S.; SMITH, G. K. Estimates of prevalence of hip dysplasia in Golden Retrievers and Rottweilers and the influence of bias on published prevalence figures. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.226, n.3, p.387-392, 2005.

PATRICELLI, A.J.; DUELAND, R.T.; ADAMS, W.M. Juvenile pubic symphysiodesis in dysplastic puppies at 15 and 20 weeks of age. **Vet. Surg.**, v.31, p.435-444, 2002.

PIERMATTEI, D.L.; FLO, G.; DECAMP, C. The hip joint. In: **Brinker, Piermattei and Flo's handbook of small animal orthopedics and fracture repair**. 4^a ed. Philadelphia: Saunders; p.461-511, 2006.

POWERS, M. Y. Use of the Caudolateral Curvilinear Osteophyte as an early marker for future development of osteoarthritis associated with hip dysplasia in dogs. **JAVMA**, Schaumburg, 2004.

REMEDIOS, A.M. Treatment of canine hip dysplasia: a review. **Can. Vet. J.**, v.36, p.503-509, 1995.

RISLER, A.; KLAUER, J.M.; KEULER, N.S. Puppyline, metaphyseal sclerosis, and caudolateral curvilinear and circumferential femoral head osteophytes in early detection of canine hip dysplasia. **Vet. Radiol. Ultrasound**, v.50, p.157-166, 2009.

ROCHA, B.D., TÔRRES R.C.S. Ultrasonic and radiographic study of laxity in hip joints of young dogs. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.59, n.1, p.90-96, 2007.

ROCHA, L.B.; TUDURY, E.A.; ROEHSIG, C.; BRAÚNA, D.; CHIORATTO, R.; ARAUJO, F.P.; KEMPER, B. Denervação articular coxofemoral em cães com doença articular degenerativa secundária à displasia. **Ciência Animal Brasileira**. 14(1): 120-134, 2013.

RODASKI, S. Artroplastia acetábulo-femoral em cães com pericárdio bovino conservado. **Archives of Veterinary Science**, Paraná, v.7, n.2, p.179-187, 2002.

SANTANA, L.A.; RAHAL, S.C.; ESTANISLAU, C.A.; LORENA, S.E.R.S.; MACHADO, V.M.V.; DOICHE, D.P.; PEREIRA-JÚNIOR O.C.M. Avaliação radiográfica de cães com displasia coxofemoral tratados pela sinfisiodese púbica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 62(5): 1102-1108, 2010.

SCHULZ, K.S. Diseases of the joints. In: FOSSUM, T.W. (Ed). **Small Animal Surgery**. St. Louis: Mosby Elsevier, 2007.

SCHULZ, K.S.; DEJARDIN, L.M. Surgical treatment of canine hip dysplasia. In: SLATTER, D. (Ed). **Textbook of small animal surgery**. 3.ed. Philadelphia: Saunders, p.2029-2059, 2003.

SMITH, G.K.; BIERY, D.N.; GREGOR, T.P. New concepts of coxofemoral joint stability and the development of a clinical stress-radiographic method for quantitating hip joint laxity in the dog. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.196, p.59-70, 1990.

SMITH, G.K.; MYERS, S.L.; BRANDT, K.D.; MICKLER, E.A.; ALBRECHT, M.E. Diacerheintreatment reduces the severity of osteoarthritis in the canine cruciate-deficiency model of osteoarthritis. **Arth.Reum.**, v.42, p.545-554, 1999.

SMITH, G.K.; MAYHEW, P.D.; KAPATKIN, A.S. Evaluation of risk factors for degenerative joint disease associated with hip dysplasia in German Shepherd Dogs, Golden Retrievers, and Rottweilers. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.219, p.1719-1724, 2001.

SOUZA, A. F. A.; TUDURY, E. A. Displasia coxofemoral: diagnóstico clínico e radiográfico – Revisão. **Clín. Vet., São Paulo**, a. 8, n. 47, p. 54-66, 2003.

SOUZA, A.N.A.; PINTO, A.C.B.C.F.; MARVULLE, V.; MATERA, J.M. Vertical forces assessment according to radiographic hip grade in German shepherd dogs.

Journal of Small Animal Practice. 56(1): 108–111, 2015.

THRALL, D. E. **Diagnóstico de radiologia veterinária.** 5 ed. Rio de Janeiro :Elsevier, 2010.

TOMLINSON, J.L.; JOHNSON, J.C. Quantification of measurement of femoral head coverage and Norberg angle within and among four breeds of dogs. **Am. J. Vet. Res.**, v.61, p.1492-1500, 2000.

TÔRRES, R.C.S.; Rocha, B.D.; Silva, E.F. Freqüência de displasia coxofemoral em cães da raça Labrador Retriever no Estado de Minas Gerais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** vol.53 no.4 Belo Horizonte Aug. 2001.

TÔRRES, R.C.S.; OCARINO, N.M.; VIEIRA, G.L. Aspectos patológicos e genéticos da displasia coxofemoral em cães. **Revista do CFMV**, v.13, n. 40, p.27-32, 2007.

VERHOEVEN, G.; COOPMAN, F.; DUCHATEAU, L. Interobserver agreement in the diagnosis of canine hip dysplasia using the standard ventrodorsal hip-extended radiographic method. **Journal Small Animal Practice**, v. 48, n.7, p.387- 93, 2007.

VERHOEVEN, G.; FORTRIE R.; VAN RYSSSEN, B.; COOPMAN, F. World wide screening for canine hip dysplasia: where are we now? **Veterinary Surgery**, 2011.

VIEIRA, G.L.T.; TÔRRES, R.C.S.; BARROS, G.S.; ROCHA, B.D.; REZENDE, C.M.F. Associação entre o ângulo de Norberg, o percentual de cobertura da cabeça femoral, o índice cortical e o ângulo de inclinação em cães com displasia coxofemoral. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2010.

VIGNON, E.; ARLOT, M.; HARTMAN, D.; MOYEN, B.; VILLE, G. Hypertrophic repair of articular cartilage in experimental osteoarthritis. **Ann. Rheum. Dis.**, v.42, p.82-88, 1983.

EFEITO DA BABOSA (*Aloe spp.*) NO TRATAMENTO DE TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL EM CADELAS

Acadêmicos: Simone Guerra Guimarães e Theyllon Portugal Fonseca

Orientador: Rogério Oliva Carvalho

RESUMO

O Tumor Venéreo Transmissível (TVT) é uma patologia frequente em cães errantes devido a sua facilidade de transmissão. Atualmente o único método de tratamento é através de sessões de quimioterapia com uso de antineoplásicos que possuem toxicidades. O uso da medicação pode acarretar problemas como anemias e leucopenias impossibilitando a continuidade do tratamento. Este estudo objetivou avaliar como tratamento alternativo o uso da planta *Aloe spp.* (Babosa) afim de identificar um efeito potencial no tratamento do tumor. Foram utilizados 3 grupos de cadelas, da qual um grupo foi tratado de modo convencional utilizando o Sulfato de Vincristina, outro apenas com Babosa e o terceiro grupo com associação de Sulfato de Vincristina e Babosa. Com esse experimento pôde-se concluir que a planta sozinha reduziu o tumor, porém não foi obtido a cura total. Já o uso associado ao antineoplásico reduziu o número de sessões e o tempo de tratamento quando comparado ao tratamento convencional.

Palavra-chave: Tumor Venéreo Transmissível, Fitoterapia, Sulfato de Vincristina, *Aloe spp.*

1. INTRODUÇÃO

O Tumor Venéreo Transmissível (TVT) é um tipo de tumor que mais acomete a espécie canina e apresenta uma predominância maior em animais jovens, errantes e sexualmente ativos, e sua presença foi assinalada em todos os continentes (LIMA *et al.*, 2011). Ocorre frequentemente na clínica veterinária em todo o mundo, devido a sua fácil transmissão, com alta prevalência em animais abandonados, predominando nesses casos, em cães sem raça definida (SRD) (BATISTA *et al.*, 2007).

O TVT canino é uma neoplasia que se desenvolve primariamente na genitália externa de cães, tanto no macho quanto na fêmea. É transmitido por transplantação alogênica, ou seja, células tumorais viáveis são transferidas de um animal para outro suscetível, acarretando no desenvolvimento do tumor (SANTOS & ALESSI, 2010).

Rotineiramente o tratamento eletivo para TVT tem sido feito por meio de quimioterapia com utilização de Sulfato de Vincristina administrada uma vez por semana e deve ser administrada por mais duas vezes após o desaparecimento do tumor (LIMA *et al.*, 2011). Contudo visa-se a necessidade de tratamentos

alternativos considerando que além dos custos da quimioterapia é também um procedimento agressivo ao organismo animal.

A busca por terapias complementares é uma prática muito comum no Brasil e dentre as mais utilizadas estão as plantas medicinais (CEOLIN *et al.*, 2010). Dentre as plantas populares, a *Aloe spp.* é uma das que mais merece destaque por grande capacidade de regeneração de tecidos danificados, o que faz com bastante eficiência (PALHARIN *et al.*, 2008). A *Aloe spp.* tem revelado atividade antineoplásica, que se deve a pelo menos três mecanismos diferentes, baseados nos efeitos imunoestimulatório, antiproliferático e antioxidante (CEOLIN *et al.*, 2010).

Estudos experimentais relatam a atividade antineoplásica da Babosa frente a diversas linhagens de câncer (FREITAS *et al.*, 2014). Além disso, estes têm evidenciado o potencial benéfico da utilização da *Aloe spp.* no tratamento do câncer, além dos efeitos já conhecidos, como a ação cicatrizante, amplamente divulgada pelo conhecimento popular (CEOLIN *et al.*, 2010).

Dessa forma objetivou-se com este trabalho avaliar a eficácia da *Aloe spp.* (babosa) no tratamento de cadelas SRD. diagnosticadas com Tumor Venéreo Transmissível (TVT).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Histórico/Epidemiologia do TVT

O TVT está incluído no grupo dos chamados “Tumores de Células Redondas”, juntamente com os mastocitomas, carcinomas de células basais, linfomas e histocitomas (SILVA *et al.*, 2007). É uma neoplasia contagiosa, que acomete cães de ambos os sexos, havendo maior ocorrência nos animais com livre acesso à rua (SOUZA, 2013). Os primeiros relatos referidos a esse tipo de tumor encontrado na literatura foi datado de 1820 atribuído por um pesquisador chamado Huzard. Contudo, considerando um importante relato feito por Sticker entre 1905-1906, descrevendo-o como um linfossarcoma é que o TVT tornou-se conhecido e contudo, por muitos anos essa afecção recebeu a denominação de Tumor de Sticker (LIMA *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2007).

TVT canino, condiloma canino, granuloma venéreo, sarcoma infeccioso, linfossarcoma venéreo, são algumas sinonímias dadas ao tumor ao longo dos anos (SILVA *et al.*, 2007). Sticker constatou que essa neoplasia é transmissível por

células transplantáveis, com localização predominantemente venérea, afetando o pênis e a vagina de cães, mas também podendo ser encontrado em regiões extragenitais (LIMA *et al.*, 2011).

2.2. Transmissão e Aspecto Clínico

A transmissão dessa neoplasia geralmente se dá pelo coito, quando ocorre o contato das células tumorais vivas com as membranas mucosas do animal. Podendo também ser transmitido através de lambeduras, mordeduras e arranhões ou qualquer outro meio que produza escoriações ou soluções de continuidade na pele ou mucosas (SOUZA, 2013). É uma patologia muito frequente na clínica veterinária em todo o mundo, devido a sua fácil transmissão, fazem parte do grupo de risco os cães que habitam áreas de alta densidade e com alta prevalência de animais abandonados, predominando nesses casos, cães sem raça definida (SRD). Não existe predisposição de gênero, envolvendo a genitália externa de cães de ambos os sexos e de diversas raças, com localização mais frequente na vagina, vulva e região extragenital nas fêmeas e prepúcio, pênis e região extragenital em macho (LIMA *et al.*, 2011; BATISTA *et al.*, 2007).

Além da área genital e extragenital, como pele e reto, essa neoplasia pode também ser encontrada na cavidade oral e nasal. Em cadelas, o TVT pode se disseminar para a cérvix, útero e ovidutos. Embora a ocorrência de metástase seja rara, o TVT pode disseminar-se para os linfonodos regionais, vísceras abdominais, pulmões e sistema nervoso central (SOUZA, 2013).

Normalmente o TVT se apresenta como pequenas áreas elevadas, com aspecto de couve-flor ou nodular, com presença de secreção serosanguinolenta e possível infecção bacteriana secundária (LIMA *et al.*, 2011). O tumor venéreo transmissível inicialmente é pequeno, hiperêmico, podendo apresentar edema e hemorragia, protusão da genitália de um tumor avermelhado e friável. Observa-se no animal o comportamento de lambedura freqüente no local afetado. O TVT pode ser único ou múltiplo, quanto à forma, além dos tipos já descritos de couve-flor ou nodular, pode se apresentar também como pedunculado, verrucoso, papilar ou multilobulado, com tamanho variando de 5 mm a 10 cm ou mais (SOUZA, 2013; BATISTA *et al.*, 2007).

2.3. Diagnóstico

O método de diagnóstico para o TVT é baseado na anamnese, alterações clínicas e aspecto macroscópico da lesão (SOUZA, 2013). É feito mais comumente pelo exame físico onde se observa o tumor na genitália externa. Nos casos onde o tumor genital não é observado e há suspeita em outras regiões do corpo, a impressão sobre lâmina de microscopia (“*imprint*”) e a punção aspirativa por agulha fina (PAAF) são necessários, podendo também ser diagnosticado através de exame histopatológico (LIMA *et al.*, 2011), pode ser feita avaliação citológica vaginal colhida através de *swab* (SOUZA, 2013).

A eficácia da citologia para o diagnóstico de neoplasias ou lesões inflamatórias é de 90%, dessa forma preparações citológicas obtidas por aspiração com agulha fina ou por impressão das massas são excelentes métodos de diagnóstico do TVT. Para a realização do exame histológico, a biópsia é o método diagnóstico mais seguro (BATISTA *et al.*, 2007).

2.4. Tratamento Convencional

Batista *et al.*, 2007, afirmam que, o TVT é uma neoplasia sensível à quimioterapia e radioterapia, e dentre estas modalidades de tratamento, a quimioterapia é aceita como mais efetiva. O Sulfato de Vincristina administrada uma vez por semana é extremamente eficaz, tem baixo potencial de toxicidade e custo satisfatório. Deve ser administrada por mais duas vezes após o desaparecimento do tumor. A duração total do tratamento costuma ser de quatro a seis semanas. Ocorre remissão completa em mais de 90% dos cães tratados com Sulfato de Vincristina e em geral eles ficam livres da doença. As células dessa neoplasia são muito sensíveis à ação de quimioterápicos, em particular, Sulfato de Vincristina (SANTOS & ALESSI, 2010).

A terapia com Sulfato de Vincristina na dose de 0,5-0,7 mg/m² ou 0,025mg/kg por via endovenosa constitui indicação eficaz para o tratamento de TVT, seja de ocorrência genital ou não (LIMA, *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2007).

Com respeito à dermatotoxicidade Lima *et al.*, 2011, descreve que pode ocorrer discreta alopecia em cães tratados com Sulfato de Vincristina e considera mais graves as lesões como a necrose no tecido perivascular quando ocorre

extravasamento do citostático durante a administração do quimioterápico. Afirma ainda que o TVT também responde a outras formas de tratamento, tais como cirurgia, radioterapia, crioterapia e que o prognóstico é favorável, exceto para os que apresentam metástases ou resistência à quimioterapia.

2.5. Uso de plantas como tratamento alternativo

Desde a antiguidade, as plantas medicinais já eram utilizadas para a cura de inúmeras doenças. Registros históricos de 5 mil anos mostram que os sumérios já usavam ervas para fins medicinais. O primeiro livro sobre ervas já registrado data de 2700 A.C e vem dos chineses com uma lista de 365 plantas (PALHARIN *et al.*, 2008).

Os medicamentos disponíveis no mercado tiveram sua origem em protótipos de substâncias químicas na maioria dos casos de origem vegetal. Mais especificamente de espécie de uso popular no tratamento, cura e prevenção de doenças (DISTASI, 2007).

Ainda segundo Distasi (2007), uma espécie vegetal que tenha um valor terapêutico, sempre irá apresentar uma atividade biológica por possuir em sua composição a união de uma série de substâncias e quando em contato com o organismo, consegue alterar para mais ou para menos determinada função desse organismo.

2.6. *Aloe spp* (Babosa) como tratamento fitoterápico

No universo das plantas medicinais, encontram-se várias espécies de *Aloe spp*, popularmente conhecida como Babosa. Pertence à família das Asphodelacea e do gênero *Aloe* (LORENZI & MATOS, 2002). Dentre todas as plantas usadas com propósito medicinal existem mais de 300 espécies de *Aloe spp*. Muitas delas são usadas em vários países, incluindo o Brasil, tanto para fins medicinais quanto principalmente para cosméticos (RAMOS & PIMENTEL, 2011).

Conhecida há pelo menos três mil anos, somente, no último século é que a babosa, chamada também de *Aloe vera* - conquistou o interesse da ciência oficial. Vários centros de pesquisa nos hospitais e na indústria cosmética estão trabalhando para conhecê-la e aplicá-la nas suas múltiplas funções (PALHARIN *et al.*, 2008).

Muito têm sido utilizada a *Aloe spp.* para tratamento não só do câncer mas também para numerosas enfermidades como dores de cabeça, gastrite, artrite entre outras. Mas a busca maior em utilizar a planta é para a cura do câncer e existem vários relatos de casos com resultados significativos (ZAGO, 1998). Estudos já realizados evidenciam o potencial benéfico da utilização da *Aloe spp.* no tratamento do câncer, além dos efeitos já conhecidos, como a ação cicatrizante, amplamente divulgada pelo conhecimento popular (CEOLIN *et al.*, 2010).

O sumo mucilaginoso (gel) das folhas da *Aloe spp.* possui atividade fortemente cicatrizante devido ao polissacarídeo presente e uma boa ação antimicrobiana sobre bactérias e fungos, resultante do complexo formado pelo polissacarídeo aloeferon e as antraquinonas. Esta substância é muito indicada também como cicatrizante nos casos de queimadura e ferimentos superficiais da pele. A *Aloe spp.* possui atividade anticancerígena e a propriedade antineoplásica, as quais se devem a pelo menos três mecanismos diferentes, baseados nos efeitos imunoestimulatório, antiproliferático e antioxidante. A ação antiproliferativa é determinada pelos antracênicos e moléculas antraquinônicas, enquanto a atividade imunoestimulante deve-se principalmente à acemanano (CEOLIN *et al.*, 2010).

O uso tópico da *Aloe spp.* promove mais oxigenação, aumenta a vascularização e quantidade de colágeno para que a cicatrização ocorra. Quando usado a planta no tecido lesado para cicatrização, ocorre regeneração do processo inflamatório e a multiplicação de células epiteliais que por fim é remodelado e completamente regenerado (RAMOS & PIMENTEL, 2011).

Dentre vários trabalhos que utilizam a *Aloe Vera spp.* destaca-se um estudo realizado em um município sul do Rio Grande do Sul com pessoas acometidas por diversos tipos de câncer, dentro de um Programa de Internação Domiciliar Interdisciplinar Oncológico. Foram administrados a estes pacientes a Babosa empiricamente como terapia complementar com o objetivo de investigar sua utilização. Os resultados encontrados foram satisfatórios. Foi observado a diminuição do tumor com um efeito supressor no crescimento, além de maior/melhor sobrevida dos pacientes que utilizaram a planta em relação aos pacientes que usaram apenas o tratamento convencional da quimioterapia (CEOLIN *et al.*, 2010).

O uso interno diário de preparados que contêm antraquinonas, um dos grupos químicos da *Aloe spp.*, por períodos prolongados (mais de três meses), pode

provocar dores abdominais, diarreia sanguinolenta, hemorragias gástricas e nefrite. Os sintomas de intoxicação por consumo excessivo do látex são hipocalemia, hiperaldosteronismo, bradicardia e hipotermia. O sintoma mais importante nos quadros de intoxicação é a diarreia (CEOLIN *et al.*, 2010).

3. METODOLOGIA

3.1. Seleção dos animais e organização dos grupos

Para a pesquisa foram utilizadas 9 cadelas diagnosticadas positivas para o TVT através de exame clínico e *swab*. Esses animais foram divididos em 3 grupos equivalentes quanto à quantidade de cadelas por grupo, peso aproximado e aspectos clínicos da lesão. No primeiro grupo os animais foram submetidos apenas ao tratamento convencional com o fármaco antineoplásico Sulfato de Vincristina. No segundo grupo os animais foram submetidos ao tratamento apenas com o xarope de *Aloe spp.* E no terceiro grupo os animais foram submetidos a uma associação de *Aloe spp.* mais o tratamento com o Sulfato de Vincristina. Os grupos formados tiveram o propósito de identificar a regressão em cada caso, utilizando-os como comparativos da reação dos animais submetidos à planta em relação à quimioterapia e seu efeito também associado em seus organismos.

Os animais foram mantidos em um controle intensivo de monitoramento em canis separados por grupos com consumo de dieta equivalente em relação ao peso corporal e não foi administrado nenhum outro tipo de fármaco ou produto que interferisse na relação com o tumor.

Todos os animais foram submetidos a avaliação semanal do hemograma para identificar efeitos advindos do tratamento, que ocorre principalmente com a administração do Sulfato de Vincristina.

3.2. Obtenção do xarope de *Aloe spp.*

O tratamento foi feito com um xarope descrito conforme Ceolin *et al.*, (2010) e produzido no laboratório de farmacotécnica da Faculdade Univértix, sendo para este utilizado: 1 metros de *Aloe spp.*; 1/2 kg de mel; 40ml de bebida destilada.

Todos os ingredientes foram adicionados a um Mixer até formar um creme homogêneo e conservado em geladeira.

3.2.1. Modo de Colheita e Preparo

A planta deve ter pelo menos 5 anos de vida. A folha deve ser colhida sem presença do sol (após o sol de pôr ou antes do amanhecer). O preparo deve ser feito no momento da colheita e ser retirado apenas os espinhos da planta. Picar e juntar com os demais ingredientes no Mixer. Depois de homogeneizado deve ser armazenado em vidro escuro mantido em geladeira durante os dias de uso.

3.3. Esquema terapêutico

A) Posologia grupo 1

Foi utilizada o Sulfato de Vincristina numa dose de 0,5 mg/m² juntamente com 250ml de soro NaCl 0,9% por via intravenosa, conforme os resultados indicavam a possibilidade das sessões. Os intervalos entre as administrações sofreram mudanças no protocolo de acordo com o as alterações laboratoriais dos exames dos animais.

B) Posologia grupo 2

Neste grupo foi administrado somente o xarope de *Aloe spp.*, como não se conhece a dose adequada para animais em nenhuma autoria, foi mantida a dose descrita por CEOLIN *et al.*, (2010), com a administração de 10 ml (2 colheres de sopa) do xarope a cada 12 horas, por dias consecutivos, por via oral independente do peso ou idade.

Este tratamento foi realizado durante um período equivalente ao tempo do uso da quimioterapia com Sulfato de Vincristina, que possui duração média de 4 a 6 semanas.

C) Posologia grupo 3

Houve associação na mesma dose descrita em cada grupo, durante o mesmo período de tratamento das demais. Neste caso, foi administrado o Sulfato de Vincristina intravenosa na dose de 0,5 mg/m² e o xarope de *Aloe ssp.* via oral na mesma dose de 10ml do xarope 2 vezes ao dia dos animais com tratamento único durante toda a terapia com o Sulfato de Vincristina.

3.4. Avaliação dos resultados

Para avaliação precisa da regressão semanal do tumor foi utilizado um paquímetro para mensuração do diâmetro do TVT, para avaliar a proliferação celular *in vivo* durante o desenvolvimento do tumor nos animais tratados com *Aloe spp.* ou sua susceptibilidade à apoptose.

Feita a mensuração e os exames semanalmente foi observado e anotado os resultados comparando a evolução entre os casos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Como protocolo quando utilizado a quimioterapia, é necessário que antes de cada sessão seja feito um hemograma completo para avaliar a recomendação do uso de antineoplásico ou não.

A monitoração do paciente que recebe quimioterapia constitui o meio mais eficaz para se evitar o risco de morte ou mielossupressão. Hemogramas completos devem ser obtidos semanalmente. Dependendo da queda de células, o agente é descontinuado por 2 a 3 administrações para permitir que haja tempo suficiente para a contagem celular retornar ao normal (NELSON & COUTO, 2010).

Por tanto para manter sincronismo entre os grupos e melhor avaliação de controle, duas semanas antes de iniciar o tratamento foi feito os exames físico, hematológico e citologia vaginal em todas as cadelas. A cada semana foi feito citologia vaginal com *swab* para constatar a presença ou ausência de células tumorais e poder com isso verificar sua possível cura.

Após duas semanas de exames e anotações gerais deu-se início ao tratamento das cadelas conforme seleção de cada grupo. As cadelas utilizadas para o experimento do grupo 2 e 3, apresentaram leucocitose e anemia variando entre grau leve (30 a 36% de hematócrito), moderado (18 a 29% de hematócrito) e grave (<18% de hematócrito) (NELSON & COUTO, 2010).

Nas semanas antes de iniciar o tratamento nas cadelas, foi observado um aumento do tamanho e consistência dos tumores. Segundo Jones *et al*, 2000, o TVT cresce com rapidez em seguida ao transplante.

Grupo 1- Sulfato de Vincristina

As cadelas desse grupo foram submetidas ao tratamento somente com o Sulfato de Vincristina. Os exames laboratoriais permitiam que as cadelas pudessem fazer o tratamento com uso de quimioterapia. Uma semana após a 1ª dose de quimioterapia, houve regressão de 67,6% da massa tumoral na média geral das cadelas (tabela 1). Na 4ª semana uma das cadelas apresentou grave leucopenia, sendo com isso nota para observação clínica e interrupção da sessão de quimioterapia.

A toxicidade hematológica constitui a complicação mais comum da quimioterapia e frequentemente as citopenias severas e potencialmente letais que ocorrem, exigem descontinuidade temporária ou permanente do agente (NELSON & COUTO, 2010).

Na 5ª semana outra cadela apresentou leve anemia em seu resultado de hemograma e em seguida foi diagnosticada com metrite sendo também neste caso interrompida a sessão de quimioterapia. Neste caso o tratamento de escolha para essa enfermidade é a Ovariohisterecomia como melhor opção (MONTEIRO, 2009). Este procedimento foi realizado na 6ª semana.

Não há estudos específicos sobre a relação do Sulfato de Vincristina causar metrite, porém, a quimioterapia pode causar reabsorção embrionária, o que origina assim um acúmulo de líquido. Este acúmulo de líquido pode predispor a proliferação bacteriana desenvolvendo com isso uma infecção uterina caracterizada como metrite conforme relata Monteiro (2009).

Não se pode afirmar que a cadela em questão estava gestante antes de se iniciar o tratamento com a quimioterapia por não ter sido detectada a possível prenhez, porém não houve negligência em se iniciar o tratamento sem a constatação pois, para este fato só é possível detectar uma gravidez em cadelas com pelo menos 20 dias de gestação, tanto na palpação quanto pelo ultrassom (FREITAS & SILVA 2008), o que seria inviável caso estivesse com menos de 20 dias de gestação.

Contudo, trata-se de um ponto a se tocar em questão, fazendo-se necessário mais estudos já que não se sabe ao certo o grau de relação da quimioterapia com a metrite causada nas cadelas por consequência da administração do Sulfato de Vincristina como efeito colateral. Afinal a medicação antineoplásica do Sulfato de Vincristina é de uso humanos, porém não existe uma medicação específica para

animais, e em alguns casos, como este, faz-se o uso através de extrapolação alométrica em animais. Em humanos, Cardonick e Iacobucci (2004) afirmam que o uso da quimioterapia em mulheres grávidas pode representar risco de vida para o feto em desenvolvimento, acarretando aborto durante o primeiro trimestre, morte fetal e má formação.

Devido ao procedimento cirúrgico a cadela ficou afastada da quimioterapia por 3 semanas. Na 9ª semana a cadela continuou a sessão de quimioterapia, após avaliação dos resultados laboratoriais a cadela permaneceu com uma leve anemia, porém que não comprometia a sessão de quimioterapia. Na 10ª semana, foi feita a 4ª sessão de quimioterapia. Na 11ª semana foi feita a citologia vaginal e a lâmina constatou negativo para o TVT.

Tabela 1: Valores Hematológicos semanais dos animais tratados somente com Sulfato de Vincristina e percentual de da massa tumoral visível.

Sulfato de Vincristina					
Semanas	HT %	HEx10 ¹² /L	LEUx10 ³	PLTx10 ³	TVT %
1	33	5,09	13,3	439,3	100
2	33,6	5,65	6,6	386	32,4
3	35	5,31	9,7	338,3	15,6
4	33	5,44	10	415	12,8
5	34,3	5,43	12,2	364	10,2

HT= Hematócrito; HE= Hemácias; LEU= Leucócitos; PLT= Plaquetas; TVT% = Proporção de massa visível do Tumor Venéreo Transmissível.

Valores de referência (LATIMER *et al.*, 2003): HT= 37 a 55%; HE=5,5-8 milhões/mm; LEU=6.000-17.000; PLT=117-460x10⁹/L

Grupo 2- Babosa

Quando o animal apresenta um grau grave de anemia (menos que 18% de hematócrito) não se recomenda o uso da quimioterapia, pois conforme Nelson & Couto, (2010) os agentes anticâncer não são seletivos e além de eliminarem tecidos neoplásicos eliminam também tecidos normais de rápida divisão do hospedeiro como células da medula óssea, com isso, a medicação promovendo alterações de queda dessas células vermelhas que já estão baixas poderia ser fatal.

Para padronizar e avaliar as consequências gerais, as cadelas desse grupo tratadas somente com Babosa também passaram por exames semanais para comparar seu histórico. As cadelas utilizadas para o experimento desse grupo apresentavam leucocitose e anemia, e portanto, não poderiam passar naquele momento por sessões de quimioterapia além de uma delas ter sido diagnosticada prenha e confirmada através de ultrassonografia, não sendo indicado o uso de quimioterapia em fêmeas gestantes. Apesar de não se ter um estudo sobre o efeito do Sulfato de Vincristina em cadelas gestantes, o próprio fabricante (ZODIAC) comprovou em seus testes com camundongos e chimpanzés que o uso da droga durante a prenhes pode ocasionar morte fetal, reabsorção embrionária e má formação fetal principalmente no início da gestação. Porém o uso da babosa na cadela gestante não representou nenhum problema em relação à sua gestação e aos fetos, mesmo com o uso contínuo.

Neste grupo foi observado uma melhora significativa nos valores hematológicos conforme demonstrado na tabela 2, e as cadelas que não poderiam passar por sessões de quimioterapia, começaram a ter resposta positiva e poderiam a partir de então fazer as sessões se fosse necessário.

Tabela 2: Valores Hematológicos semanais dos animais tratados somente com Babosa e percentual de da massa tumoral visível.

Babosa					
Semanas	HT %	HEx10¹²/L	LEUx10³	PLTx10³	TVT %
1	28,6	5,22	15,3	283	100
2	27	5,09	17	222.1	62,8
3	31,4	5,29	18,3	142.6	58,3
4	35,3	5,66	18,1	259.3	57,7
5	31,6	5,08	18,8	205	56,9

HT: Hematócrito; HE: Hemácias; LEU: Leucócitos; PLT: Plaquetas; TVT%: Proporção de massa visível do Tumor Venéreo Transmissível.

Valores de referência (LATIMER *et al.*, 2003): HT= 37 a 55%; HE=5,5-8 milhões/mm; LEU=6.000-17.000; PLT=117-460x10⁹/L

Ao iniciar o tratamento o sangramento vaginal que era constante cessou com apenas 3 dias em todas as cadelas deste grupo e durante a semana pôde-se observar regressão do tamanho do tumor e melhora na mucosa vaginal e o aspecto

da massa tumoral que se apresentava como de couve-flor e hiperêmica para lisa e normocorada.

Conforme mencionam Jones *et al*, 2000, a massa tumoral possui um aspecto altamente vascularizado que sangra facilmente. Partindo deste princípio e do fato de não ter sido utilizado nenhum outro tipo de tratamento, pode-se inferir que o xarope de babosa apresentou algum efeito no organismo dos animais, cessando o sangramento. Fato este que também pôde ser observado nas cadelas do Grupo 3 e também fizeram utilização do xarope e não foi constatado o mesmo resultado nas cadelas do Grupo 1 somente com sessões de quimioterapia.

Na 2^a semana de tratamento as cadelas que apresentavam apatia, fezes bem fétidas e anemia, tiveram melhora positiva na resposta se mostrando aparentemente mais saudáveis e no hemograma individual pôde-se constatar que não havia mais sinais de anemia. O tumor manteve-se estável, havendo uma redução de menor proporção em relação à primeira semana e em relação aos outros grupos.

Na 3^a semana a cadela prenha já apresentava a barriga volumosa em relação aos filhotes, e no ultrassom pôde-se identificar que estavam bem formados sem sinal de anormalidades.

Na 4^a semana houve uma redução pequena da proporção do tumor, porém um caso a parte de uma das cadelas já não apresentava o tumor exposto, mas ainda era possível observar a massa tumoral internamente na vagina e os exames laboratoriais continuaram apresentando melhora.

Na 5^a semana de tratamento não foi observado cura total do TVT, porém houve efeito do uso de babosa em relação ao tumor com redução do grau evolutivo, quando comparado às primeiras semanas sem tratamento aonde foi constatado que o tumor cresce de maneira rápida. Assim como revela Jones *et al*. (2000), que as mitoses celulares são frequentes, podendo realizar até mesmo metástase.

Grupo 3- Babosa + Sulfato de Vincristina

As cadelas desse grupo apresentavam sinais leve de anemia e de leucocitose, o que permitiu fazer uso do Sulfato de Vincristina.

Apesar de a medicação Sulfato de Vincristina promover redução de células, a ponto de ter que pausar as sessões conforme o grau de anemia que atingirem

(hematócrito menor que 18%) ou leucopenia (NELSON & COUTO, 2010). Nestes casos, associadas à Babosa houve melhora considerável conforme pode ser observado na tabela 3.

Tabela 3: Valores Hematológicos semanais dos animais tratados com Babosa e Sulfato de Vincristina associados e percentual de da massa tumoral visível.

Semanas	Associado				
	HT %	HE	LEUx10 ³	PLTx10 ³	TVT %
1	26	5,38	17,1	195,6	100
2	28	5,72	26,5	199,3	10,2
3	30,8	5,62	14,1	149	0
4	33	5,82	11	267,3	0
5	34,9	5,5	12,6	247,6	0

HT= Hematócrito; HE= Hemácias; LEU= Leucócitos; PLT= Plaquetas; TVT= Proporção de massa visível do Tumor Venéreo Transmissível.

Valores de referência (LATIMER *et al.*, 2003): HT= 37 a 55%; HE=5,5-8 milhões/mm; LEU=6.000-17.000; PLT=117-460x10⁹/L

Na 1^a semana que se iniciou as sessões de Sulfato de Vincristina foi administrado também o xarope de Babosa. Na 2^a semana houve regressão de praticamente 90% do tamanho do tumor das cadelas e melhora do hematócrito (tabela 3).

Na 3^a semana antes de se fazer a sessão de quimioterapia foi constatado cura 100% de uma das cadelas confirmado no exame de citologia vaginal e sendo feito o exame para garantia da confirmação. Outra cadela apresentou em uma lâmina citológica negativo para TVT, porém na confirmação da segunda lâmina foi encontrado a contagem de 3 células tumorais ao total.

Na 4^a semana todas as cadelas já apresentavam cura do TVT com negativo nas duas lâminas de citologia.

Apesar da toxicidade do Sulfato de Vincristina, este não foi um problema observado neste grupo. Os resultados dos hemogramas demonstraram melhoras a cada semana sem necessitar interrupção do tratamento, podendo ser feitas sessões de quimioterapia semanalmente.

Todas ganharam em média 1 a 1,5kg de peso corporal, o que é incomum. Geralmente sessão de quimioterapia conforme descrito pelo fabricante do Sulfato de Vincristina além de reduzir as células promove também queda de peso, assim como pôde ser observado nas cadelas do grupo 1 em que houve redução média de 1kg de peso corporal.

Após a finalização do experimento as cadelas do grupo 2 foram tratadas também com a associação de Babosa + Sulfato de Vincristina e em todas houve cura com menos de 4 sessões, o que não ocorre nos casos feitos somente com Sulfato de Vincristina.

5. CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos pode-se inferir que a substância possui sim algum potencial positivo no organismo, já que se pôde observar uma redução mesmo que em pequeno grau, além da estagnação do crescimento da massa tumoral e seu benefício em cessar o sangramento. E quando usado em associação à medicação de quimioterapia mostrou ter um ótimo sinergismo ao propiciar uma redução mais acelerada do tumor diminuindo o número de sessões de quimioterapia e permitindo seu uso sem interrupções. Vale ressaltar a necessidade de estudos posteriores para garantir a eficácia e segurança do uso da Aloe spp. e poder proporcionar melhores alternativas com menores riscos à saúde dos animais em tratamento.

Além de poder ter sido utilizada durante a gestação, a qual cadela tratada com a Babosa teve seus filhotes perfeitamente saudáveis sem nenhum comprometimento, outros benefícios a se destacar o uso de produtos naturais são a facilidade de obtenção, baixo custo, facilidade de manipulação, baixa toxicidade comparada com o fármaco antineoplásicos sintéticos, valorização da cultura de regiões onde se cultiva a Babosa, proximidade do proprietário com o conhecimento da terapêutica.

REFERÊNCIAS

BATISTA, J. S.; SOARES, H. S.; PEREIRA, R. H. M. A.; PETRI, A. A.; SOUZA, F. D. N.; NUNES, F. C. R. Tumor Venéreo Transmissível Canino com Localização Intra-ocular e Metástase no Baço. **Acta Veterinaria Brasílica**, São Paulo, v.1, n.1, p.45-48, 2007.

CARDONICK, E.; IACOBUCCI A. Use of Chemotherapy During Human Pregnancy. **The Lancet Oncology**. v. 5, p.283-291, 2004.

CEOLINB, T.; ZILMER, J. G. V.; ARRIEIRAA, I. C.; HECKC, R. M.; BARBIERID, R. L.. Utilização da Babosa no cotidiano de usuários portadores de câncer. **Revista Baiana de Saúde Pública** v.34, n.4, p. 773-782, 2010.

DISTASI, L. C. **Plantas Mediciniais: verdades e mentiras, o que os usuários e profissionais da saúde precisam saber..** São Paulo; UNESP 2007.

FREITAS. J. G.; Silva, A. R. Diagnóstico de Gestação em Cadelas. **Rev Bras Reprod Anim**, Belo Horizonte, v.32, n.1, p.58-66, jan./mar. 2008.

FREITAS, V.S.; RODRIGUES, R.A.F.; GASPI, F.O.G. Propriedades Farmacológicas da Aloe vera (L.) Burm. f. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.16, n.2, p.299-307, 2014.

JONES, Thomas Carlyle;HUNT, Ronald Duncam; KING, Norval William. **Patologia Veterinária**. 6.ed..São Paulo, 1424p. 2000.

LATIMER, K.S.; MAHAFFEY, E.A.; PRASSE, K.W.. **Clinical Pathology**. 4. ed.. Editora John Wiley Professio, 2003.

LIMA, E.R.; AIMEIDA, E.L.; FREITAS, A.A.; MENEZES, M.M; PEREIRA, M.F; FUKAHORI, FLP. Frequência, Aspectos Clínicos, Diagnóstico e Tratamento de Tumor Venéreo Transmissível (TVT) em cães atendidos no Hospital Veterinário da UFRPE. **Medicina Veterinária**, Recife, v.5, n.1, p.24-29, 2011.

LORENZI, H.; MATOS, F. I. A. Plantas Mediciniais no Brasil: nativas e exóticas. 2 ed. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos de Flora. P.576, 2008.

MONTEIRO, L.K. Diferenciação de Piometra e Metrite em Cadelas - Relato de caso. **PUBVET**, Londrina, v. 3, N. 21, Jun.3, 2009.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 4.ed.. Rio de Janeiro, 2010.

PALHARIN, L. H. D. C.; FIGUEIREDO, E. N.; CAMARGO, L. M. P.; ASCÊNCIO, F.; BOSQUÊ, G. G. Efeitos Fitoterápicos E Homeopáticos Da Babosa. **Revista Científica Eletônica De Agronomia**. Garça/SP. Ano VII. n. 14. Dezembro 2008.

RAMOS, A. D. P.; PIMENTEL, L. C. Ação da babosa no reparo tecidual e cicatrização. **Brazilian Journal of Health** v. 2, n. 1, p. 40-48 Janeiro/Abril 2011.

SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária**. São Paulo: Roca, 2010.

SILVA, M. C. V.; BARBOSA, R. R.; SANTOS , R. C.; CHAGAS, R. S. N.; COSTA, W. P. Avaliação Epidemiológica, Diagnóstica E Terapêutica Do Tumor Venéreo

Transmissível (Tvt) Na População Canina Atendida No Hospital Veterinário Da Ufersa. **Acta Veterinaria Brasília**, v.1, n.1, p.28-32, 2007.

SOUSA, E. F.; FIUZA, R. F.; OLIVEIRA, D. M.; LEITE, A. K. R. M. Diagnóstico de Tumor Venéreo Transmissível em Cadela Atendida no Hovet de Sobral, Ceará. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, São Paulo, Ano XI, n. 21, 2013.

ZAGO, R. **Câncer tem cura**. 10. ed.. Petrópolis: Vozes, 1998.

EFEITOS DO TRAMADOL INTRAVENOSO EM EQUINOS: AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS CLÍNICOS, COMPORTAMENTAIS E LIMIAR NOCICEPTIVO MECÂNICO

Acadêmica: Lorena Meira Silveira

Orientadora: Vanessa Guedes Pereira

RESUMO

Em equinos é recente e crescente o uso de opioides como o tramadol, que produz ação antinociceptiva através da ação sobre os receptores opioides e da inibição da recaptção de noradrenalina e serotonina e estímulo de liberação de serotonina. Porém, informações sobre os efeitos desse fármaco por via intravenosa nessa espécie ainda são escassas. No presente estudo, avaliou-se os efeitos do tramadol administrado por via intravenosa, nas doses de 1 e 2mg/kg, em cavalos livres de dor, por meio da avaliação da frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal, motilidade intestinal, pressão arterial (sistólica, diastólica e média), nível de sedação e ataxia, comportamento e o limiar nociceptivo mecânico através do algômetro de pressão. Foi observado aumento da frequência cardíaca no Grupo 2 (G2), diminuição da pressão arterial média no Grupo 1 (G1), aumento do escore de sedação em ambos os grupos com diminuição da motilidade intestinal no G2. O tramadol nas doses estudadas não promoveu alteração significativa no limiar nociceptivo mecânico quando verificado com algômetro de pressão. As alterações clínicas induzidas pela administração no tramadol nas doses acima descritas, foram leves e transitórias, sugerindo a indicação do tramadol para o tratamento da dor em cavalos.

PALAVRAS-CHAVE: Opióide; cavalos; analgesia; algômetro.

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas com a melhor compreensão dos mecanismos da dor e seu controle (MELO JÚNIOR *et al.*, 2012), houve aumento do interesse sobre a analgesia e sedação em pacientes veterinários.

Por muito tempo a analgesia em animais de grande porte foi tratada de forma superficial (VIÑUELA-FERNÁNDEZ *et al.*, 2011). Entretanto, com as concepções de bem-estar voltando-se aos animais de produção, várias pesquisas têm sido realizadas nos últimos anos visando determinar formas eficientes de avaliação da dor nesses animais, com o desenvolvimento de métodos adequados e de novos protocolos analgésicos (PRICHETT *et al.*, 2003).

Em equinos é recente e crescente o uso de opioides como o tramadol, que possui ação analgésica não restrita aos mecanismos opioides, e por isso classificado como um opioide atípico. Além da ativação de receptores opioides, o

tramadol também atua na inibição da recaptação de noradrenalina e serotonina (RAFFA *et al.*, 1992).

Embora o tramadol apresente características farmacológicas peculiares e ação em receptores que afetam a nocicepção, informações sobre seus efeitos quando administrado por via intravenosa em equinos ainda são escassas, demonstrando a importância de estudos que procurem esclarecer a segurança e eficácia sedativa/analgésica deste opioide.

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos clínicos, comportamentais e o limiar nociceptivo mecânico do tramadol nas doses de 1 e 2mg/kg, administrado por via intravenosa (IV), em equinos saudáveis.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A dor, quando não corretamente identificada e tratada, desencadeia importantes e nocivos distúrbios sistêmicos (HEYLLER *et al.*, 2007, FANTONI & MASTROCINQUE, 2010) e, em cavalos, é um sinal clínico valioso, sendo muitas vezes o primeiro e único sinal de um distúrbio iminente ou recorrente (PRICE *et al.*, 2002).

A analgesia em equinos é particularmente dificultada pelo custo elevado do tratamento e pela maior ocorrência de efeitos colaterais, que são comuns em outras espécies, mas que podem ser deletérias nestes animais, como a excitação do sistema nervoso central, hipomotilidade intestinal, sedação intensa e bloqueio motor com risco de decúbito (BENNET & STFFEY, 2002, TAYLOR *et al.*, 2002).

Os estímulos nociceptivos nas diferentes espécies, de maneira geral, são similares, porém há variação pela forma de manifestação comportamental reativa frente ao estímulo doloroso (BARNETT, 1997). Tratar a dor, além de ser questão ética e moral, é fundamental, já que ela é capaz promover diversas alterações e danos aos diferentes sistemas orgânicos do animal.

A nocicepção é uma função sensitiva que na maioria das vezes é interpretada como prejudicial. Todavia, tal sensação é fisiologicamente importante para que o organismo identifique os estímulos nocivos. Após a integração destes estímulos pelo sistema nervoso central, o organismo interpreta o fenômeno, que conceitualmente é denominado de dor (LEMONICA & PEREIRA, 1992). Em circunstâncias normais,

estímulos nocivos (mecânicos, químicos, térmicos, elétricos) ativam uma variedade de nociceptores polimodais de elevado limiar em todo o organismo (MUIR, 2010).

Atualmente, o controle da dor na medicina equina é rotineiramente realizado com fármacos anti-inflamatórios, que não são eficazes para o controle da dor moderada a intensa e podem causar potenciais efeitos adversos. Os opioides são considerados substâncias analgésicas mais potentes para equinos, porém, seu uso é limitado nesta espécie devido ao suposto risco de efeitos adversos pela via intravenosa. Entretanto, estudos mostram que a administração de tramadol por via epidural em cavalos apresenta bom efeito analgésico, sem alterações cardiorrespiratórias, vasculares, comportamentais e sobre a temperatura corporal (KAMERLING, 1998; NATALINI & ROBINSON, 2000; CARREGARO *et al.*, 2006; CRUZ *et al.*, 2011)

Fármacos opioides exercem seus efeitos, através da interação com seus receptores específicos mu (μ), delta (δ) e kappa (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 de íons cálcio e efluxo de íons potássio na fibra nervosa (LAMONT & MATHEWS, 2007). Com isso, os opioides 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, 2010).

O uso de opioides em equinos pode ser justificado quando os benefícios de suas características analgésicas e sedativas prevalecerem sobre as desvantagens dos efeitos colaterais (CLUTTON, 2010).

O cloridrato de tramadol é um analgésico de ação central, análogo sintético da codeína e morfina (SHIPTON, 2000). Seu mecanismo de ação consiste em produzir ação antinociceptiva através de duplo mecanismo: a ação sobre os receptores opioides e a inibição da recaptação de noradrenalina e serotonina e estímulo de liberação de serotonina. Sendo assim, estes dois mecanismos agem sinergicamente, produzindo a analgesia (RAFFA *et al.*, 1992).

O tramadol possui afinidade moderada pelos receptores opioides mu (μ), e uma fraca afinidade pelos receptores opioides delta (δ) e kappa (κ), cerca de 20 vezes

menor (RAFFA *et al.*, 1992).

Quanto aos aspectos farmacocinéticos, o tramadol é metabolizado no fígado rapidamente pelas enzimas do citocromo P450, que produz O-desmetiltramadol (metabólitos M1). Em humanos, este metabólito apresenta maior afinidade pelos receptores μ -opioides do que o tramadol, no entanto, em muitas espécies veterinárias este é um metabólito secundário. Por este motivo, os efeitos analgésicos do tramadol parecem ser maiores em humanos do que animais (KNYCH *et al.*, 2013).

O tramadol é utilizado com sucesso no tratamento da dor moderada à intensa em humanos (LEHMANN *et al.*, 1990) e cães (VETTORATO *et al.*, 2010), com mínimos efeitos colaterais, sendo então um fármaco promissor para o tratamento da dor em cavalos. Além disso, poucos são os relatos de sua ação analgésica e comportamental, por via intravenosa, em equinos livres de dor.

3. METODOLOGIA

O projeto foi desenvolvido no Hospital Escola Gardingo da Faculdade Vértice – UNIVÉRTIX e no Haras São João, localizado na região de Matipó.

3.1. Animais:

Foram utilizados cinco equinos hípidos, sendo quatro fêmeas e um macho, da raça Campolina, mestiços de Campolina e Piquira, pesando entre 300 e 432kg, com idade de 3 a 16 anos, provenientes do Hospital Escola Veterinário Gardingo e do Haras São João. Os animais foram pré-selecionados após constatação da ausência de alterações nos exames físico, clínico e laboratorial (hemograma completo), e todos foram utilizados em ambos os tratamentos. O estudo foi cruzado randomizado, com um mínimo de 7 dias entre os experimentos.

3.2. Preparação dos animais

Previamente ao procedimento, os animais foram submetidos a jejum alimentar de 8 horas. No dia do experimento os animais foram pesados e alocados em tronco de contenção para a realização de tricotomia e antissepsia do terço médio do pescoço do lado esquerdo, na região da veia jugular, para acesso venoso, e na região da base da cauda para aferição da pressão arterial não invasiva.

Os animais foram mantidos por 30 minutos no tronco de contenção para aclimação e menor interferência do ambiente sobre os parâmetros fisiológicos.

3.3. Protocolo experimental

Previamente ao início do tratamento, foi realizada a cateterização da veia jugular com cateter de calibre 14G e administração de solução de Ringer com Lactato na velocidade de 6 mL/kg/h para manutenção do acesso venoso.

Os cavalos foram distribuídos em dois tratamentos. No grupo 1 (G1) os animais receberam 1mg/Kg de cloridrato de tramadol intravenoso, e no grupo 2 (G2) os animais receberam 2mg/kg de cloridrato de tramadol intravenoso.

O cloridrato de tramadol 5% foi preparado em uma concentração final de 10 mg/ml diluído em solução de Ringer com Lactato sendo infundido em 10 minutos

Os avaliadores não tinham conhecimento do tratamento administrado nos animais.

3.4. Variáveis mensuradas

3.4.1-Frequência cardíaca: obtida em batimentos por minuto (bpm), mediante ausculta com auxílio de estetoscópio posicionado entre o 3º ao 5º espaço intercostal, na altura do coração.

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

3.4.3-Pressão Arterial Diastólica (PAD): obtida em mmHg, pelo método oscilométrico, sendo o manguito colocado imediatamente abaixo da base da cauda.

3.4.4-Pressão Arterial Média (PAM): obtida em mmHg, pelo método oscilométrico, sendo o manguito colocado imediatamente abaixo da base da cauda.

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

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

3.4.7-Comportamento e Sedação:

O comportamento e o grau de sedação dos animais foram avaliados por meio dos escores descritos na Tabela 1.

TABELA 1: Escores para avaliação comportamental e de sedação (adaptado de Olbrich & Mosing, 2003).

Escores	Definição dos escores
Comportamento	
1	Calmo e alerta
2	Inquieto (movimentando-se dentro da baia ou tronco)
3	Excitado (movimentando-se violentamente na baia ou tronco)
Sedação	
1	Sem alteração na posição da cabeça
2	Baixando a cabeça na altura do cotovelo
3	Baixando a cabeça na altura do carpo ou abaixo

3.4.8-Ataxia:

A ataxia foi avaliada de duas maneiras: o primeiro pela observação do cavalo, em estação (instabilidade postural - IP) e o segundo pela observação do animal caminhando em uma linha reta de aproximadamente 20 metros, em seguida, virando e caminhando de volta (ataxia em movimento = A). Em ambas as avaliações foram aplicados escores em uma escala de avaliação numérica (EAN) (TABELA 2).

TABELA 2: Escala de avaliação numérica para determinação da instabilidade postural e ataxia em movimento (adaptado de Ringer *et al.*, 2013).

Escore	Instabilidade Postural	Ataxia durante o movimento
0	Sem sinais de instabilidade	Sem sinais de instabilidade
1	Estável mas com movimentos leves	Sem ataxia em linha reta, ligeira ataxia em curva
2	Com movimentos claros	Ataxia caminhando em linha reta
3	Quase caindo	Ataxia intensa, risco de decúbito
4	Animal em decúbito	Animal em decúbito

3.4.9-Motilidade intestinal:

Para avaliação da motilidade intestinal, a região do flanco do animal foi dividida em quatro quadrantes (dorsal esquerdo, ventral esquerdo, dorsal direito e ventral direito) e, com o auxílio de um estetoscópio, foram auscultado os sons emitidos pelos

movimentos intestinais durante um minuto em cada quadrante e classificado conforme a Quadro 1. O escore de motilidade foi obtido pela soma dos escores dos quatro quadrantes.

QUADRO 1: Escores de movimentos intestinais.

0	Ausência de sons.
1	Sons leves, de baixa frequência, crepitação audível com frequência de um som por minuto.
2	Crepitação audível com frequência de mais de um som por minuto.
3	Sons longos, altos, frequência de um som por minuto em vários pontos dentro do quadrante
4	Sons longos, altos, burburinhos, frequência de mais de 1 som por minuto em vários pontos dentro do quadrante

3.4.10- Limiar nociceptivo mecânico

A analgesia foi avaliada através do limiar nociceptivo mecânico (LNM), utilizando algômetro de pressão FPK 60 (Wagner Instruments, Greenwich, Connecticut, USA) (Fig.1). O estímulo nociceptivo mecânico foi aplicado bilateralmente nos membros torácicos e pélvicos, sobre a banda coronária dorsal do casco até a resposta positiva do animal, considerada após movimento de cabeça para o local do estímulo, movimento do tronco, cauda ou retirada do membro.



FIGURA 1: Algômetro de pressão utilizado para avaliação do limiar nociceptivo mecânico.

3.5-Tempo para mensuração das variáveis

Os tempos estabelecidos para mensuração das variáveis foram:

- *T1 (basal)*, anteriormente a administração do tramadol;
- *T2 (sedação)*, imediatamente após a administração do tramadol;
- *T3 (5 min)*, 5 minutos após a administração do tramadol;
- *T4 (15min)*, 15 minutos após a administração do tramadol;
- *T5 (30min)*, 30 minutos após a administração do tramadol;
- *T6 (45min)*, 45 minutos após a administração do tramadol.
- *T7 (60min)*, 60 minutos após a administração do tramadol

3.6. Análise estatística

Para verificar a normalidade dos dados, foi realizado o teste Shapiro-Wilk. Os dados que atenderam à normalidade foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e apresentando diferença estatística foi realizado Teste t de Student. Para os dados que não atenderam a normalidade, bem como para a análise da motilidade, comportamento, sedação e ataxia, foi realizado o teste não paramétrico Mann-Whitney. Quando os dados não paramétricos apresentaram diferença estatística, foi realizado o Teste de Dunnett. 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, respiratórios, temperatura retal, pressão arterial (sistólica, diastólica e média) e limiar nociceptivo mecânico estão apresentados na Tabela 1.

TABELA 1: Média e desvio padrão da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura retal (TR), pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM), limiar nociceptico mecânico (LNM) avaliado através de estímulos no membro torácico direito (MTD), membro torácico esquerdo (MTE), membro pélvico direito (MPD), membro pélvico esquerdo (MPE) de equinos submetidos a administração de tramadol intravenoso nas doses de 1 e 2mg/kg.

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
FC							
G1	41±6 ^{Aa}	40±7 ^{Aa}	41±8 ^{Aa}	40±3 ^{Ba}	40±7 ^{Aa}	39±5 ^{Aa}	36±6 ^{Aa}
G2	41±5 ^{Aa}	45±4 ^{Aa}	46±6 ^{Aa}	46±3 ^{Aa}	41±3 ^{Aa}	41±4 ^{Aa}	40±4 ^{Aa}
FR							
G1	24±8 ^{Aa}	34±8 ^{Aa}	28±8 ^{Aa}	31±16 ^{Aa}	33±15 ^{Aa}	28±4 ^{Aa}	22±7 ^{Aa}
G2	22±9 ^{Aa}	35±23 ^{Aa}	36±23 ^{Aa}	31±17 ^{Aa}	28±14 ^{Aa}	30±12 ^{Aa}	28±10 ^{Aa}
TR							
G1	37,5±0,3 ^{Aa}	37,7±0,4 ^{Aa}	37,8±0,3 ^{Aa}	37,8±0,4 ^{Aa}	37,8±0,5 ^{Aa}	37,8±0,5 ^{Aa}	37,8±0,2 ^{Aa}
G2	37,8±0,4 ^{Aa}	37,7±0,5 ^{Aa}	37,7±0,7 ^{Aa}	37,7±0,4 ^{Aa}	37,7±0,5 ^{Aa}	37,9±0,6 ^{Aa}	37,6±0,7 ^{Aa}
PAS							
G1	131±4 ^{Aa}	130±15 ^{Aa}	121±17 ^{Aa}	124±7 ^{Aa}	129±15 ^{Aa}	134±14 ^{Aa}	135±16 ^{Aa}
G2	140±16 ^{Aa}	150±2 ^{Aa}	138±18 ^{Aa}	117±8 ^{Aa}	140±19 ^{Aa}	143±20 ^{Aa}	145±15 ^{Aa}
PAD							
G1	67±2 ^{Aa}	60±13 ^{Aa}	71±9 ^{Aa}	61±6 ^{Aa}	64±10 ^{Aa}	62±14 ^{Aa}	63±12 ^{Aa}
G2	77±18 ^{Aa}	72±210 ^{Aa}	75±2 ^{Aa}	65±6 ^{Aa}	82±25 ^{Aa}	53±33 ^{Aa}	76±16 ^{Aa}
PAM							
G1	94±3 ^{Aa}	86±13 ^{Aa}	92±8 ^{Aa}	89±5 ^{Ba}	73±29 ^{Aa}	93±13 ^{Aa}	92±10 ^{Aa}
G2	103±13 ^{Aa}	105±3 ^{Aa}	102±12 ^{Aa}	99±0 ^{Aa}	107±18 ^{Aa}	117±15 ^{Aa}	112±18 ^{Aa}
MTD							
G1	12±5 ^{Aa}	14±3 ^{Aa}	15±3 ^{Aa}	15±2 ^{Aa}	12±2 ^{Aa}	15±3 ^{Aa}	14±4 ^{Aa}
G2	14±4 ^{Aa}	12±4 ^{Aa}	14±7 ^{Aa}	15±6 ^{Aa}	12±3 ^{Aa}	12±4 ^{Aa}	12±5 ^{Aa}
MTE							
G1	13±4 ^{Aa}	15±4 ^{Aa}	14±5 ^{Aa}	16±4 ^{Aa}	14±3 ^{Aa}	14±6 ^{Aa}	13±4 ^{Aa}
G2	11±4 ^{Aa}	13±3 ^{Aa}	12±4 ^{Aa}	14±4 ^{Aa}	14±3 ^{Aa}	14±4 ^{Aa}	12±5 ^{Aa}
MPD							
G1	16±3 ^{Aa}	16±6 ^{Aa}	15±7 ^{Aa}	13±3 ^{Aa}	14±2 ^{Aa}	14±5 ^{Aa}	15±3 ^{Aa}
G2	9±3 ^{Ba}	11±2 ^{Aa}	10±3 ^{Aa}	10±5 ^{Aa}	11±5 ^{Aa}	10±3 ^{Aa}	10±5 ^{Aa}
MPE							
G1	12±5 ^{Aa}	15±7 ^{Aa}	16±4 ^{Aa}	15±7 ^{Aa}	15±5 ^{Aa}	12±3 ^{Aa}	15±1 ^{Aa}
G2	11±3 ^{Aa}	12±3 ^{Aa}	11±2 ^{Aa}	12±3 ^{Aa}	12±3 ^{Aa}	10±2 ^{Aa}	12±5 ^{Aa}

Letras iguais maiúsculas na coluna, os tratamentos não diferem entre si e letras iguais minúsculas nas linhas ($p < 0,05$).

Houve aumento da frequência cardíaca no grupo 2 em relação ao grupo 1, 30 minutos após a administração do tramadol, apresentando média de 46 bpm, valor acima do preconizado por HASKINS, (2014) para a espécie. Este resultado difere do relatado por FRANCO *et al.*, (2014) que não observaram alteração da frequência

cardíaca após o uso de 1, 2 e 3 mg/kg de tramadol intravenoso em cavalos; porém, a FC aferida por estes autores foi realizada por meio de eletrocardiograma, o que difere deste trabalho.

No entanto aumento da frequência cardíaca também foi relatado por GIORGI *et al.* (2006) que observaram taquicardia em 100% dos cavalos que receberam 5mg/kg IV, dose esta, mais elevada do que a utilizada neste estudo.

A PAS, PAD e PAM diminuíram seus valores aos longo do tempo, entretanto, apenas a PAM apresentou diferença estatística, no Grupo 1 em T4, mantendo-se dentro dos valores normais para a espécie, que segundo HASKINS *et al.*, (2014) é de 90 a 130 para PAS, 60 a 90 para PAD e 70 a 110mmHg para PAM. Este resultado difere dos achados de FRANCO *et al.*, (2014), onde a pressão arterial aumentou 5 minutos após a administração de 1, 2 e 3mg/kg de tramadol IV.

Segundo LINTZ *et al.*, (1998) o tramadol é praticamente desprovido de efeito depressor respiratório, devido à fraca interação desse fármaco ao receptor opioide μ . No presente trabalho não foram encontradas alterações respiratórias, assim como outros autores também demonstraram estabilidade na função respiratória, mediante o uso do tramadol em cães (McMILLAN *et al.*, 2008; VETTORATO *et al.*, 2006), e humanos (SCOTT & PERRY, 2000). Em cavalos FRANCO *et al.*, (2014) não observaram aumento da frequência respiratória com o uso de 1 e 2 mg/kg de tramadol IV, embora, na dose de 3 mg/kg tenha sido observado aumento deste parâmetro, que retornou à normalidade na primeira hora de avaliação. Aumento da frequência respiratória também foi relatado por DHANJAL *et al.*, (2009) após o uso de tramadol IV. Estes autores associaram este resultado à excitação do sistema nervoso central (SNC) promovida pelo tramadol.

Segundo NATALINI & ROBINSON (2003) o tramadol não promove alterações significativas sobre a frequência respiratória e cardíaca em cavalos, administrados por via epidural.

Não houve diferença estatística na comparação da TR entre os grupos, nem entre os momentos dentro de cada grupo. Porém, DHANJAL *et al.*, (2009) relataram redução da temperatura retal em comparação ao grupo placebo 40 minutos após a administração do tramadol.

Os animais de ambos os grupos não apresentaram alterações significativas de comportamento, ataxia postural e dinâmica, corroborando os achados de

DHANJAL *et al.*, (2009), que descreveram que a administração tramadol intravenosa em cavalos não produz os efeitos clássicos de excitação promovidos pelos opioides, como o ato de cavar e andar em círculos. FRANCO *et al.*, (2014) relataram a ocorrência de ataxia quando utilizado 2 e 3 mg/kg de tramadol intravenoso em cavalos, entretanto, apenas em 1 animal de cada grupo. Outros autores relataram espasmos musculares após administração em *bólus* do tramadol IV (GIORGI *et al.*, 2010). Acredita-se que a diminuição dos efeitos comportamentais seja devido ao método de administração utilizado, a diluição do fármaco e o aumento do tempo de infusão, conforme proposto por SHILO *et al* (2007).

Com relação à sedação, não foi observada diferença estatística entre os grupos experimentais. No entanto, o G1 apresentou aumento do escore de sedação de T2 a T5, diferindo-se estatisticamente de T1, T6 e T7. O G2 também apresentou aumento do escore de sedação em T4 diferindo-se significativamente de T1, T2 e T7 (FIGURA 2). Mesmo utilizando o mesmo método de determinação do grau de sedação em cavalos (alteração na altura da cabeça), este resultado difere do relatado por FRANCO *et al.*, (2014) e DHANJAL *et al.*, (2009), que não observaram evidências de sedação nos animais.

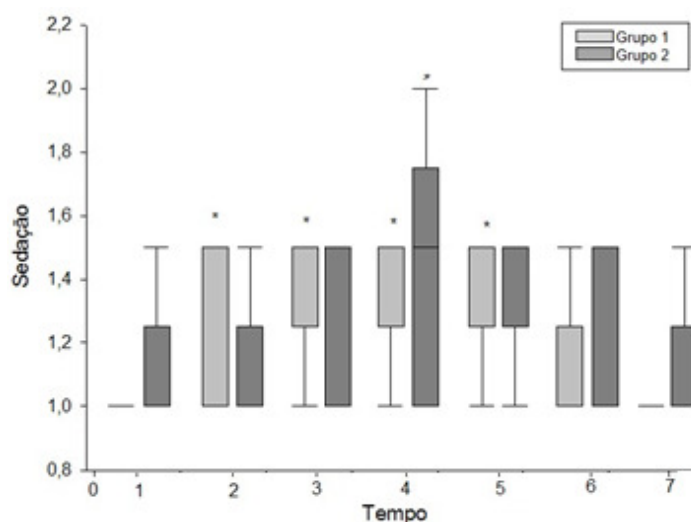


FIGURA 2. Mediana (1º e 3º quartis) dos escores de sedação ao longo do tempo de equinos submetidos ao tratamento com 1mg/kg (Grupo 1) e 2mg/kg (Grupo 2) de cloridrato de tramadol 5%. * Diferença significativa dentro de cada grupo em relação ao basal (Dunnett, $p < 0,05$).

Avaliando a motilidade intestinal, conforme a Figura 3, observa-se que no G2 houve redução significativa deste parâmetro à partir de T1 que persiste até T7, diferindo-se estatisticamente de T0 em T3 e T7, o que corrobora com o descrito por FRANCO *et al.*, (2014) que observaram o mesmo resultado após a administração do tramadol na mesma dose e via em cavalos. A redução transitória nos escores deste

parâmetro foi semelhante também aos descritos por DHANJAL *et al.*, (2009), após a administração de 1,6 mg kg de tramadol. Este resultado é justificado pelo efeito promovido pelos agonistas μ , que diminui a motilidade do intestino grosso (THURMON *et al.*, 1996).

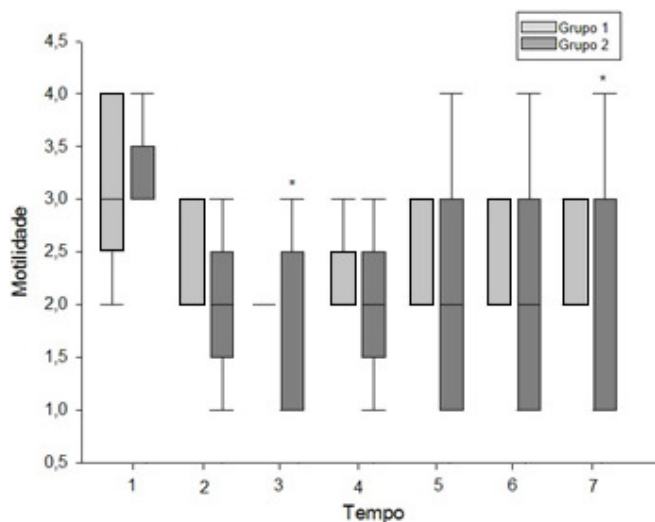


FIGURA 3: Mediana (1º e 3º quartil) dos escores de motilidade intestinal ao longo de tempo de equinos submetidos ao tratamento com 1mg/kg (Grupo 1), e 2mg/kg (Grupo 2) de cloridrato de tramadol 5%. * Diferença significativa dentro de cada grupo em relação ao basal (Dunnett, $p < 0,05$).

Foi observada diferença no LMN apenas no MPD e no tempo basal, ou seja, antes da administração do tramadol. A estimulação mecânica por meio do algômetro de pressão é um método quantitativo que fornece informações sobre a nocicepção (TAYLOR *et al.*, 2002; HAUSSLER & ERB, 2006). Assim como DHANJAL *et al.*, (2009) e FRANCO *et al.*, (2014), avaliaram a estimulação mecânica através do método de Von Frey, e não observaram diferença de resposta em diferentes doses de tramadol. Este resultado pode ser explicado pelo fato de que a estimulação mecânica quando utilizada em tecidos saudáveis, atua de preferência em fibras do tipo A, e as doses clínicas de opioides agonistas μ diminuem essencialmente a atividade de fibras de tipo C (JURNA & HEINZ, 1979).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As alterações clínicas induzidas pela administração intravenosa de tramadol nas doses de 1 e 2 mg kg são leves e transitórias, mantendo todos os parâmetros dentro dos limites fisiológicos para a espécie.

A redução transitória do escore da motilidade intestinal, vista como mínimo efeito colateral, sugere a indicação do tramadol para tratamento da dor e maiores estudos sobre este fármaco em cavalos

O tramadol intravenoso nas doses de 1 e 2 mg kg não promoveu alteração significativa no limiar nociceptivo mecânico quando utilizado o algômetro de pressão, não apresentando efeito antinociceptivo passível de ser avaliado pelo método empregado no presente estudo.

REFERÊNCIAS

BARNETT, J. L. Measuring pain in animals. **Australian Veterinary Journal**, v. 75, p. 878–881, 1997.

CARREGARO, A. B.; TEIXEIRA-NETO, F.J.; BEIER, S.L.; LUNA, S.P.L. Cardiopulmonary effects of buprenorphine in horses. **American Journal of Veterinary Medicine**, v.67, n.10, p.1675-1680, 2006.

CLUTTON, R. E. Opioid analgesia in horses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 26, n.3, p. 493-514, 2010.

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

DHANJAL, J. K.; WILSON, D. V.; ROBINSON, E.; TOBIN, T. T.; DIROKULU, L. Intravenous tramadol: effects, nociceptive properties, and pharmacokinetics in horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 36, p. 581-590, 2009.

FANTONI, D. T.; MASTROCINQUE, S. Fisiopatologia e controle da dor aguda. In: FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. G. **Anestesia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2010. p. 521-544.

FRANCO, L. G.; MORENO, J. C. D.; NETO, A. R. T.; SOUZA, M. C.; DA SILVA, L. A. F. Tramadol effects on clinical variables and the mechanical nociceptive threshold in horses. **Ciencia Rural**, v. 44, n.3, p. 517-523, 2014.

GIORGI, M.; SACCOMANNI, G.; ANDREONI, V. Pharmacokinetics of Tramadol after epidural Administration in Horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.30, n.1, p.44-46, 2010.

GIORGI, M.; SACCOMANI, G.; DANIELLO, M. R.; MANERA, C.; SOLDANI, G.; FERRARINI, P. L. & GIUSANI, M. In vitro metabolism of tramadol in horses: preliminary data. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.29, n.3, p.124, 2006.

HARKINS, J. D.; QUEIROZ-NETO, A.; MUNDY, G. D.; WEST, D.; TOBIN, T. Development and characterization of an equine behaviour chamber and the effects of amitraz and detomidine on spontaneous locomotor activity. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. v.20, p.396-401, 2014.

HAUSSLER, K.K., ERB, N. Mechanical nociceptive thresholds in the axial skeleton of horses. **Equine Veterinary Journal**, v 38, p. 70–75, 2006.

HELLEYR, P. W.; ROBERTSON, S. A.; FAILS, A. D. Pain and its Management In: **Lumb & Jones Veterinary Anesthesia and Analgesia**. 4^a ed. Iowa Blackwell, p 31-57, 2007.

JURNA, I.; HEINZ, G. Differential effects of morphine and opioid analgesics on a and C fibre-evoked activity in ascending axons of the rat spinal cord. **Brain Research, Amsterdam**, v. 171, p. 573–576, 1979.

KAMERLING, S. Dose related effects of the kappa agonist U-50, 488H on behavior, nociception and autonomic response in the horse. **Equine Veterinary Journal**, Oxford, v.20, n.2, p.114-118, 1998.

KNYCH, H. K.; CORADO, C. R.; KEMIE, D. S.; STEFFEY, E. P. Pharmacokinetics and selected pharmacodynamic effects of tramadol following intravenous administration to the horse. **Equine Veterinary Journal**, v.45, p. 490-496, 2013.

LAMONT, L. A.; MATHEWS, K. A. Opioids, Nonsteroidal Anti-inflammatories, and Analgesic Adjuvants. **Lumb & Jones Veterinary Anesthesia and Analgesia**. 4. ed 2007. p 241-272, 2007.

LEHMANN, K.; KRATZENBERG, U.; SCHROEDER-BARK, B.; HERRICH-HAERMAYER, G. Postoperative patient-controlled analgesia with tramadol: analgesic efficacy and minimum effective concentrations. **The Clinical Journal of Pain**, v.6, p. 212-220, 1990.

LEMONICA, L.; PEREIRA, S. M. Dor: bases anátomo-fisiológicas e do tratamento. **Temas de Anestesiologia**. Botucatu: Unesp, p.163-170, 1992.

LINTZ, W. *et al.*, Pharmacokinetics of tramadol and bioavailability of enteral tramadol formulations. 2nd communication: drops with ethanol. **Arzneimittelforschung**, v.48, p.436-445, 1998.

McMILLAN, C. J.; LIVINGSTON, A.; CLARK, C. R.; DOWLING, P. M.; TAYLOR, S.M.; DUKE, T.; TERLINDEN, R. Pharmacokinetics of intravenous tramadol in dogs. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.72, p.325-331, 2008.

MELO JÚNIOR, J. *et al.*, Controle da dor em animais de grande porte: perspectivas para o uso do tramadol. **Universidade de Franca, Franca**, Brasil, 2012.

MUIR, W.W. Pain: mechanisms and management in horses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**. v. 26, p. 467-480, 2010.

NATALINI, C. C.; ROBINSON, E. P. Effects of epidural opioid analgesics on heart rate, arterial blood pressure, respiratory rate, body temperature and behavior in Horses. **Veterinary Therapeutics, Yardley**, v. 4, n. 4, p. 364-375, 2003.

NATALINI, C.C; ROBINSON, E.P. Comparative evaluation of the analgesic effects of epidural morphine, alfentanil, butorphanol, tramadol, and U50488H in horses. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.61, p.1579-1586, 2000.

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

PRICE, J.; MARQUES, J. M. S.; WELSH, E. M.; WARAN, N. K. Attitudes towards pain in horses – a pilot epidemiological survey. **Veterinary Record**, v. 151, p 570-575, 2002.

PRITCHETT, L. C.; ULIBARI, C.; ROBERTS, M. C.; SCHNEIDER, R. K.; SELTON, D. C. Identification of potential physiological and behavioral indicators of postoperative pain in horses after exploratory celiotomy for colic. **Applied Animal Behaviour Science**, v.80, n.1, p.31-43, 2003.

RAFFA, R. B.; FRIDERICHS, E.; REIMANN, W.; SHANK, R. P.; CODD, E. E. & VAUGHT, J. L. Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an “atypical” opioid analgesic. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 260, p. 275-85, 1992.

RINGER, S. K.; PORTIER, K.; TORGERSON, P. R.; CASTAGNO, R.; BETTSCHART-WOLFENSBERGER, R. The effects of a loading dose followed by constant rate infusion of xylazine compared with romifidine on sedation, ataxia and response to stimuli in horse. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v.40, p. 157-165, 2013.

SCOTT, J. J. & PERRY, C. M. Tramadol: a review of its use in perioperative pain. **Drugs**, July, v. 60, n.1, p. 139-176, 2000.

SHILO, Y.; BRITZI, M.; EYTAN, B.; LIFSCHITZ, T.; SOBACK, S. & STEINMAN, A. Pharmacokinetics of tramadol in horses after intravenous, intramuscular and oral administration. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 31, p. 60 – 65, 2007.

SHIPTON, E. A. Tramadol – Present and Future. **Anaesthesia and Intensive Care**, v.28(4), p. 363 – 374, 2000.

TAYLOR, P. M.; PASCOE, P. J.; MAMA, K. R. Diagnosing and treating pain in the horse: Where are we today. *Veterinary Clinics of North America*. **Equine Practice, Philadelphia**, v. 18, n. 1, p. 1–19, 2002.

THURMON, J. C.; TRANQUILLI, W.; BENSON, G. J. Preanesthetics and anesthetic adjuncts. In.: THURMON, J. C.; TRANQUILLI, W.; BENSON, G. J. **Lumb & Jones' veterinary anesthesia**, p. 183-209. Philadelphia: Lea & Febiger, 1996.

VETTORATO, E.; ZONCA, A.; ISOLA, M.; VILLA, R.; GALLO, M.; RAVASIO, G.; BECCAGLIA, M.; MONTEISSA, C.; CAGNARDI, P. Pharmacokinetics and efficacy of intravenous and extradural tramadol in dogs. **Veterinary Journal**, v.183, p.310-315, 2010.

VETORATTO, E. P.; ISOLA, M.; ZONCA, A.; VILLAR, R.; MONTESISSA, C. Bioavailability of tramadol after epidural administration to dogs. **Journal Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.29, p.291-292, 2006.

VIÑUELA-FERNÁNDEZ, I.; JONES, E.; CHASE-TOPPING, M.E.; PRICE, J.; Comparison of subjective scoring systems used to evaluate equine laminitis. **The Veterinary Journal**, v.188, p.171-177, 2011.

WAGNER, A. E. Effects of stress on pain in horses and incorporating pain scales for equine practice. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 26, n.3, p.481-492, 2010.

WALLER, S. B.; TELES, A. J.; GOMES, A. R.; CLEFF, M. B.; MELLO, J. R. B. Efeitos colaterais de anestésicos em neonatos de cães e gatos nascidos de cesariana. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, n.1, p.1-9, 2014.

EJACULAÇÃO RETRÓGRADA EM CÃO:RELATO DE CASO

Acadêmica: Nathally Nayara de Freitas

Orientadora: Vívian Rachel de Araújo Mendes

RESUMO

O trabalho objetivou descrever um relato de uma ejaculação RETRÓGRADA, em um cão macho, de 21 meses de idade, atendido no Hospital Veterinário Escola da Faculdade Univértix com histórico de problema reprodutivo. O cão havia realizado a cobertura de uma fêmea por mais de uma vez, no entanto, a cadela não apresentou prenhez após as coberturas. A coleta do sêmen foi realizada por meio de estimulação manual do pênis. O processo de ereção ocorreu normalmente, no entanto foi observado um pequeno volume de sêmen ejaculado. A partir desta observação, foi realizada a sondagem uretral para obtenção da urina. Durante essa análise foi identificada a presença de espermatozoides indicando que durante a ejaculação houve um fluxo retrógrado do sêmen em direção a bexiga. Como exame complementar ao diagnóstico foi feita a ultrassonografia desde glândula do pênis até a porção cranial da bexiga, com intuito de verificar a presença ou não de obstrução no trajeto do sêmen durante a ejaculação. Desta forma, não foi identificada nenhuma alteração que pudesse impedir o processo ejaculatório sendo que o animal apresentou ejaculação RETRÓGRADA parcial, de rara ocorrência, de origem adquirida devido ao não fechamento completo do esfíncter da bexiga.

PALAVRAS-CHAVE: Fertilidade; macho; reprodutor.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a reprodução de cães tem se tornado alvo de muitos estudos. Seja pelo valor sentimental, ou pelo valor zootécnico, muitos proprietários tem manifestado interesse em avaliar o trato reprodutivo de seus animais (GITTLEMAN *et al.*, 2001).

Existe uma grande importância na avaliação de machos reprodutores, uma vez que podem ser diagnosticadas patologias relacionadas à fertilidade, podendo dessa forma, comprometer o desempenho reprodutivo. Diversas alterações no trato urogenital masculino de cães são descritas, dentre elas a ejaculação retrógrada (ER), que apesar de pouco relatada na literatura, possui grande impacto sobre a fertilidade do macho. A ER trata-se de um desarranjo no mecanismo normal de ejaculação, onde a propulsão do fluido seminal sofre um refluxo parcial ou total em direção à bexiga. O cão que apresenta ER torna-se subfértil ou infértil, dependendo da gravidade e evolução da patologia (BEAUFAYS *et al.*, 2007).

A ER pode ter origem congênita ou adquirida. Pode ser decorrente de anormalidade anatômica, traumática, neurogênica ou por fármacos podendo resultar em um quadro anormal onde é verificado extravio de sêmen da uretra posterior a bexiga (VERNON, 1988; YAVETZ, 1994).

O presente trabalho tem com objetivo relatar a ocorrência de ejaculação retrógrada em um cão adulto hígado da raça Doberman, atendido no hospital escola univértix.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. FISIOLOGIA DO PROCESSO EJACULATÓRIO

Os eventos que compõem o processo ejaculatório completo incluem a emissão e a ejaculação propriamente dita do sêmen. A emissão do sêmen consiste na liberação dos espermatozoides estimulada pela contração da musculatura lisa dos epidídimos, ductos deferentes e uretra associada à contração sincrônica das glândulas sexuais acessórias que secretam os componentes do plasma seminal mediado pelo sistema simpático.

A ejaculação é o processo de expulsão vigorosa do sêmen via uretras. Neste processo, o sistema parassimpático atua induzindo às contrações rítmicas dos músculos bulbo esponjoso, isquiocavernoso e uretral (BRADLEY G. KLEIN, 2014). Esse mecanismo consiste da passagem dos espermatozoides, que são armazenados na cauda do epidídimo, ao longo do ducto deferente, uretra pélvica e peniana, e expulsão do mesmo pelo orifício uretral externo (HAFEZ, 2004).

O processo ejaculatório é desencadeado por estimulação dos nervos sensitivos localizados na glândula do pênis ou pela manipulação das glândulas acessórias. Os estímulos sensoriais genitais e os estímulos cerebrais são controlados pela porção toracolombar da medula espinhal que irá favorecer o fechamento da região do colo da bexiga e a emissão seminal via (nervo hipogástrico) (SONKSEN e OHL, 2002).

O esfíncter interno localizado na base da bexiga tem como função controlar a passagem do líquido para o exterior. Este comando controla a passagem da urina e do sêmen, uma vez que compartilham a uretra como via de eliminação (CBRA, 2013).

A uretra se estende desde a bexiga até a extremidade do pênis, tendo como função de carrear o líquido urinário e o sêmen para o exterior do corpo. Ela é composta por duas partes, uretra prostática e a uretra peniana que é porção que atravessa o pênis (CBRA, 2013).

A ereção peniana acontece devido ao relaxamento das fibras musculares lisas do tecido erétil e pela dilatação provocada pelo aumento do fluxo sanguíneo no pênis. O sistema nervoso autônomo é responsável por controlar a ocorrência de funcionamento entre as fibras simpáticas e as fibras parassimpáticas (GIULIANO e RAMPIN, 2000).

O desenvolvimento da ereção é dividido em fase latente ou de preenchimento, onde há uma evolução da inervação parassimpática e uma regressão da inervação simpática sendo que na última fase à presença de corpos cavernosos e esponjosos no pênis sendo considerada a fase rígida (NEVES *et al.*, 2004). Para afirmação da ER deve ocorrer a fase de ereção completa, a qual pode se notar mudanças hemodinâmicas mais rigorosas (VERNON, 1988; YAVETZ, 1994).

2.2. EJACULAÇÃO RETRÓGRADA

A ejaculação RETRÓGRADA (ER) é uma desordem no mecanismo ejaculatório, onde o fluido seminal caminha parcialmente ou totalmente no sentido à bexiga (COLLINS, 1982; YAVETZ, 1994). A ER é uma patologia comumente relatada em humanos (HERSHLAG, 1991; COLLINS, 1982), no entanto, há poucos os relatados em outras espécies inclusive em cão (DOOLEY, 1990; ROOT, 1994).

A ER pode ter origem congênita ou adquirida. Pode ser decorrente de anormalidade anatômica, traumática, neurogênica ou por fármacos podendo resultar em um quadro anormal onde é verificado extravio de sêmen da uretra posterior à bexiga (VERNON, 1988; YAVETZ, 1994). Há também uma variedade de afecções e procedimentos cirúrgicos que podem levar ao desenvolvimento desta patologia (ARAFÁ *et al.*, 2007).

Na coleta de sêmen a manipulação inadequada do pênis do cão durante a colheita pode aumentar a chance de ejaculação retrógrada em 60% (OETTLÉ, 1993; CRAIGIEBURN).

Pacientes com ER apresentam-se duas queixas: a infertilidade, segunda são pacientes idosos que passaram por procedimentos cirúrgicos envolvendo órgãos genitais masculinos. Há situações cirúrgicas como fechamento do colo da bexiga, ressecção transuretral da próstata, incisão transuretral da próstata, hiperplasia prostática benigna (HEDLUND, 1985) e a presença de diabetes *mellitus*, lesões na medula espinhal, fibrose cística, esclerose múltipla e mielodisplasia que são fatores que também predis põem esta doença (KELLY, 1989).

Em humanos a ER é diagnosticada em 18% em pacientes que apresentam azoospermia, e ainda uma prevalência de 15% em pacientes com agenesia congênita dos vasos deferentes (SANDLER, 1979). Em cães o diagnóstico pode ser concluído diante a identificação de espermatozoides na bexiga urinaria após o processo de ejaculação (DOOLEY, 1990).

2.3. EXAME ANDROLÓGICO DO CÃO

2.3.1. Anamnese

É de grande importância realizar uma anamnese detalhada no cão, para que o médico veterinário possa observar se há presença de alguma alteração e conhecer o histórico geral e reprodutivo do animal (ASA, 1996). Portanto, devem ser analisados todos os órgãos antes de aprofundar no trato reprodutivo, sendo que pode haver doenças secundárias como infecções ou neoplasias que irão interferir diretamente ou de forma indireta nos padrões normais de secreção hormonal e espermatogênese (JBCA – Jornal Brasileiro de Ciência Animal 2008).

2.3.2. Exame físico do trato reprodutivo

O exame físico do cão é de grande valor, pois ele vai proporcionar diagnóstico de problemas crônicos e presença de doenças congênitas. O aparelho urogenital masculino é avaliado como um todo, desde o escroto, testículos, epidídimo, pênis, prepúcio e glândula prostática (FELDMAN e NELSON, 1996; CUNHA, 2005).

2.3.2.1 Escroto

O escroto deve estar totalmente coberto por pêlos apresentando consistência uniforme, fina e sensível ao toque. Os testículos devem se apresentar móveis no escroto e o animal sem qualquer tipo de incômodo ao toque. Na observação do escroto pode ser detectado quaisquer sinais de inflamação, trauma, alterações de volume e cicatrizes (CUNHA, 2005).

2.3.2.2. Epidídimo e cordão espermático

O epidídimo é prendido dorsalmente a superfície do testículo, e possui três porções: cabeça, corpo e cauda. O cordão espermático inclui o ducto deferente, artéria deferente, veias do plexo pampiniforme, vasos linfáticos, nervos e músculo cremaster. As estruturas devem ser palpadas para analisar suas áreas de espessamento e o volume (CUNHA, 2005).

2.3.2.3. Pênis e prepúcio

Geralmente o prepúcio apresenta-se recobrando o pênis, contudo ao exame físico, o pênis deve apresentar uma naturalidade ao sair do prepúcio e ser exposto. A mucosa peniana em seu estado normal deve se encontrar nacor rósea, fina e indolor ao toque. Sua avaliação deve verificar seu tamanho, conformação e a presença de lesões (CUNHA, 2005).

2.3.2.4. Glândula prostática

A glândula prostática é dividida em dois lobos e está localizada acima do pênis, podendo ter alteração na posição se houver uma distensão na bexiga. A glândula está próxima à região do colo da bexiga, a porção da uretra e a porção terminal do ducto deferente. Através do toque retal é possível palpar cranialmente a glândula. Se houver anormalidade no tamanho, assimetria entre os lobos, pode ser indício de patologias prostáticas (CUNHA, 2005).

2.3.3. AVALIAÇÃO DO SÊMEN

A avaliação do sêmen é inserida juntamente com o exame andrológico para que seja encontrados possíveis achados de problemas de infertilidade ou subfertilidade (JBCA – Jornal Brasileiro de Ciência Animal 2008), além de ser um

exame de rotina para melhores resultados referente ao trato reprodutivo (SILVA *et al.*, 2003).

O cão ejacula em três frações, sendo que somente a segunda fração é rica em espermatozoides. A primeira fração ou fração pré-espermática tem como função a limpeza no canal uretral e estabilização do pH para a passagem da segunda fração, de origem prostática. A terceira fração ou pós-espermática apresenta um aspecto aquoso, origina-se da próstata tendo como função fornecer um meio diluidor natural, proporcionando o transporte das células espermáticas pelo trato reprodutivo da fêmea (SILVA *et al.*, 2002).

Na avaliação macroscópica do sêmen é observado o volume, coloração e aspecto (SILVA *et al.*, 2002). O volume do ejaculado pode variar com o tamanho, raça, clima e frequência das coletas bexiga (HOWARD, 1999). A cor do ejaculado é branco-amarelado e o aspecto varia entre translúcido, opalescente, leitoso e cremoso (CUNHA, 2005).

Na avaliação microscópica do sêmen são observados a motilidade, vigor, concentração espermática e morfologia espermática (SILVA *et al.*, 2002; JOHNSTON *et al.*, 2001).

2.3.4. TRATAMENTO

Na medicina humana, existem três tratamentos para ejaculação retrógrada: cirurgia e clínica. A correção cirúrgica tem o objetivo de reconstruir o esfíncter da bexiga, onde se obteve resultados satisfatórios em alguns pacientes (OCHSENKU *et al.*, 1999). Já utilização de esperma recuperado a partir da bexiga teve relatos positivos, porém nenhum dessas modalidades foi testado em cães (SILVA *et al.*, 2002). Já no tratamento clínico é utilizado o teste aerodinâmico para controle da ejaculação retrógrada (ROOT *et al.*, 1994; STWART *et al.*, 1974).

A utilização de fármacos está sendo utilizado para tratar-se clinicamente, onde pode ter uma variedade de combinações para tratar a ejaculação retrógrada (DAVIDSON, 2002). No caso de tratamento aerodinâmico foi utilizado fenilpropanolamina na dose de 1,1 a 4,4 mg/kg cada 8 horas, com uma gama de dose entre 1 e 2 mg / kg, com o intuito de controlar a urina, não pode se observar melhora significativa nessa utilização (LORENZ *et al.*, 2004).

3. RELATO DE CASO

Um cão macho, da raça Dobermann, com 21 meses de idade, pesando 28 kg, foi atendido no Hospital Escola Univértix. De acordo com o histórico, realizou mais de uma cobertura em uma fêmea, no entanto, a cadela não apresentou prenhes após as coberturas. Diante disso, a cadela em questão foi submetida a um exame ginecológico no qual não apresentou nenhuma alteração que pudesse levar a infertilidade. Passado algum tempo o cão foi submetido ao exame físico geral e andrológico. O animal não apresentou nenhuma alteração ao exame físico, apresentando-se hígado, pelagem com aspecto sedoso e brilhante, escore corporal ótimo. Por se tratar de um doador de sangue no Hospital Escola Univértix, o cão possui os exames laboratoriais e bioquímicos em dia, além das vacinas em dia.

O trato reprodutivo do cão foi completamente avaliado, partindo-se do escroto, testículos, epidídimos, prosseguindo para o pênis e prepúcio. O escroto apresentava com espessura uniforme, relativamente fina e macia ao toque e apresentou-se móvel em relação ao testículo. O animal não apresentou dor à palpação e nem sinais visuais de inflamação, trauma, alterações de volume ou cicatrizes. Os testículos foram palpados e avaliados quanto ao tamanho, forma e consistência. Os testículos possuíam formato oval, sem irregularidades com consistência fibro-elástica. A circunferência escrotal foi de 7cm, o testículo direito e esquerdo foram mensurados quanto ao comprimento e largura, apresentando 3,9 x 2,6 e 3,9 x 2,9cm, respectivamente. Seguindo o exame, foi realizada a inspeção do pênis e prepúcio, onde a mucosa peniana apresentou-se rósea clara, fina e indolor ao toque.

A coleta de sêmen foi realizada por meio de excitação do cão na presença da fêmea, por estimulação manual do pênis. O processo de ereção ocorreu normalmente, no entanto, foi detectado redução do sêmen ejaculado, cerca de 1mL. Devido a este achado, foi realizada a passagem da sonda uretral tamanho 8 sentido à bexiga para a coleta de uma pequena amostra do conteúdo para análise microscópica. Foi colocado um lubrificante estéril juntamente ao cateter em direção a extremidade onde foi introduzido na uretra avançando até a bexiga. Uma gota do líquido coletado foi colocada em uma lâmina sobrepondo com lamínula e avaliado em microscópico no aumento de 40x. Durante essa análise foi: identificado a

presença de espermatozoides indicando que durante a ejaculação houve um fluxo retrogrado do sêmen em direção a bexiga.

Foi diagnosticada incontinência urinária ao exame clínico devido ao não fechamento completo do esfíncter da bexiga e cistite a partir da urinálise. Na análise da urina foram encontradas várias alterações descritas na tabela 1.

Tabela 1. Urinálise comparativa realizada após a coleta de urina por sondagem uretral no cão.

Características	Pesquisa	Literatura
Volume	20 ml	Variável
Cor	Marrom	Transparente amarela
Aspecto	Turva	Límpido
Odor	Forte	Ausente
Células de defesa	Presente	Ausente
EspERMatozoides	Presente	Ausente
Bactérias	Cocus	Ausente
Hemácias	Presente	Até 5.000

Como exame complementar ao diagnóstico foi feito a ultrassonografia desde glândula do pênis até a porção cranial da bexiga, com intuito de verificar a presença ou não de obstrução no trajeto do sêmen durante a ejaculação. Desta forma, não foi identificado nenhuma alteração que pudesse impedir o processo ejaculatório.

4. DISCUSSÃO

Existem alguns relatos de ejaculação retrógrada em cães (POST *et al.*, 1992; ROOT *et al.*, 1993), apesar desta patologia ser pouco descrita na literatura pesquisada. Existem relatos em outras espécies como bovino (DEBRUYNE, 1987; DOOLEY *et al.*, 1986), carneiro (PINEDA *et al.*, 1987; 1991), gato (DOOLEY *et al.*, 1984; 1991) e no homem (BARTH, 1990).

Post *et al.* (1992) relataram um caso de ejaculação retrógrada em um cão macho inteiro de dois anos de idade, de raça pura pastor de Shetland que foi encaminhado para avaliação reprodutiva. Assim como no presente trabalho, este cão foi inserido em um ambiente com quatro cadelas no estro com histórico de boa fertilidade, não havendo confirmação de prenhez em nenhuma das cadelas. Além disso, este cão era mantido com alimentação de boa qualidade, sem apresentar nenhum histórico de doença ou lesão e suas vacinas apresentavam-se em dia. O cão estava alerta e ágil na apresentação e em boa condição corporal. Também não havia alterações durante a inspeção dos órgãos reprodutivos, a palpação dos

testículos indicava tamanho e consistência normais para a raça, o prepúcio normal, e o pênis facilmente exposto. A palpação digital da próstata pelo reto indicou nenhum aumento ou anormalidades na consistência e simetria. O mesmo procedimento para coleta de uma amostra da urina foi realizada neste estudo, pela sondagem uretral com uma sonda de nº 5. O diagnóstico de ejaculação retrógrada neste cão foi confirmada pela avaliação microscópica da urina que mostrou aproximadamente 10 espermatozoides móveis/campo num aumento de 400 x. A coleta de sêmen foi tentada 12 dias mais tarde com resultados semelhantes.

Há descrito na literatura também por Root *et al.*, (1993), um caso clínico de ER em um cão da raça labrador retriever, macho, de um ano e sete meses de idade, pesando 31 kg. Com histórico semelhante ao cão deste relato e ao relato de Post *et al.* (1992), o labrador deste caso havia cruzado com uma cadela em dois ciclos estrais, mas ela não ficou gestante. O cão também não tinha histórico de doença ou trauma e apresentou-se normal ao exame físico. O testículo e a próstata eram de tamanhos e consistências normais efetuada pela palpação, seguindo assim foi feito hemograma completo e perfil bioquímico sérico, sem alterações. Ao contrário deste trabalho onde o cão estudado, apresentava libido e ejaculação, o cão relatado no trabalho de Root *et al.*, (1993) o libido do cão era baixo, não conseguia realizar ereção e sem apresentar sêmen durante a avaliação clínica. A coleta de urina para avaliação da presença de espermatozoides na bexiga foi realizada por sondagem uretral, detectando espermatozoides na urina após ejaculação, achado este também relatado nos trabalhos de Post *et al.* (1992) e Root *et al.* (1993).

No caso relatado por Root *et al.* (1993) há concordância nos achados do ejaculado com o presente trabalho onde o cão apresentou pequeno volume de sêmen no ejaculado, constatando que o cão Doberman apresentou uma ER parcial e oligospermia. Porém, diferente do trabalho em questão o relato apresentado por Post *et al.* (1992) tratou de um caso de ejaculação retrógrada total, pois não houve presença de espermatozoides ejaculados, portanto azoospermia.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os sinais clínicos, exames específicos do aparelho reprodutivo e os exames complementares realizados neste trabalho, pode-se concluir que o

animal apresentou ejaculação retrógrada parcial, de rara ocorrência, de origem adquirida devido ao não fechamento completo do esfíncter da bexiga.

REFERÊNCIAS

ASA, C Reproductive physiology. In: KLEIMAN, D. G., ALLEN, M. A., THOMPSON, K. V., LUMPKIN, S. **Wild Mammals in Captivity: Principles and Techniques**. Chicago: University of Chicago Press, p.390-405, 1996.

ARAFI, M.; TABIE, O.E. Medical Treatment of Retrograde Ejaculation in Diabetic Patients: A Hope for Spontaneous Pregnancy. **Journal of Sexual Medicine**, v.5, n.1, p.194-198, 2008.

BARTH, V. Retrograde ejaculation as a cause of aspermia following retroperitoneal lymph node excision and the effective use of alpha-sympathomimetic drugs. **Z UrolNephrol**, v.83, n.3, p.115-119, 1990.

BRADLEY, G. KLEIN, **Cunningham tratado de fisiologia**, 5. ed., SAUNDERS, 5 pág., 2014.

BEAUFAYS, F.; ONCLIN, K.; VERSTEGEN, J. Retrograde ejaculation occurs in the dog, but can be prevented by pre-treatment with phenylpropanolamine: A urodynamic study. **Theriogenology**, v.70, n.7, p.1057-1064, Oct. 2008.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL- CBRA. **Procedimento para exame andrológico e avaliação do sêmen animal**. Belo Horizonte: CBRA, 3. ed., 51p., 2013.

COLLINS, J.P. Retrograde ejaculation. In: BAIN, J.; SCHILL, W.B.; SCHWARTZSTEIN, L. **Treatment of male infertility**. New York: Springer Verlag; p.179-89, 1982.

CUNHA, I.C.N. **Exame andrológico e métodos de processamento do sêmen no cão**. Apostila elaborada para aula da disciplina de clínica reprodutiva de pequenos animais proferida na UENF, Campos dos Goytacazes-RJ, 2005.

CRAIGEBURN ANIMAL HOSPITAL. Retrograde Ejaculation in Dogs, Craigeburn Victoria, 3064.

CUNHA, I.C.N. Exame andrológico do cão. **JBCA – Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, v.1, n.1, p.49-65, 2008.

DAVIDSON, A.R. Reproductive physiology of the male in Cunningham. Text book of veterinary physiology.

DEBRUYNE, R. Retrograde ejaculation in bulls. **Vlaams DiergeneeskTijdschr**, v.56, p.472-475, 1987.

DEWEY, C. Neurology and neuropharmacology of normal and abnormal urination. In: DEWAY, C, editor. A practical guide to canine and feline neurology. Ames: Oowa State Press, p. 357–66, 2003.

DOOLEY, MI.; PINEDA, M.H.; HOPPER, J.G.; HSU, W.H. Retrograde flow of semen caused by electroejaculation in the domestic cat. Tenth International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, University of IL, Champaign/Urbana, Brief Communications, 1984; 363 abstr.

DOOLEY, M.I.; PINEDA, M.H.; MAURER, R.R.; LUNSTRA, D.D. Evidence for retrograde flow of spermatozoa into the urinary bladder of bulls during electroejaculation. **Theriogenology**, v.26, p.101-109, 1986.

DOOLEY, M.P.; PINEDA, M.H.; HOPPER, J.G.; HSU, W.H. Retrograde flow of spermatozoa into the urinary bladder of dogs during ejaculation or after sedation with xylazine. **American Journal of Veterinary Research**, v.51, p.1574–1579, 1990.

DOOLEY, MI.; PINEDA, M.H.; HOPPER, J.G.; HSU, W.H. Retrograde flow of spermatozoa into the urinary bladder of cats during electroejaculation, collection of semen with artificial vagina, and mating. **American Journal of Veterinary Research**, v.52, p.687-691, 1991.

FELDMAN, A.; NELSON, R.W. **Canine and feline endocrinology and reproduction**. 3.ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996.

GITTLEMAN, J.L.; FUNK, S.M.; MACDONALD, D.W.; WAYNE, R.K. Why varnivre conservation. In: GITTLEMAN, J.L.; FUNK, S.M.; MACDONALD, D.W.; WAYNE, R.K. **Carnivore conservation**. Cambridge: University press, p.1-7, 2001.

GIULIANO, F.; RAMPIN. Central regulation of penile erection. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, n.24, p.517-533, 2000.

HAFEZ, E.S.E. Comportamento reprodutivo. In: HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**. 6.ed. Philadelphia: Lea and Febiger, p.241-262, 1995.

HEDLUND, H.; EK, A. Ejaculation and sexual function after endoscopic blader neck incision. **British Journal Urology**, v.57, n.2, 164-167, April, 1985.

HERSHLAG, A.; SCHIFF, S.F.; DECHERNEY, A.H. Retrograde ejaculation. **Human Reproduction**, v.6, p.255–258, 1991.

HOTCHKISS, R.S.; PINTO, A.B.; KLEEGMAN, S. Artificial insemination with semen recovered from the bladder. **Fertility and Sterility**, v.6, p.37-42, 1955.

HOWARD, J.G. Assisted reproductive techniques in non-domestic carnivores. In: FOWLER M.E., MILLER, R.E. **Zoo and Wild Animal Medicine**.ed. Toronto: Saunders, p.449–457, 1999.

JOHNSTON, R.F Synanthropic birds of North America. In: MARZLUFF, J. *et al.* **Avian Urbani zing world**, Kluwer Academic Publishers, 2001.

KEDIA, KR.; MARKLAND, C.; FRALEY, E.E. Sexual function following high retroperitoneal lymphadenectomy. **Journal of Urology**, v.114, n.2, p.237-241, Aug, 1975.

KELLY, M.J.; ROSKAMP, D.; LEACH, G.E. Transurethral incision of the prostate: a preoperative and postoperative analysis of symptoms and urodynamic findings. **Journal of Urology**, v.142, n.6, p.1507- 1509, Dec, 1989.

LANGE, P.H.; NARAYAN, P.; VOGELZANG, N.J.; SCHAFER, R.B.; KENNEDY, B.J.; FRALEY, I.I. Return of fertility after treatment for nonseminomatous testicular cancer: **changing concepts**.v.129, n.6, p.1131-1135, Jun.1983.

LORENZ, M.; KORNEGAY, J. Disorders of micturation. In: Lorenz M, Kornegay J, editors. **Handbook of veterinary neurology**. 4th ed., St Louis: Saunders, p.75-90, 2004.

LYNCH, JH.; MAXTED, W.C. Use of ephedrine in post-lymphadenectomy ejaculatory failures: a case report. **Journal of Urology**, v.129, n.2, p.379, Feb.1983.

MAJOLINOG, L. Eiaculazione retrógrada nella specie canina: un case clinico. DVM Thesis, Faculty of Veterinary Medicine, University of Parma, Italy, 1991.

MEINECKE, B. Retrograde ejaculation in the dog. **Zuchthygiene**, v.11, n.3, p.122-123, Oct, 1976.

NEVES, G.; RATES, S.M.K.; FRAGA, C.A.M.; BARREIRO, E. Agentes dopaminérgicos e o tratamento da disfunção erétil. **Química Nova**, São Paulo, v.27, n.6, p.1-23, Nov./Dec, 2004.

OETTLÉ, E.E Sperm morphology and fertility in the dog. **Journal Reproduction Fertility**, v.47, p.257-260, 1993.

OCHSENKUHN, R.; KAMISCHKE, A.; NIESCHLAG, E. Imipramine for successful treatment of retrograde ejaculation caused by retroperitoneal surgery. **Int J Androl**, v.22, p.173–177, 1999.

PINEDA, M.H.; DOOLEY, M.P.; HEMBROUGH, F.B.; et al. Retrograde flow of spermatozoa into the urinary bladder of rams. **Am J Vet Res**, v.8, p.562-568, 1987.

POST, K.; BARTH, A.D.; KIEFER, U.T.; MAPLETOFT, R.J. Retrograde ejaculation in a Shetland sheepdog. **Canadian Veterinary Journal**, v.33, n.1, p.53-55, Jan.1992.

BEAUFAYS, K.; ONCLIN, J.; VERSTEGEN, F. Retrograde ejaculation occurs in the dog, but can be prevented by pre-treatment with phenylpropanolamine: A urodynamic study.

ROOT, M.V.; JOHNSTON, S.D.; OLSON, P.N. Concurrent retrograde ejaculation and hypothyroidism in a dog: case report. **Theriogenology**, v.41, n.3, p.593-600, Feb.1994.

ROMAGNOLI, S. Proceedings of the Veterinary Sciences Congress. Congresso de Ciências Veterinárias, SPCV, Oeiras, 10-12 p.171-176, 2002.

ROOT, M.V.; JOHNSTON, S.D.; OLSON, P.N. Concurrent retrograde ejaculation and hypothyroidism in a dog: case report. **Theriogenology**, v.41, p.593-600, 1994.

SANDLER, B. Idiopathia retrograde ejaculation. **International Journal Fertility and Sterility**, v.32, n.4, p.474- 475, Oct, 1979.

SCHAFFER, N.E.; CRANFIELD, M.; FAZLEABAS, A.T.; JEYENDRAN, R.S. Viable spermatozoa in the bladder after electroejaculation of lion-tailed macaques (*Macacasilenus*). **Journal of Reproduction and Fertility**, v.86, n.2, p.767-770, Jul,1989.

SILVA, A.R.; CARDOSO, R.C.S.C.; SILVA, L.D.M .Principais aspectos ligados à aplicação da inseminação artificial na espécie canina. **Revista portuguesa de ciências veterinárias**, v.98, p.53-60, 2003.

SILVA, P.D.; LARSON, K.M.U.; VAN EVERY, M.J.; SILVA, D.E. Successful treatment of retrograde ejaculation with sperm recovered from bladder washings. **J Reprod Med**, v.45, p.957-60, 2002.

SONKSEN, J.; OHL, D.A. Penile vibratory stimulation and electroejaculation in the treatment of ejaculatory dysfunction. **International Journal of Andrology**, v.25, n.6, p.324-332, 2002.

STEWART, B.H.; BERGANT, J.A. Correction of retrograde ejaculation by sympathomimetic medication: preliminary report. **Fertility and Sterility**, v.25, p.1073-1074, 1974.

THIAGARAJAH, S.; VAUGHAN, J.R.; ED KITCHIN, J.D. Retrograde ejaculation: successful pregnancy following combined sympathomimetic medication and insemination. **Fertility and Sterility**, v.30, p.96-97, 1978.

VERNON, M.; WILSON, E.; MUSE, K.; *et al.* Successful pregnancies from men with retrograde ejaculation with the use of washed sperm and gamete intrafallopian tube transfer (gift). **International Journal Fertility and Sterility**, v.50, n.5, p.822- 824, 1988.

YAVETZ, H.; YOGEV, L.; HAUSER, R.; *et al.* Retrograde ejaculation. **Human Reproduction**, v.9, p.381- 386, 1994.

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO E DA SEIVA BRUTA DA *Jatropha multifida* L. CONTRA AS BACTÉRIAS *Staphylococcus* sp. E *Escherichia coli*.

RESUMO

O presente trabalho tem por objetivo comparar e avaliar a atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico e da seiva bruta da *Jatropha multifida* L. sobre as bactérias *Staphylococcus* sp. e *Escherichia coli*. A espécie *Jatropha multifida* L. pertence à família Euphorbiaceae e é conhecida por diversos nomes como, flor-de-coral, coral-dos-jardins e flor-de-sangue; apresentando importante ação anticéptica e antifúngica devido a alguns de seus componentes, principalmente o tanino, que possui ação antimicrobiana. Foram utilizados o extrato das folhas e a seiva bruta da planta, no preparo das soluções testadas em diferentes concentrações sobre *Staphylococcus* sp. e *Escherichia coli*, em suspensões contendo os preparados e as bactérias e em meio sólido de Ágar Müeller-Hinton. Os resultados mostram que a seiva bruta apresentou melhor atividade bactericida sobre *Staphylococcus* sp. e *Escherichia coli*.

PALAVRAS-CHAVE: *Jatropha multifida* L.; atividade bactericida; *Staphylococcus* sp.; *Escherichia coli*.

1. INTRODUÇÃO

Desde 1977, a Organização Mundial da Saúde (OMS) tem incentivado o estudo de plantas tradicionalmente conhecidas como medicinais, com o objetivo de avaliar cientificamente os benefícios da utilização de medicamentos fitoterápicos e de conhecer, ao mesmo tempo, os riscos de seu uso indevido. Muitos centros de pesquisa, em todo o mundo, vêm desenvolvendo estudos sobre as propriedades farmacológicas das plantas medicinais. No entanto, faltam ainda evidências laboratoriais e clínicas sobre a eficácia e a segurança de seu emprego, tanto em animais como em seres humanos (LOGUERCIO *et al.*, 2005).

O Brasil é um país que possui grande biodiversidade, com inúmeras espécies na flora ainda não identificadas e sequer conhecidas pelos cientistas. Dentre as inúmeras plantas existentes e cultivadas, grande parte destas possuem princípios medicinais (LORENZI e MATOS, 2008) e pelo menos a metade das espécies vegetais existentes no país pode apresentar alguma propriedade terapêutica útil à população (DELAPORTE *et al.*, 2002). Observa-se desta forma que o avanço da medicina convencional não inibiu o progresso das práticas curativas populares, pois estas trazem a possibilidade de uma melhor relação custo-benefício para a

população, promovendo saúde a partir de plantas produzidas localmente (ARNOUS *et al.*, 2005).

Visando o estudo de propriedades terapêuticas de diversas espécies de plantas medicinais, a *Jatropha multifida* L. revelou-se como fonte de moléculas interessantes do ponto de vista científico e farmacológico. Existem relatos do uso do látex de *J. multifida* na medicina popular para tratamentos de ferimentos infectados, infecções de pele e escaras (KOSASI *et al.*, 1989). Diante de evidências de atividade biológica pelo uso popular, estudos vêm sendo realizados no sentido de isolar e purificar substâncias responsáveis pelos efeitos observados (HIROTA *et al.*, 2010).

A etnofarmacologia teve papel crucial para a atenção dada a estas plantas visto que muitas são utilizadas na medicina popular e deste modo, a *J. multifida*, da família Euphorbiaceae, tem sido utilizada como acelerador do processo cicatricial, porém somente foi encontrado trabalho científico referente à sua ação antifúngica (ADESOLA e ADETUNJI, 2007).

Como não há relatos do efeito desta planta sobre bactérias, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito antibacteriano do extrato hidroalcoólico e da seiva bruta da *J. multifida* sobre as bactérias *Staphylococcus* spp. e *Escherichia coli*, impedindo assim o seu crescimento e desenvolvimento.

As bactérias do gênero *Staphylococcus* sp. estão distribuídos principalmente na pele e mucosas de vertebrados de sangue quente, mas isolados de produtos alimentares, pó e água. Algumas espécies são patógenos oportunistas nos animais e no homem, onde produzem toxinas extracelulares (GOMES, 2013). Já a bactéria *E. coli* na microbiota intestinal não causa dano algum, pois faz parte da microbiota intestinal, mas, se alcançar as vias urinárias, causa infecção por ser um patógeno agressivo no trato urinário (SPINDOLA, 2006).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Uso de plantas medicinais

O Brasil é o país com maior reserva florestal diversificada do planeta, porém, mesmo havendo um crescimento dos trabalhos científicos sobre a avaliação do potencial terapêutico das plantas, ainda há escassez de estudos sobre a grande maioria das espécies em âmbito mundial. Muitas das publicações se referem a

ensaios empíricos com base no dito popular e apenas 1% das espécies vegetais foi validada por estudos científicos (LIMA *et al.*, 2007; MONTES *et al.*, 2009; FRANCISCO, 2010).

As plantas medicinais são aquelas espécies que possuem ação conhecida sobre agentes patogênicos ou propriedades terapêuticas, como fonte inesgotável de medicamentos e de novas substâncias, com potencial biológico confirmado após estudos científicos (DI STASI, 1996; MARTINS *et al.*, 2000). Em relação à utilização das plantas, tem ocorrido no mundo, um incentivo ao uso das plantas medicinais para o tratamento de diversas enfermidades. Políticas governamentais têm sido firmadas, a fim de dar suporte e avançar nas pesquisas e desenvolvimento de fitoterápicos, com interesses na utilização destes recursos por populações de baixa renda, como por exemplo, usuários do SUS (SENA *et al.*, 2007; BRASIL, 2011)

Estudos com plantas medicinais estão em ascensão, tanto no que diz respeito à atividade antibacteriana como antifúngica, porém ainda são escassos trabalhos que se referem a agentes patogênicos provenientes de animais e a utilização de isolados de quadros clínicos. Assim, estes nem sempre correspondem à realidade clínica, já que normalmente utilizam-se cepas padrões nos testes de avaliação de suscetibilidade *in vitro*, não refletindo a problemática da resistência dos microrganismos (SCHUCK *et al.*, 2001; MICHELIN *et al.*, 2005; MORAIS *et al.*, 2012).

A ocorrência de microrganismos resistentes aos antimicrobianos rotineiramente utilizados, recidivas em casos clínicos, efeitos tóxicos e o número limitado dos antimicrobianos disponíveis têm impulsionado a pesquisa utilizando as plantas, com a finalidade de descobrir novos princípios ativos para tratamento das enfermidades (HEYDER; SILVA, 2004; MENEZES *et al.*, 2009). Cerca de 50% dos medicamentos são provenientes, direta ou indiretamente, de produtos naturais, especialmente de plantas medicinais, porém ainda são necessárias pesquisas científicas que confirmem o potencial terapêutico de grande número de espécies vegetais (DUARTE, 2006; CARVALHO *et al.*, 2007).

Devido às várias barreiras na utilização dos recursos disponíveis por comunidades de baixa renda e as dificuldades para a manutenção da saúde dos animais provenientes destas, que vão desde o acesso ao atendimento clínico e hospitalar até obtenção dos medicamentos (RODRIGUEZ-TORRES, 1997), o uso de

plantas medicinais vem ganhando espaço na medicina, tanto na terapia como também na profilaxia de doenças (MONTES *et al.*, 2009; USTULIN *et al.*, 2009; LOPES *et al.*, 2010), sendo imprescindível que ocorra este tipo de evolução também em medicina veterinária, acompanhando o que vem acontecendo na medicina humana.

2.2 *Jatropha multifida* L.

A *J. multifida* possui flores muito pequenas, de cor vermelho-brilhante e agrupadas em cachos; as folhas têm de 10 a 20 cm de largura e são divididas em segmentos ou lóbulos estreitos, afilados, longos e podem ter as extremidades lisas ou dentadas; os frutos são amarelos e normalmente contém três sementes. Apresenta seiva abundante leitosa ou incolor (BUCH *et al.*, 2008). A *Jatropha multifida* L. é conhecida pelo sinônimo *Adenoropium multifidum* ou pelos nomes populares Planta-coral, Coral, Flor-de-coral, Flor-de-sangue, Bálsamo, Mertiolate. Foi relatada sua presença no noroeste do estado do Paraná, Brasil, onde moradores das cidades de Jesuítas e Bandeirantes utilizam a planta como cicatrizante de feridas (BUCH, ARANTES, & CAMPELO, 2008).

Segundo Barg (2004), suas sementes são tóxicas, contêm alcalóides, glicosídeos e toxialbuminas, que provocam dores abdominais, náuseas, vômitos, diarreia quando ingeridas em grande quantidade. Esta planta pertence à família Euphorbiaceae que compreende 290 gêneros e aproximadamente 7500 espécies, distribuídas em todo o mundo, principalmente nas regiões tropicais (CRONQUIST, 1981).

Recentemente contatou-se que o gênero *Jatropha* contém aproximadamente 170 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais da África e América, as plantas deste gênero se apresentam como ervas, arbustos ou árvores (KRISHNAN & PARAMATHMA, 2009).

Existem relatos do uso do látex de *J. multifida* na medicina popular para tratamentos de ferimentos infectados, infecções de pele e escaras (KOSASI *et al.*, 1989). Diante de evidências de atividade biológica pelo uso popular, estudos vêm sendo realizados no sentido de isolar e purificar substâncias responsáveis pelos efeitos observados. Estudos demonstraram que o látex apresentou atividade imunomoduladora (LABADIE *et al.*, 1989). Em ensaio bio-guiado foram isolados dois

acilfloroglucinóis de ocorrência natural e ativos para atividade imunomoduladora - o multifidol e multifidol glicosídeo (KOSASI, VAN DER SLUIS, & LABADIE, 1989). Posteriormente, outro composto também imunologicamente ativo foi isolado, um decapeptídeo cíclico, o Labaditin (KOSASI *et al.*, 1989).

Martins *et al.*, (2005), ao analisarem os princípios ativos e propriedades farmacológicas de oito plantas, observaram que a espécie *J. multiphyda* que é utilizada como anticéptica e antifúngica, apresentava ácido gálico em seu látex agindo sobre a inibição de inflamação. O ácido gálico é um composto fenólico presente em muitas plantas, sendo um dos constituintes dos taninos hidrolisáveis (BATTESTIN *et al.*, 2004). Plantas ricas em tanino são empregadas na medicina tradicional no tratamento de várias moléstias, entre elas, feridas, queimaduras e processos inflamatórios. Sabe-se que o tanino auxilia na produção de uma camada protetora devido à formação de um complexo tanino-proteína e/ou de polissacarídeos sobre regiões tissulares danificadas. Além disso, esse composto tem capacidade de se ligar com íons metálicos, adquirindo atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres (SANTOS e MELLO, 2004; BARROSO *et al.*, 2010).

O mecanismo de ação antimicrobiana dos taninos explica-se por três hipóteses. A primeira pressupõe os taninos inibindo enzimas bacterianas e fúngicas e/ou se complexando com os substratos dessas enzimas; a segunda inclui a ação dos taninos sobre as membranas celulares dos microrganismos, modificando seu metabolismo, e a terceira fundamenta-se na complexação dos taninos com íons metálicos, diminuindo a disponibilidade de íons essenciais para o metabolismo microbiano (SCALBERT, 1991).

Segundo (KHAN *et al.*, 2001; SRINAVASAN *et al.*, 2001; CIMANGA *et al.*, 2002) existe uma relação entre o teor de taninos e a atividade contra bactérias Gram positivas, que têm estrutura celular mais rígida, parede celular quimicamente menos complexa e menor teor lipídico do que as Gram negativas.

2.3 Microorganismos utilizados no ensaio

2.3.1 *Staphylococcus sp.*

As bactérias do gênero *Staphylococcus sp.* são Gram positivas; imóveis; não esporuladas; aeróbias ou anaeróbias facultativas; quimiorganotróficas com

metabolismo respiratório e fermentativo. As colônias são geralmente opacas, podendo variar sua coloração (branca, creme, amarela ou laranja); geralmente catalase positiva com citocromo presente, mas geralmente oxidase negativa (GOMES, 2013). Estão distribuídos, principalmente na pele e mucosas de vertebrados de sangue quente, mas isolados de produtos alimentares, pó e água. Algumas espécies são patógenos oportunistas nos animais e no homem, onde produzem toxinas extracelulares. Os estafilococos são organismos esféricos e de tamanho geralmente uniforme (0,8 µm). No pus, se apresentam sob a forma de massas agrupadas irregulares, lembrando a forma de cachos de uva (GOMES, 2013).

2.3.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli é Gram negativa, possui fímbrias ou pili (pêlos), são apêndices filamentosos menores e mais curtos que os flagelos e se fixa na parede do trato urinário para não ser arrastada pelo fluxo urinário, a *E.coli* na microbiota intestinal não causa dano algum, pois faz parte da microbiota intestinal, mas, se alcançar as vias urinárias, causa infecção por ser um patógeno agressivo no trato urinário (SPINDOLA, 2006). Essas bactérias foram consideradas inofensivas durante muitos anos. Contudo, cepas de *E. coli* causadoras de diarreia, tanto em humanos e animais domésticos como boi (FISCHER et al., 1994), ovelha (CID et al., 2001), coelho (ROBINS-BROWNE et al., 1994), cachorro (TURK et al., 1998) e porcos (ZHU et al., 1994), foram descritas entre as décadas de 40 e 50 (NATARO E KAPER, 1998).

Inicialmente, todas as cepas de *E. coli* que induzem diarreia foram nomeadas como *E. coli* enteropatogênicas (EPEC). Estudos posteriores permitiram que as *E. coli* enteropatogênicas fossem classificadas em diferentes grupos de acordo com seus mecanismos de infecção e fatores de virulência produzidos (KAPER, 1994). Os fatores de virulência são proteínas de adesão, de invasão, e proteínas tóxicas que caracterizam diversas manifestações clínicas, que vão desde diarreias coleriformes e colites agudas até disenteria e morte (NATARO E KAPER, 1998; CHEN E FRANKEL, 2004).

3. METODOLOGIA

3.1. Preparo do material vegetal

Para o preparo do extrato foram utilizadas folhas de *Jatropha multifhyda* L., Cultivadas na Faculdade Vértice – Univértix, coletadas no período da manhã. As folhas íntegras da planta foram lavadas e penduradas para secar a sombra. Em seguida foram distribuídas uniformemente em envelopes de papel e levadas à estufa, numa temperatura de 45 °C durante 5 dias. Após a secagem, 60 g de folhas foram triturados e peneirados em uma malha fina. Depois, foram colocados 30 g de pó da folha de *J. multifhyda* em 300 ml de solução hidroalcoólica 70 %, por uma semana. O extrato bruto foi concentrado em banho-maria na temperatura de 50 °- 55 °C para a eliminação total do solvente (SUFFREDINI, I.B.; VARELLA, A.D.; YOUNES, R.N., 2007).

Para a produção da solução com extrato foi retirado 4 g de extrato bruto de *J. multifhyda*, diluindo em 10 ml de água destilada, resultando em concentração final de 400 mg/ml. A seiva bruta (látex) das folhas frescas de *J. multifhyda*, foi extraída por gotejamento após o corte das folhas e do caule da planta. Para a solução a partir da seiva bruta foi utilizado 4 g de látex de *J. multifhyda*, diluindo em 10 ml de água destilada, resultando numa concentração final de 400 mg/ml. As soluções feitas com o extrato e a seiva bruta foram conservadas na geladeira, durante os dias de uso (SUFFREDINI, I.B.; VARELLA, A.D.; YOUNES, R.N., 2007).

3.2. Atividade antibacteriana

Foram utilizados isolados de *Staphylococcus sp.* e *Escherichia coli* provenientes do laboratório de inspeção de produtos de origem animal do Departamento de Medicina Veterinária da UFV, onde são mantidos congelados a -20 °C.

As bactérias foram cultivadas em Ágar Müeller-Hinton, a 37 °C, durante um período de 24 a 48 horas. Os cultivos foram suspensos em solução salina estéril até ajuste da turvação à escala 0,5 de Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias/ml).

Para determinar a concentração bactericida mínima (CBM), a solução contendo as bactérias ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml) foram colocadas no centro de placas de Petri, 1 ml por placa, para cada bactéria em cada tratamento. Formando dois

tratamentos, um com extrato e o outro com seiva bruta da *J. multiphyda*, ambos na concentração inicial de 400 mg/ml. Foram feitas diluições seriadas do extrato e da seiva bruta sendo retirado 1 ml de cada diluição e colocado nas placas contendo uma quantidade fixa de bactérias, obtendo soluções com 10 concentrações finais diferentes: 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,13; 1,56; 0,78; 0,39 mg/ml do extrato e da seiva bruta, para o *Staphylococcus* sp. e para a *E. coli*. As placas foram incubadas a 35 °C por 18 horas. O teste foi realizado em duplicata, com 20 placas para cada um dos 4 tratamentos, resultando em 80 placas totais.

Os resultados foram analisados visualmente e classificados em “positivo” ou “negativo” para a formação de colônias de *Staphylococcus* sp. e *Escherichia coli*, observadas nas placas.

Todas as diluições do extrato e da seiva foram submetidas a uma subcultura adicionando 1 ml de cada diluição no centro de placas contendo 3 ml de Ágar Müeller-Hinton, para avaliar se haveria crescimento bacteriano. A CBM seria determinada como a menor concentração na qual há inibição de crescimento, porém com crescimento positivo na subcultura e a concentração bactericida mínima (CBM) seria determinada como a menor dose que visualmente apresentar inibição de crescimento e que na subcultura também não apresentar crescimento bacteriano (SUFFREDINI, I.B.; VARELLA, A.D.; YOUNES, R.N., 2007).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados dos tratamentos com diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico de seiva bruta da *J. multiphyda* sobre *Staphylococcus* sp. e sobre *Escherichia coli*, estão representados nas tabelas 1 e 2.

As bactérias *Staphylococcus* sp. e *Escherichia coli* não apresentaram concentração bactericida mínima (CBM) para o extrato das folhas de *J. multiphyda*, enquanto que para a seiva bruta as CBM foram de 3,13 mg/ml para *Staphylococcus* sp. e de 100 mg/ml para *Escherichia coli*.

Foi constatado que houve crescimento bacteriano em todas as concentrações do extrato hidroalcoólico da folha para *Stafylococcus* e *E. coli*, e a partir das concentrações de seiva de 3,13 mg/ml para *Stafylococcus* e de 100 mg/ml para *E. coli*. A mensuração em diâmetro dos halos foi obtida através dos círculos formados nos centros das placas onde foram depositados os tratamentos em

questão com extrato das folhas e seiva bruta mais uma quantidade fixa de bactérias (*Stafylococcus* e *E. coli*).

Tabela 1 - Observação da presença de colônias de *Staphylococcus* sp. em placas contendo meio sólido de ágar Müeller-Hinton e soluções com diferentes concentrações (200 a 0,01 mg/ml) do extrato hidroalcoólico de folhas e da seiva bruta da *J. multiphyda*, após 18h de incubação a 35 °C.

Concentração do extrato da folha (mg/mL)	Formação de colônias de <i>Staphylococcus</i> sp	Concentração da seiva bruta (mg/mL)	Formação de colônias de <i>Staphylococcus</i> sp
200	Positivo	200	Negativo em um halo de 4,0 cm Ø
100	Positivo	100	Negativo em um halo de 4,0 cm Ø
50,00	Positivo	50,00	Negativo em um halo de 2,5 cm Ø
25,00	Positivo	25,00	Negativo em um halo de 1,5 cm Ø
12,50	Positivo	12,50	Negativo em um halo de 0,5 cm Ø
6,25	Positivo	6,25	Negativo em um halo de 0,5 cm Ø
3,13	Positivo	3,13	Negativo em um halo de 0,5 cm Ø
1,56	Positivo	1,56	Positivo
0,78	Positivo	0,78	Positivo
0,39	Positivo	0,39	Positivo
0,19	Positivo	0,19	Positivo
0,09	Positivo	0,09	Positivo
0,04	Positivo	0,04	Positivo
0,02	Positivo	0,02	Positivo
0,01	Positivo	0,01	Positivo

Ø = diâmetro

Tabela 2 - Observação da presença de colônias de *Escherichia coli* em placas contendo meio sólido de ágar Müeller-Hinton e soluções com diferentes concentrações (200 a 0,01 mg/ml) do extrato hidroalcoólico de folhas e da seiva bruta da *J. multiphyda*, após 18h de incubação a 35 °C.

Concentração do extrato da folha (mg/mL)	Formação de colônias de <i>Escherichia coli</i>	Concentração da seiva bruta (mg/mL)	Formação de colônias de <i>Escherichia coli</i>
200	Positivo	200	Negativo em um halo de 2,5 cm Ø
100	Positivo	100	Negativo em um halo de 1,0 cm Ø
50,00	Positivo	50,00	Positivo
25,00	Positivo	25,00	Positivo
12,50	Positivo	12,50	Positivo
6,25	Positivo	6,25	Positivo
3,13	Positivo	3,13	Positivo
1,56	Positivo	1,56	Positivo
0,78	Positivo	0,78	Positivo
0,39	Positivo	0,39	Positivo
0,19	Positivo	0,19	Positivo
0,09	Positivo	0,09	Positivo
0,04	Positivo	0,04	Positivo
0,02	Positivo	0,02	Positivo
0,01	Positivo	0,01	Positivo

Ø = diâmetro

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que a concentração mínima da seiva para inibição de *Stafylococcus* é de 3,13 mg/ml, e de 100 mg/ml para *E. coli*. A partir dos resultados podemos concluir que a seiva bruta apresentou melhor potencial de atividade bactericida, sendo uma planta promissora para formulações futuras de antissépticos naturais.

REFERÊNCIAS

- ADESOLA, A. T.; ADETUNJI, O. O. The efficacy of *Jatropha multifida* in the management of oral candidiasis: a preliminary study. **The Internet Journal of Alternative Medicine**, v.4, n.1, 2007.
- ARNOUS, A. H.; SANTOS, A. S.; BEINNER, R. P. C. Plantas medicinais de uso caseiro - conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário. **Revista Espaço para a Saúde**, v.6, n.2, p.1-6, 2005.

BARG, D. G. **Plantas Tóxicas**. 2004. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia Biomédica): Faculdade de Ciências da Saúde de São Paulo. São Paulo: Instituto Brasileiro de Estudos Homeopáticos. Disponível em:<http://www.esalq.usp.br/siesa/lq/pm/plantas_toxicas.pdf>. Acesso em: 26 de março 2013.

BARROSO, J. E. M.; XIMENES, F. H. B.; LEITE, C. R. *et al.* Comparação entre os efeitos de diferentes tratamentos na cicatrização de pele por segunda intenção em ovinos. **Acta Veterinária Brasílica**, v.4, n.4, p.298-302, 2010.

BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G.A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos e Nutrição**. v.15, n.1, p.63-72, 2004.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira / Agência Nacional de Vigilância Sanitária*. Brasília: ANVISA, p126, 2011.

BUCH, D. R.; ARANTES, A. B.; CAMPELO, P. M. S. Verificação da atividade cicatrizante do exudato de folhas de *Jatropha multifida* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 89, n. 2, p. 142-145, 2008.

CARVALHO, A. C. B.; NUNES, D. S. G.; BARATELLI, T. G.; SHUQAIR, N. S. M. S. A. Q.; NETTO, E. M. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **T&C Amazônia**, v.5, n.11, 2007.

CHEN, D.H. and FRANKEL, G. (2004). Enteropathogenic *Escherichia coli*: unravelling pathogenesis. **FEMS Microbiology Reviews** 29: 83-98.

CID, D., RUIZ-SANTA-QUITERIA, J.A., MARIN, I., SANZ, R., ORDEN, J.A., AMILS, R. and DE LA FUENTE, R. (2001) Association between intimin (eae) and EspB gene subtypes in attaching and effacing *Escherichia coli* strains isolated from diarrhoeic lambs and goat kids. **Microbiology** 147:2341–2353.

CIMANGA, K. *et al.*, Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v.79, n.2, p.213-220, 2002.

DELAPORTE, R. H.; MILANEZE, M. A.; MELLO, J. C. P.; JACOMASSI, E. Estudo farmacognóstico das folhas de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze (Amaranthaceae). **Revista acta farmacêutica bonaerense**, v.21, n.3, p.169-174, 2002.

DISTASI, Luiz Claudio. **Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP, 1996.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. Construindo a história dos produtos naturais no Brasil. **Multiciência**, v.7, p.1-16, 2006.

FISCHER, J., MADDOX, C., MOXLEY, R., KINDEN, D. and MILLER, M. (1994) Pathogenicity of a bovine attaching effacing *Escherichia coli* isolate lacking Shiga-like toxins. **Am. J. Vet. Res.** 55, 991–999.

FRANCISCO, K. S. F. Fitoterapia: Uma opção para o tratamento odontológico. **Revista Saúde**, v.4, n.1, p.18-24, 2010.

GOMES, M. J. P. **Gênero *Staphylococcus* spp.** 2013. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/labacvet/files/G%C3%AAnero%20Staphylococcus%20spp%204-2013-1.pdf>>. Acesso em 2015.

HEYDER, C. D.; SILVA, D. A. K. Avaliação da atividade antifúngica do óleo volátil de *Cymbopogon citratus* sobre *Candida krusei* e *Candida parapsilosis*. **Revista Saúde e Ambiente**, v.5, n.2, p.7-12, 2004.

HIROTA, B.C.K, TREVISAN, R. R, DIAS, J. F. G, MIGUEL, M.D, MIGUEL, O.G. **Fitoquímica e Atividades Biológicas do Gênero *Jatropha*: Mini-Revisão**. 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/279646222_fitoquimica_e_atividades_biologicas_do_genero_jatropha_mini-revisao>. Acesso em 2015.

KHAN, M.R. *et al.* Antimicrobial activity of ***Symplocos cochinchinensis***. **Fitoterapia**, Milão, v.72, n.7, p.825-828, 2001.

KOSASI, S., VAN DER SLUIS, W. G., BOELEN, R., HART, L. A., & LABADIE, R. P. Labaditin: a novel cyclic decapeptide from the latex of *Jatropha multifida* L. (Euphorbiaceae). **FEBS Letters** , v.256, n. 12, p. 91-96, 1989.

KOSASI, S., VAN DER SLUIS, W. G., & LABADIE, R. P. Multifidol and Multifidol glucoside from the latex of *Jatropha multifida*. **Phytochemistry**, 28 n.9, pp. 2439-2441, 1989.

KRISHNAN, P. R., & PARAMATHMA., M. Potentials and *Jatropha* species wealth of India. **Scientific Correspondence**. 97, n. 7, 1000-1004, 2009.

LABADIE, R. P., VAN DER NAT, J., SIMONS, J. M., KROES, B., KOSASI, S., VANDER BERG, A. J., et al. An ethnopharmacognostic approach to the search for immunomodulators of plant origin. **Planta Medica**, 55, pp. 339-348, 1989.

LIMA, C. B. N.; BELLETTINI, M. T.; SILVA, A. S.; CHEIRUBIM, A. P.; JANANI, J. K.; VIEIRA, M. A. V.; AMADOR, T. S. Uso de plantas medicinais pela população da zona urbana de Bandeirantes-PR. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, n.1, p.600-602, 2007.

LOGUERCIO, A.P.; BATTISTIN. A.; VARGAS, A.C.; HENZEL, A.; WITT, N.M. Atividade antibacteriana de extrato hidro alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygiumcumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, v.35, n.2, p.371-376, 2005.

LOPES, G. A. D.; FELICIANO, L. M.; DINIZ, R. E. S.; ALVES, M. J. Q. F. Plantas medicinais: indicação popular de uso no tratamento de hipertensão arterial sistêmica (HAS). **Revista Ciência e Extensão**, v.6, n.2, p.143, 2010.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas Mediciniais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Instituto Plantarum: Nova Odessa, SP, p.544, 2008.

MARTINS, ERNANE R. *et al.* **Plantas Mediciniais**. 3.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p. 220, 2000.

MARTINS, L. G. S.; SENNA-VALLE, L.; PEREIRA, N. A. Princípios ativos e atividades farmacológicas de 8 plantas popularmente conhecidas por nome de medicamentos comerciais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.7, n.2, p.73-76, 2005.

MENEZES, T. O. A.; ALVES, A. C. B. A.; VIEIRA, J. M. S.; MENEZES S. A. F.; ALVES, B. P.; MENDONÇA L. C. V. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*. **Revista de Odontologia da UNESP**, v.38, n.3, p.184-191, 2009.

MICHELIN, D. C.; MORESCHI, P. E.; LIMA, A. C.; NASCIMENTO, G. G. F. PAGANELLI, M. O.; CHAUD, M. V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.4, p.316-320, 2005.

MONTES, L. V.; BROSEGHINI, L. P.; ANDREATTA, F. S. *et al.* Evidências para o uso do óleo-resina de copaíba na cicatrização de ferida – uma revisão sistemática. **Natureza online**, v.7, n.2, p.61-67, 2009.

MORAIS, A. M.; LIMA, L. R. P.; VILELA, A. F. Estudo da atividade antimicrobiana da cebola (*Allium cepa*). **Farmácia & Ciência**, v.3, p.34-45, 2012.

NATARO, J. P., and KAPER, J. B. (1998) Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clin. Microbiol. Rev** 11:142–201.

ROBINS-BROWNE, R.M., TOKHI, A.M., ADAMS, L.M. and BENNETT-WOOD, V. (1994) Host specificity of enteropathogenic *Escherichia coli* from rabbits: lack of correlation between adherence in vitro and pathogenicity for laboratory animals. **Infect. Immun.** 62, 3329–3336.

RODRIGUEZ-TORRES, J. G. Epidemiologia das zoonoses: importância em saúde pública. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.19, n.5, p.185-187, 1997.

SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. P. “**Taninos**”, in: SIMÕES, C.M.O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. rev. e amp. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 2004. cap.24, p. 613-633.

SCALBERT, A. **Antimicrobial properties of tannins**. *Phytochemistry*, Chichester, v.30, n.12, p.3875-3883, 1991.

SCHUCK, V. J. A.; FRATINI, M.; RAUBER, C. S.; HENRIQUES, A.; SCHAPOVAL, E. E. S. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.37, n.1, p.45-49, 2001.

SENA, J.; SOARES, M. C. F.; CEZAR-VAZ, M. R.; MUCILO-BAISCH, A. L. Política intersectorial de plantas medicinais no estado do Rio Grande do Sul: Visão docente. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, v.28, n.1, p.62-69, 2007.

SPINDOLA; S. **Ocorrência De Escherichia Coli Em Culturas De Urina No Setor De Microbiologia Do Pam Antônio Ribeiro Netto**. Rio de Janeiro; dezembro, 2006. Disponível em: <<http://www.castelobranco.br/sistema/novoenfoque/files/05/10.pdf>>. Acesso em 2015.

SRINIVASAN, D. *et al.* Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v.74, n.2, p.217-220, 2001.

SUFFREDINI, I.B.; VARELLA, A.D.; YOUNES, R.N. Concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima de três extratos vegetais antibacterianos

selecionados da Floresta Amazônica e da Mata Atlântica brasileiras. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**, v.25, n.2, p.127-129, 2007.

TURK, J., MADDOX, C., FALES, W., OSTLUND, E., MILLER, M., JOHNSON, G., PACE, L., TURNQUIST, S. and KREEGER, J. (1998) Examination for heat-labile, heat-stable, and Shiga-like toxins and for the eaeA gene in Escherichia coli isolates obtained from 68 dogs dying with diarrhea: 122 cases (1992–1996). **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 212, 1735–1736.

USTULIN, M.; FIGUEIREDO, B.B.; TREMEA, C. Plantas medicinais comercializadas no mercado municipal de Campo Grande-MS. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.19, n.3, p.805-813, 2009.

ZHU, C., HAREL, J., JACQUES, M., DESAUTELS, C., DONNENBERG, M.S., BEAUDRY, M., FAIRBROTHER, J.M. (1994) Virulence properties and attaching-effacing activity of Escherichia coli O45 from swine postweaning diarrhea. **Infect. Immun.** 62: 4153– 4159.

FRATURA DE OSSO SESAMOIDE PROXIMAL LATERAL EM EQUINO – RELATO DE CASO

Acadêmicos: José Victor Matias de Sousa e Wallace Costa Magalhães

Orientador: Bruno Santos Cândido de Andrade

RESUMO

As lesões do aparelho locomotor ocorrem frequentemente em equinos de competição, gerando afastamento desses animais das atividades atléticas. As fraturas de ossos sesamoides proximais são frequentes em cavalos de corrida, devido traumas diretos ou por mecanismos relacionados às forças de tensão. Essas fraturas podem comprometer a vida e a função atlética desses animais, em função do padrão de fratura e extensão das lesões em componentes anatômicos adjacentes, o que exige diagnóstico preciso e instituição de tratamento precoce. O objetivo do presente trabalho foi relatar o atendimento, diagnóstico e conduta terapêutica instituídos em um equino da raça Campolina, referenciado ao Hospital Veterinário da Faculdade Univértix, portador de fratura de osso sesamoide proximal lateral em membro torácico esquerdo. Após a avaliação, o proprietário optou pelo tratamento clínico, visando minimizar a inflamação local, em detrimento da remoção cirúrgica. Mesmo tendo a remoção cirúrgica como principal indicação terapêutica, o tratamento conservador se mostrou eficaz quanto a recuperação do animal. Na reavaliação do animal a articulação metacarpofalângica, apresentou flexibilidade normal, sem reação dolorosa e claudicação, sendo observado um resultado satisfatório da evolução da lesão.

PALAVRAS-CHAVE: Equinos; fraturas; sesamoide proximal; articulação

1. INTRODUÇÃO

Os equinos são utilizados pelo homem para o trabalho, como meio de tração, transporte, lazer e para competições. No Brasil o mercado do cavalo movimenta bilhões de reais por ano, tendo um rebanho de cerca de 7,5 bilhões de cabeças entre equinos, asininos e muares (FRANÇA *et al.*, 2013).

As lesões do aparelho locomotor ocorrem frequentemente em equinos de competição e, como consequência, geram afastamento desses animais das atividades atléticas, gerando custos de tratamento e sequelas por vezes irreparáveis. As enfermidades do aparelho locomotor superam em ocorrência as afecções do aparelho respiratório e gastrointestinal. Problemas de conformação física inadequada de membros, falta de condicionamento físico e casqueamento incorreto, entre outros fatores, contribuem para ocorrência de diversas lesões ortopédicas (ABREU *et al.*, 2011; BARREIRA *et al.*, 2012).

Nos equinos, as fraturas de ossos sesamoides proximais são frequentes, devido traumas diretos ou por mecanismos relacionados às forças de tensão do músculo interósseo sobre os mesmos, durante a extensão máxima das articulações metacarpofalângicas. Essas fraturas podem comprometer a vida e a função atlética desses animais, devido o padrão de fratura e extensão das lesões em componentes anatômicos adjacentes, o que exige diagnóstico preciso e instituição de tratamento precoce (PYLES *et al.*, 2004).

O objetivo do presente trabalho é relatar o atendimento, diagnóstico e conduta terapêutica instituídos em um equino da raça Campolina, encaminhado ao Hospital Veterinário da Faculdade Univértix, portador uma fratura de osso sesamoide proximal lateral em membro torácico esquerdo.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Revisão Anatômica¹

O dígito do equino é composto, pela junção das falanges distal, média e proximal, além dos ossos sesamoides distal, terceiro osso metacárpico (ou metatársico, se membro pélvico), e ossos sesamoides proximais (STASHAK, 2006).

Nos membros torácicos, os ossos sesamoides proximais se localizam na face palmar da articulação metacarpofalângica, junto às superfícies articulares do terceiro osso metacárpico e da falange proximal (GETTY, 2008). Os sesamoides proximais são dois ossos de formato piramidal, que têm como função promover o deslizamento dos tendões flexores (ROMÃO, 2005).

A articulação metacarpofalângica é formada pela junção da epífise distal do osso metacárpico terceiro, a base da falange proximal e ossos sesamoides proximais. O osso metacárpico terceiro apresenta na sua superfície articular distal uma tróclea, formada por dois côndilos desiguais, e uma crista da tróclea que se ajusta dentro da fôvea articular da falange proximal, unidos pelo ligamento metacarpo-intersesamoideo e ossos sesamoides proximais palmarmente. Os ligamentos metacarpo-sesamoideos, na sua grande parte, estão inseridos aos ossos sesamoides proximais, que se estendem proximal ao nível dos ossos sesamoides

¹ Segundo nova Nomina Anatomica Veterinária (I.C.V.G.A.N., 2012)

proximais e é sulcado para receber a crista da tróclea do metacárpico terceiro (GETTY, 2008).

Contidos na articulação estão o líquido sinovial, cartilagem articular e osso subcondral, com uma irrigação sanguínea local e inervação que contribuem para manter a homeostasia e produzir mobilidade (ROCHA, 2008). Inserida ao redor da margem das superfícies articulares, a cápsula articular é espessa e ampla palmarmente, onde se encontra uma bolsa sinovial interposta entre ela e os tendões flexores digitais (GETTY, 2008).

O tecido presente na cápsula articular permite a adaptação à força e frequência da carga aplicada durante o exercício. O treinamento e condicionamento físico são realizados no intuito de permitir a adaptação dos componentes articulares e demais, para suportar as respostas fisiológicas que permitem o alto desempenho, sem compromisso patológico articular (ROCHA, 2008).

Parcialmente divididos em duas camadas, os ligamentos colaterais mediais e colaterais laterais apresentam camada superficial e profunda, sendo a superficial inserida na eminência ao lado da epífise distal do osso metacárpico terceiro, se estendendo até a área rugosa distal à margem da superfície articular da falange proximal. A camada profunda se encontra mais curta e mais resistente, surgindo na depressão ao lado do osso metacárpico e se inserindo na face abaxial do osso sesamoide e na base da falange proximal. Os ossos sesamoides proximais são unidos à articulação pelos ligamentos metacarpo-intersesamóideos e ligamentos sesamoides (GETTY, 2008).

A composição dos ligamentos é semelhante à da estrutura da cápsula articular, só podendo ser identificados quando ocorre hipertrofia de certas estruturas da cápsula articular, possibilitando à apalpação (ROCHA, 2008).

Os ligamentos sesamoideos colaterais, medial e lateral, por sua vez, têm origem na face abaxial de cada osso sesamoide. Seguem dorsalmente e se dividem em dois, sendo um dos ramos inserido na depressão existente na epífise distal do terceiro osso metacárpico, e o outro ramo se insere na eminência existente na base da falange proximal, tendo eles uma parte coberta pelo músculo interósseo (GETTY, 2008).

Situado no sulco metacárpico, o músculo interósseo tem a forma de uma espessa faixa e sua região proximal está implantada na parte proximal da superfície

palmar do terceiro osso metacárpico e na fileira distal de ossos cárpicos. Inserido à parte distal do terceiro metacárpico, o músculo interósseo divide-se em dois ramos colaterais, um deles segue para a face abaxial do osso sesamoide correspondente. O outro ramo segue de forma oblíqua, distal e dorsalmente para superfície dorsal da falange proximal, se unindo com o tendão extensor digital comum (SCHWARZBACH, *et al.*, 2008).

Os ligamentos sesamoideos consistem em reto, oblíquos e cruzados, que constituem o prolongamento do músculo interósseo (ROMÃO, 2005). O ligamento sesamoideo reto é uma faixa larga e plana inserida próximo às bases dos ossos sesamoides e do ligamento palmar, distal à fibrocartilagem complementar da base da falange média. Os ligamentos sesamoideos oblíquos com margens espessas e arredondadas, têm a forma triangular e estão inseridos nos ossos sesamoides e ligamento palmar. Os ligamentos sesamoideos cruzados são mais profundos, sendo eles duas finas camadas de fibras que têm origem na base dos ossos sesamoides se cruzam e se inserem na eminência oposta na base da falange proximal (GETTY, 2008).

Os ligamentos sesamoideos curtos são dois e consistem em cintas curtas que se prolongam da parte dorsal da base dos ossos sesamoides até a margem palmar da fôvea articular da falange proximal. Os ligamentos sesamoideos distais são considerados como continuações do músculo interósseo, intercalados pelos ossos sesamoides formando uma importante rede de sustentação, fazendo com que o boleto seja sustentado, e que o efeito de choques e impactos sejam diminuídos (GETTY, 2008).

2.2 Fraturas de ossos sesamoides proximais

As afecções do aparelho locomotor dos equinos atletas ocorrem devido ao intenso estresse imposto nas modalidades esportivas, gerando fraturas, e patologias articulares. As fraturas de ossos sesamoides proximais são mais frequentes em animais de corrida, devido ao esforço e velocidade empreendidos (PYLES *et al.*, 2007).

As fraturas de ossos sesamoides proximais são classificadas, de acordo com a região acometida, sendo fratura apical, a mais comum ocorrendo em cerca de 88% dos casos, cominutiva ocorrendo em menos de um terço do osso, as outras fraturas

consistem em abaxial, transversal ao corpo sesamoide e basilar (articular ou não). Fraturas sagitais ou cominutivas ocorrem frequentemente devido a um trauma direto na face palmar do boleto (STASHAK, 2006).

As causas de fraturas dos ossos sesamoides proximais estão relacionadas ao trauma direto e às excessivas forças de tensão sobre os ossos, ao final de um intenso exercício físico ocorre grande extensão da articulação metacarpofalângica, causada pela fadiga dos músculos flexores digitais que o sustenta. Essa grande extensão e o excesso de carga sobre os ossos sesamoides proximais fazem com que o mesmo não suporte as forças de separação aplicadas pelo músculo interósseo e pelos ligamentos sesamoides distais. O padrão vascular pode se tornar um local de fragilidade, devido à distribuição e orientação dos vasos que correspondem ao padrão de fratura apical (STASHAK, 2006).

A desmite do músculo interósseo e dos ligamentos sesamoides distais ocorre juntamente com a fratura, devido a forças de tensão intensas. Frequentemente a fratura está relacionada a animais jovens mantidos em baias por vários dias e retornaram à atividade física. Os casos de padrões de fratura dos tipos cominutivas e transversais se relacionam a traumas diretos, podendo acometer a articulação gerando sinais de osteoartrite (STASHAK, 2006).

Outros fatores predisponentes que aumentam a tensão sobre os ossos sesamoides proximais são a falta de condicionamento físico, falta de cuidados com os cascos, má colocação da ferradura e má conformação do membro, que aumentam o estresse sobre os ossos sesamoides proximais (STASHAK, 2006).

As fraturas de sesamoides proximais levam a inflamação e desalinhamento das superfícies articulares das articulações metacarpofalângicas/metatarsofalângicas, colaborando para o desenvolvimento de osteoartrites, e até artroses. A inflamação extensiva aos tecidos adjacentes e comprometimento do músculo interósseo também podem advir das fraturas de sesamoides (ROCHA, 2008).

Diversas são as técnicas cirúrgicas indicadas para o tratamento das fraturas de sesamoides, como as artroscopias e/ou artrotomias para a exérese de fragmentos apicais menores e as técnicas de osteossíntese com implantes de parafusos do tipo *lag-screw* e cerclagens com fios de aço. O importante na avaliação é prover a estabilização dos fragmentos, com alinhamento das superfícies articulares dos sesamoides, evitando dessa forma lesões à articulação do boleto. As complicações

cirúrgicas, bem como a efetividade das técnicas variam de acordo com o grau de comprometimento, indicação da cirurgia e momento cirúrgico (PYLES *et al.*, 2007).

2.3 Desmite do músculo interósseo

Ap longo do desenvolvimento da espécie, o músculo interósseo evoluiu para suportar cargas, sendo passível de lesões sempre que as mesmas superam seus limites fisiológicos. Situado nos membros torácico e pélvicos, o músculo interósseo prolonga-se distalmente no sulco metacárpico e/ou metatársico, ocorrendo sua divisão em dois ramos distais ao terceiro metacárpico e terceiro metatársico. O anexo dos ramos do músculo interósseo situa-se sobre as superfícies abaxiais dos ossos sesamoides proximais e continua de forma oblíqua e dorsalmente sobre a falange proximal, onde se liga ao tendão do musculo extensor digital comum, proximal à articulação interfalângica proximal (SCHWARZBACH *et al.*, 2008).

Membros torácicos sofrem lesões com maior frequência, devido a intensa carga de peso distribuída na região do tórax do animal. A ocorrência da desmite do músculo interósseo está ligada a equinos de andamento marchado, isso ocorre pelo excesso de sua função de sustentação, já que existe um aumento da fase cranial do passo. Nos animais de trabalho, o excesso de carga exigida na sustentação é ainda maior pelo músculo interósseo, principalmente durante a hiperextensão da articulação metacarpofalângica na fase de apoio total (MARANHÃO *et al.*, 2006).

A hiperextensão da articulação metacarpofalângica é a principal causa de desmite do músculo interósseo. Animais que apresentam essa afecção têm histórico de claudicação por vários dias, no início agudo a lesão pode ser palpável e notável o aumento de temperatura, nos casos crônicos e intermitentes os achados não são notáveis, podendo dificultar o diagnóstico. Para o diagnóstico, os animais são submetidos ao exame dinâmico, juntamente com a pressão digital no local de origem do músculo interósseo pode aumentar a resposta dolorosa a claudicação (STASHAK, 2006). O exame dinâmico consiste na observação do cavalo, que deverá ser analisado de preferência sobre uma superfície lisa e regular, inicialmente a passo, ao trote em linha reta e a trote em círculo. Esse tipo de exame permite caracterizar a intensidade da claudicação, podendo classificá-lo de acordo com a escala *American Association of Equine Practitioners* (AAEP) que traduz os graus de claudicação, de I a V graus (ROCHA, 2008).

Animais que apresentarem sinais de desmíte do músculo interósseo devem permanecer em repouso, a volta ao trabalho é gradativa, a marcha pode ser iniciada oito semanas após o início do repouso, o tempo de cicatrização total é cerca de dezoito meses, o acompanhamento por ultrassonografia é crucial nesse período, sendo a recidiva maior nos animais que não mantiveram repouso adequado (STASHAK, 2006).

2.4 Osteoartrite da Articulação Metacarpofalângica

Considerando os tratamentos disponíveis para as fraturas de ossos sesamoides proximais, em todos os casos o prognóstico pode ser dado após a avaliação da articulação metacarpofalângica e conseqüentemente levando em consideração doenças secundárias às fraturas, como desmíte do músculo interósseo e sinais de Doença Articular Degenerativa (DAD) (STASHAK, 2006). Pode-se relacionar ao animal uma osteoartrite, devido a inflamação ocorrida na articulação metacarpofalângica ou por trauma direto (ROCHA, 2008). A artrite da articulação metacarpofalângica pode se dar como consequência de um trauma, por uma força de impacto muito intensa nessa articulação (STASHAK, 2006).

Os cistos ósseos principalmente da falange proximal, podem ser induzidos por trauma da cartilagem articular e ao osso subcondral subjacente. Devido ao trauma, em equinos é comum o aparecimento desses cistos a partir de 30 a 60 dias no osso subcondral (STASHAK, 2006).

Os estágios iniciais dessa afecção se dão pela perda do aspecto hialino normal da cartilagem articular, que irá apresentar uma coloração branco-fosca ou amarelo-clara, depressões, sulcos lineares e perfurações surgem na superfície articular, algumas das partes da cartilagem articular podem se deslocar, gerando o aparecimento de corpos livres e osteófitos (JONES *et al.*, 2000).

Equinos que apresentam essa afecção têm como sinais clínicos inflamação articular e claudicação; em equinos de trabalho ou esporte a claudicação moderada é uma característica da doença que vem acompanhada de dor acentuada na flexão do boleto e ainda seguidos de aumento da temperatura e efusão da articulação (STASHAK, 2006). Nos estágios mais avançados pseudocistos subcondrais podem

se formar, ficando similares aos ocorridos na osteocondrose; alterações císticas na extremidade do osso podem se formar devido aos osteófitos que circundam as estruturas sinoviais (JONES *et al.*, 2000).

No entanto, a ausência de alterações osteoartríticas na radiografia não tira a possibilidade de haver lesões não detectáveis, principalmente quando se relaciona aos achados à palpação e flexão articulares (MARANHÃO *et al.*, 2006).

2.5 Prognóstico

Associadas às fraturas, o animal pode apresentar lesões de tecido mole, e o tempo de recuperação se estenderá decorrente à gravidade (BARREIRA *et al.*, 2012). O prognóstico está relacionado aos padrões de fratura, sendo que em fraturas apicais o prognóstico é bom a excelente; fraturas abaxiais o prognóstico é bom; fraturas basilares o prognóstico é reservado; fraturas transversais; utilizando a fixação com parafusos e amarrações; o prognóstico é reservado; tendo os dois ossos sesamóides proximais fraturados o prognóstico é desfavorável.

Para os casos em que há comprometimento do músculo interósseo e DAD significativa com restrição do movimento, o prognóstico é desfavorável e consiste apenas na preservação do animal, devido o alto valor zootécnico, genético e valor sentimental. Porém, o prognóstico só pode se dar após a avaliação da articulação, à procura de DAD e da avaliação do músculo interósseo devido a desmíte causada (STASHAK, 2006).

Identificar os componentes afetados, a extensão das lesões requer grande experiência e conhecimentos específicos de anatomia, fisiologia e das lesões que acometem o aparelho locomotor dos equinos, os quais são os fundamentos para se efetuar o diagnóstico, o tratamento e o prognóstico (SCHWARZBACH *et al.*, 2008).

3. RELATO DE CASO

Foi encaminhando ao Hospital Veterinário da Faculdade Univértix, no dia 06/08/2015, um equino macho, da raça Campolina, de pelagem pampa de baio, de 3,5 anos de idade e 365 kg com histórico de claudicação intensa do membro torácico esquerdo, de início repentino após o término do treinamento. O equino em questão está em fase de início de doma e estava sendo submetido a treinamento. O

animal foi tratado por dois dias no haras com 10 ml de Fenilbutazona 20% pela via intravenosa, havendo piora do quadro clínico.

Ao exame clínico o animal apresentou parâmetros normais, 36 batimentos cardíacos por minuto, 14 movimentos respiratórios por minuto, mucosas normocoradas, tempo de preenchimento capilar menor que dois segundos e hidratado. No aspecto físico geral apresentou escore corporal 3,5, pele e pelos normais, nenhum ferimento e sem presença de ectoparasitas e linfonodos não reativos.

A inspeção em dinâmica foi possível identificar claudicação de apoio grau 4 do membro tarácico esquerdo (escala AAEP de 0-5) ao passo, tendo como exames solicitados, teste de flexão, bloqueios perineurais e raio x. Em estática, foi possível perceber aumento discreto de volume na face lateral do terço distal do terceiro osso metacarpico, estendendo-se para a face lateral da articulação metacarpofalângica.

À palpação do ramo lateral músculo interósseo e osso sesamoide proximal lateral, o equino respondeu de forma vigorosa, indicando dor intensa e não permitiu a flexão da articulação do boleto do membro torácico esquerdo. De acordo com Schwarzbach et al. (2008) a função do aparelho suspensório é evitar a extensão excessiva e promover suporte das articulações metacarpo/metatarso falângicas, sendo o músculo interósseo um dos principais componentes. A desmíte do músculo interósseo é caracterizada por calor no local, aumento de volume e dor na palpação, dependendo do estágio da lesão.

Estudo radiográfico completo da articulação metacarpofalângica esquerda foi solicitado, nas projeções dorso-palmar, látero-medial, dorsolateral-palmaromedial e dorsomedial-palmarolateral, sendo confirmada fratura do osso sesamoide proximal lateral do membro torácico esquerdo, com padrão de Apical (Figuras 1 e 2). O padrão de fratura apical, é a mais comum, ocorrendo em cerca de 88% dos casos (STASHAK, 2006).

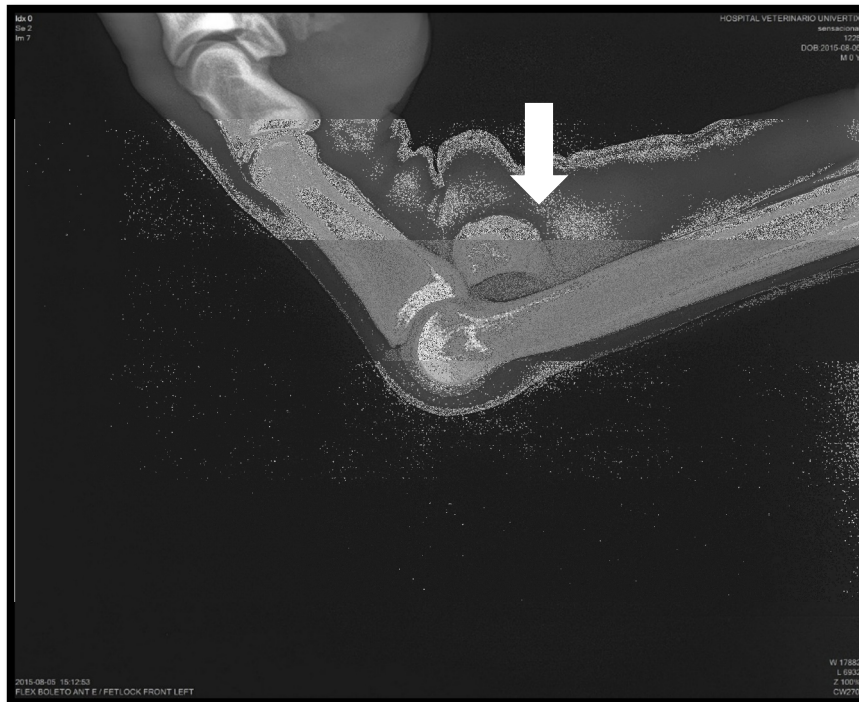


Figura 1: Projeção Lateromedialflexionada da articulação metacarpofalângica do membro torácico esquerdo, evidenciando a fratura em padrão apical do osso sesamoideproximal lateral.

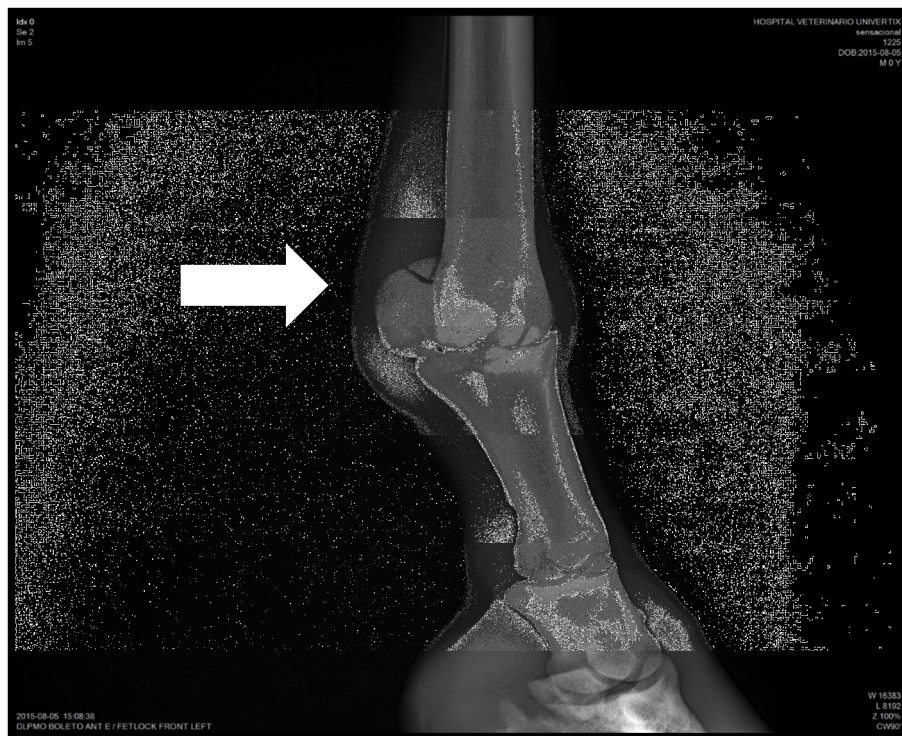


Figura 1: Projeção Dorsolateral-palmaromedial da articulação metacarpofalângica do membro torácico esquerdo, evidenciando a fratura em padrão apical do osso sesamoide proximal lateral.

Após a avaliação, foi sugerida remoção cirúrgica do fragmento ósseo; porém o proprietário optou pelo tratamento clínico. O tratamento proposto teve como objetivo minimizar a inflamação local e imobilização da articulação metacarpofalângica. Foram administrados anti-inflamatórios intravenoso e tópico, sendo 8 ml defenilbutazona 20% intravenoso, uma vez por dia, durante 5 dias, crioterapia no membro torácico esquerdo, até a altura do carpo, por 40 minutos, duas vezes ao dia e massagem da região da articulação metacarpofalângica com anti-inflamatório tópico DM-Gel® seguido de bandagem com tala.

Após o tratamento clínico por uma semana, o animal teve alta e retornou ao haras de origem, tendo como indicação observação do animal e repouso absoluto.

Na reavaliação do animal após 8 meses, em abril de 2016, não foi possível perceber aumento de volume da articulação, que apresentou flexibilidade normal da mesma sem reação dolorosa; no exame dinâmico não foi identificada claudicação, sendo observado um resultado satisfatório da evolução da lesão.

Nos exames radiográficos da articulação metacarpofalângica, o processo de cicatrização, apresentou união óssea com discreto desalinhamento dos fragmentos (Figuras 3 e 4), ainda com osteopenia na linha da fratura do osso sesamoide proximal lateral do membro torácico esquerdo, sem sinais de osteoartrite .

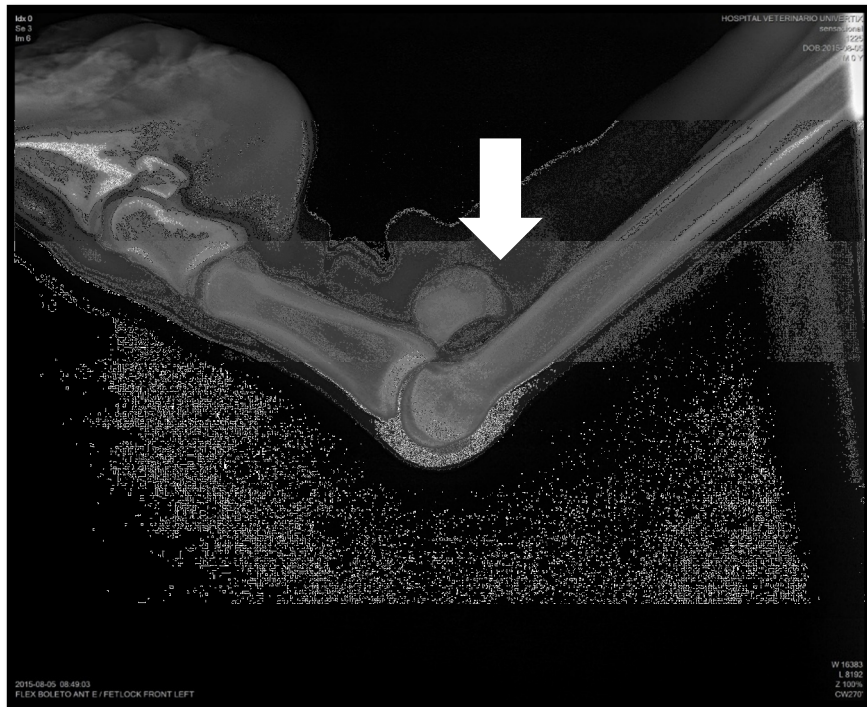


Figura 3: Projeção Lateromedialflexionada da articulação metacarpofalângica do membro torácico esquerdo, evidenciando discreto desalinhamento dos fragmentos, na cicatrização da fratura em padrão apical do osso sesamoideproximal lateral.

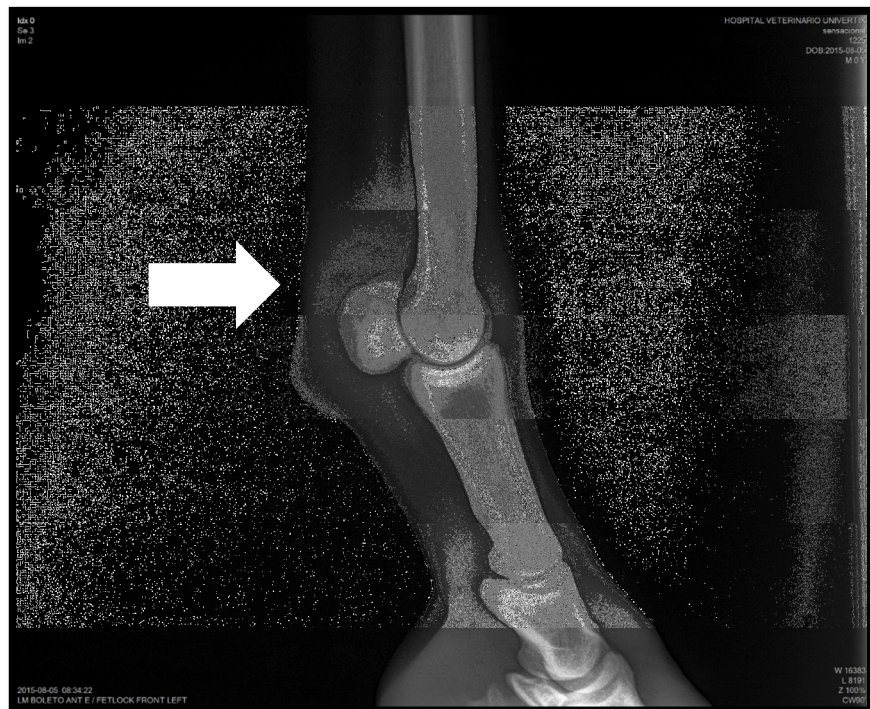


Figura 4: Projeção Dorsolateral-palmaromedial da articulação metacarpofalângica do membro torácico esquerdo, evidenciando cicatrização da fratura em padrão apical do osso sesamoide proximal lateral.

Durante a reavaliação, os testes de flexão, apalpação, inspeção e exames radiográficos, foi observado um resultado satisfatório da evolução da lesão com o tratamento conservativo.

4. RESULTADO E DISCUSSÕES

As causas de fraturas dos ossos sesamoides proximais estão relacionadas a trauma direto e forças de tensão, sendo as forças de tensão aplicadas durante o exercício sobre os ossos sesamoides proximais, através do músculo interósseo e ligamentos sesamoides distais com a hiperextensão da articulação metacarpofalângica (STASHAK 2006). O animal em questão apresentou claudicação intensa no haras após o término do treinamento, sendo encaminhado ao Hospital Veterinário da Faculdade Univértix.

No exame clínico do animal, encaminhado ao Hospital Veterinário da Faculdade Univértix, com os testes de flexão, apalpação, inspeção e exames radiográficos, foi possível ter o diagnóstico, da claudicação do animal, apresentando assim uma fratura de osso sesamoide proximal lateral, com padrão apical, esse padrão de fratura é o mais comum, ocorrendo em cerca de 88% dos animais acometidos.

Após o atendimento foi indicado a remoção cirúrgica do fragmento ósseo, assim, a remoção cirúrgica do fragmento ósseo. No entanto, o proprietário optou pelo tratamento clínico, em detrimento da remoção cirúrgica. A remoção cirúrgica dos fragmentos de fraturas articulares é o tratamento mais indicado, podendo não ter efeitos similares o tratamento conservativo (SERRÃO, 2015).

Diversas são as técnicas cirúrgicas indicadas para o tratamento das fraturas de sesamoides visando a estabilização dos fragmentos, com alinhamento das superfícies articulares dos sesamoides, evitando dessa forma lesões à articulação metacarpofalângica (PYLES *et al.*, 2007).

O tratamento instituído teve como objetivo minimizar a inflação local, com a administração de anti-inflamatorios intravenoso e tópico e imobilização da articulação metacarpofalângica com bandagens e tala por 20 dias e repouso absoluto do animal, sendo realizado oito meses de repouso do animal, afim de evitar

movimentação excessiva do membro afetado. Segundo Stashak (2006) equinos não utilizados em práticas esportivas, e destinados a reprodução, o tratamento conservativo é indicado, bandagens de sustentação, talas ou gesso com repouso são suficientes.

O animal apresentou durante a cicatrização da fratura um desalinhamento ósseo, sendo assim o trauma da movimentação excessiva da cartilagem articular, com a face articular irregular do osso sesamoide proximal, favorece o desenvolvimento de uma inflamação local. Segundo Rocha (2008) uma osteoartrite pode está relacionada à inflamação ocorrida na articulação metacarpofalângica em decorrência do uso excessivo da mesma ou por trauma direto.

As fraturas de sesamoides proximais podem causar inflamação e desalinhamento das superfícies articulares das articulações, levando ao desenvolvimento de osteoartrites e até artroses. Devido a inflamação extensiva aos tecidos adjacentes, comprometimento do músculo interósseo também pode advir das fraturas de sesamoides (ROCHA, 2008).

Segundo Oliveira (2015) articulação metacarpofalângica é mais afetada com osteoartrite, por ser uma das articulações com mais flexibilidade e por isso mais suscetível a lesão.

O animal em questão, não esta sendo submetido ao trabalho, apresentando assim flexibilidade normal da mesma, sem reação dolorosa e claudicação, sendo observado um resultado satisfatório da evolução da lesão.

Foi solicitado no tratamento conservativo ao animal repouso absoluto e imobilização com bandagens por 20 dias. De acordo com Stashak (2006) a utilização de gesso ou talas por longos períodos acima de 3 a 4 meses, pode provocar fraqueza óssea, sendo tratadas de forma conservadora, tem uma cicatrização fibrosa fraca e a linha de fratura será observada no exame radiográfico, e pode eventualmente se separar, resultando em dor.

O animal em questão não está sendo submetido ao trabalho e segundo Pyles (2003), o retorno das atividades físicas do animal, depende do padrão de fratura e intensidade da lesão, tendo prognósticos diferentes.

Apesar do tratamento cirúrgico ser o mais indicado pela literatura, o tratamento conservativo se mostrou eficaz no presente caso, uma vez que o animal

nao apresenta nenhuma alteração clinica. Entretanto o sucesso do tratamento depende do isenção do animal em praticar atividades fisica intensas.

5. CONCLUSÃO

Após a reavaliação do animal, conclui-se que mesmo tendo a remoção cirúrgica como principal indicação terapéutica, o tratamento conservativo se mostrou eficaz quanto a recuperação do animal. Não foi possível perceber aumento de volume da articulação, e não apresentou claudicação, tendo flexibilidade normal da mesma sem reação dolorosa, entendendo que o animal em questão, está isento de atividade física. Nos exames radiográficos da articulação metacarpofalângica, o processo de cicatrização, apresentou união óssea com discreto desalinhamento dos fragmentos, podendo gerar futuramente uma osteoartrite na articulação metacarpofalângica e uma nova fratura devido a união óssea fraca.

REFERÊNCIAS

ABREU, H. C.; CÔRTE, F. D.; BRASS, K. E.; POMPERMAYER, E.; LUZ, T. R. R.; LUZ, T. R. R.; GASPERI, D. Claudicação em cavalos Crioulos atletas. **Ciência Rural**, v. 41, n.12, p. 2114-2119, 2011.

BARREIRA, B. A.; FONSECA, M. P. A.; MONTEIRO, G. P. M. Estudo anatômico da articulação metacarpofalangeana de equinos. **Revista eletrônica Novo Enfoque**, v.15, edição especial, p. 54-61, 2012.

FRANÇA, M. V.; SOUTO, C. P.; SILVA, L. G.; GUIMARÃES, J. A.; DANTAS, A. C.; VAZ, B. B. D.; BRITO, J. E. Afecções do aparelho locomotor em equídeos: Levantamento de casos clínicos. XI | **Jornada de ensino, pesquisa e extensão – jepex** – UFRPE: Recife, 2013.

GETTY, R. **Sisson and Grossman: anatomia dos animais domésticos**. Quinta edição. Rio de Janeiro: Editora Guanaba Koogan, 2008.

I.C.V.G.A.N. **Nomina Anatomica Veterinária**. 5 ed. Zürich:ICVGAN, 2012.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia Veterinária**. Sexta edição. Barueri: Editora Manole Ltda, 2000.

MARANHÃO, R. P. A.; PALHARES, M. S.; MELO, U. P.; REZENDE, H. H. C.; BRAGA, C. E.; SILVA FILHO, J. M.; VASCONCELOS, M. N. F. Afecções mais frequentes do aparelho locomotor dos eqüídeos de tração no município de Belo Horizonte. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58, n.1, p.21-27, 2006

OLIVEIRA, A. R. P. S. **IRAP NO TRAMENTO DA OSTEOARTRITE EQUINA**. Porto, 2015. Relatório final de Mestrado em Medicina Veterinária – Universidade do Porto, Instituto de ciências biomédicas Abel Salazar.

PYLES, M. D. **Avaliação de parafusos bioabsorvíveis na reparação de fraturas experimentais de sesamóides proximais em equino**. 2003. 92 f. Dissertação. (Mestrado em Cirurgia de Grandes Animais). Curso de Medicina Veterinária - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 2003.

PYLES, M. D.; ALVES, A. G.; WATANABE, M. J.; PYLES, E. S. C. S.; THOMASSIAN, A.; HUSSNI, C. A.; NICOLETTI, J. L. M.; MONTEIRO, E. R. Avaliação de parafusos metálicos na reparação de fraturas experimentais de sesamóides proximais em eqüinos. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária** – Ed. 2, 2004.

PYLES, M. D.; ALVES, A. G.; WATANABE, M. J.; THOMASSIAN, A.; HUSSNI, C. A.; NICOLETTI, J. L. M. Parafusos bioabsorvíveis na reparação de fraturas de sesamóides proximais em equinos. **Ciência Rural**, v. 37, n. 5, p. 1367-1373, 2007.

ROCHA, F. J. M. **Osteoartrites em equinos**. Lisboa, 2008. Tese/Mestrado. Clínica de grandes animais, Curso de Medicina Veterinária – Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.

ROMÃO, R. Anatomia das extremidades distal de equídeos. **I Curso de podologia equina da universidade de Évora**, fev., 2005.

SERRÃO, M. R. P. **Patologia e Clínica de Equinos**. Évora, 2015. Tese/Mestrado. Departamento de Medicina Veterinária -Universidade de Évora, Escola de Ciências e Tecnologia.

SCHWARZBACH, V. S.; PAGLIOSA, G. M.; ROSCOE, M. P.; ALVES, G. E.S. Ligamento suspensório da articulação metacarpo/metatarso falangianas nos eqüinos: aspectos evolutivos, anatômicos, histofisiológicos e das afecções. **Ciência Rural**, v.38, n.4, p.1193-1198, jul, 2008.

STASHAK, T. S. **Claudicação em equinos**. Quinta edição. São Paulo: Editora Rocca, 2006.

INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO DE CINOMOSE E PARVOVIROSE CANINA NO HOSPITAL GARDINGO – MATIPÓ – MG

Acadêmicos: Brisa Miclos Piedade Valladares e João Roberto Sossai Filho

Orientadora: Vanessa Guedes Pereira

RESUMO: As infecções dos cães pelo vírus da Parvovirose e Cinomose canina são importantes causas de morbidade e de mortalidade em cães, principalmente em filhotes e o controle destas doenças só pode ser alcançado com a vacinação. O objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil epidemiológico da Cinomose e Parvovirose canina em animais atendidos no Hospital Escola da Faculdade Vértice - Univértix em Matipó-MG, buscando identificar fatores que influenciam na incidência destas doenças. Para isso, foi aplicado um questionário com 13 perguntas objetivas onde foram abordadas questões sobre vacinação, vermifugação e contato com outros animais. A vacinação, vermifugação e local de aplicação da vacina apresentou correlação positiva com a menor incidência da Cinomose e Parvovirose em cães até 5 anos de idade. Além disso, a aplicação por um Médico Veterinário, o exame físico prévio e o contato com animais vacinados também apresentaram correlação positiva com a menor incidência destas doenças em cães de até um ano de idade. Foram identificados fatores importantes que representam falhas vacinais e influenciam na correta imunização dos animais e, conseqüentemente, aumentam a incidência de cinomose e parvovirose canina.

PALAVRAS-CHAVE: Imunização; incidência; vacina; filhotes.

1. INTRODUÇÃO

A infecção dos cães pelo vírus da Parvovirose e Cinomose canina tem maior incidência em filhotes, produzindo grande mortalidade (RIKULA *et al.*, 2000; KAPIL *et al.*, 2008).

A Cinomose canina é causada pelo vírus da família Paramyxoviridae, gênero Morbilivírus (ORSINI & BONDAN, 2008), acometendo especialmente filhotes de 2 a 6 meses de idade. Mas também pode se manifestar em animais adultos, principalmente naqueles não vacinados, que não receberam colostro de uma cadela previamente imunizada, que foram submetidos a protocolos inadequados de vacinação, imunossuprimidos ou, ainda, naqueles que apresentaram histórico de contato com animais não vacinados (NELSON & COUTO, 2010);

A Parvovirose Canina é uma doença das mais conhecidas e das mais contagiosas entre os cães domésticos. Tem como agente etiológico o Parvovírus Canino, pertencente à família *Parvoviridae* (TRUYEN, 2006). O vírus sofreu mutações desde que foi primeiramente reconhecido, sendo que as cepas mais

recentemente reconhecidas podem ser mais patogênicas em alguns cães. Mesmo com o avanço das biotecnologias, a melhor forma de prevenção e controle é com uso de uma imunização eficiente (SOUZA, *et al.*, 2008; DE CRAMER *et al.*, 2011).

Apesar da vacinação ser o melhor método para redução do risco de aparecimento da cinomose e parvovirose (BORBA *et al.*, 2002), vários fatores podem promover a falha vacinal, como: problemas na aplicação, refrigeração incorreta, ineficácia da vacina, resposta imune antiviral inadequada, imunocomprometimento do cão por parasitas internos, estresse, anulação da vacina por anticorpos maternos (filhotes vacinados precocemente). Uma vez que esses fatores podem ocorrer com qualquer vacina quando não manejada corretamente, vale ressaltar a importância do médico veterinário para realização deste procedimento, sendo o único profissional apto para prevenir e impedir tais falhas (JOZWIK e FRIMUS, 2002; VAN DE BILT *et al.*, 2002; ABDELMAGID *et al.*, 2004).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil epidemiológico da Cinomose e Parvovirose canina em animais atendidos no Hospital Escola da Faculdade Vértice - Univértix em Matipó-MG, no período de 20 de Outubro de 2015 a 15 de Março de 2016, buscando identificar fatores que influenciam na incidência destas doenças.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Cinomose canina

O agente etiológico da cinomose é um RNA-vírus da família Paramyxoviridae, gênero Morbilivírus, fita simples, de simetria helicoidal e envelopada (GREENE & APPEL, 2006; ORSINI & BONDAN, 2008). Trata-se de um micro-organismo lábil, susceptível a temperaturas superiores a 50°C e 60°C por 30 minutos, e usualmente destruído por desinfetantes de uso rotineiro em hospitais, como éter, clorofórmio, formol, fenol e amônio quaternário (BARBOSA e PASSOS, 2008). Com isso o vírus persiste viável por mais tempo em ambiente seco e frio; resistindo por várias semanas em temperaturas entre 0 e 4°C (AMARAL, 2014).

O vírus da Cinomose Canina possui um amplo espectro de hospedeiros, sendo capaz de acometer diversas espécies de mamíferos (NORRIS *et al.*, 2006). Além dos cães, que servem como principal reservatório do vírus e fonte de infecção para outros animais, a cinomose pode ocorrer em outros membros da ordem

Carnívora (GREENE & APPEL, 2006). Além disso, esta afecção possui alta taxa de mortalidade, podendo chegar de 30% a 70%, ficando atrás apenas do vírus da raiva que tem a porcentagem de letalidade mais elevada (SWANGO, 1997; GREENE & APPEL, 2006).

A incidência é mais elevada em cães entre 60 e 90 dias de vida, período em que diminui a taxa de anticorpos maternos; no entanto, cães de até os dois anos de idade também são comumente afetados em função da não vacinação (CORREA & CORREA, 1992). Ainda, devido à alta virulência, o número de casos desta afecção aumentou nas últimas décadas, inclusive em populações de animais vacinados, ocasionando inúmeros surtos (MARTELLA *et al.*, 2008).

A morbidade da doença varia de 25% a 75% e a letalidade chega frequentemente de 50 à 90% dependendo da cepa viral. Entre os demais vírus que acometem os cães, apenas o vírus da raiva tem porcentagem de letalidade mais elevada do que o da cinomose (DIAS *et al.*, 2012).

Os sinais clínicos ocorrem em média sete dias após o primeiro contato com o agente e incluem: diarreia, febre, êmese, hiporexia, anorexia, tenesmo, secreção nasal, tosse, dispneia, apatia e ceratoconjuntivite seca (HEADLEY & GRAÇA, 2000; BRAUND, 2001; GREENE & APPEL, 2006). Dentre os sinais neurológicos, pode-se observar mioclonia, convulsão, rigidez cervical, hiperestesia, tremores musculares, paresia, paralisia, ataxia, mudanças comportamentais, depressão e desorientação (KOUTINAS *et al.*, 2002; NEGRÃO *et al.*, 2007).

2.2. Parvovirose canina

A Parvovirose Canina é outra afecção de extrema importância e de alta incidência na população canina. Tem como agente etiológico o Parvovírus Canino, pertencente à família *Parvoviridae*, muito resistente ao meio ambiente (PRATELLI *et al.*, 2001; TRUYEN, 2006).

Atualmente, existem duas cepas de parvovírus: o CPV tipo 1, sem importância clínica definida nas gastroenterites, e o CPV-2, que apresenta três subtipos: CPV2a, CPV2b, CPV2c, sendo o mais comum o CPV2b, que é o combatido nas vacinas (TRUYEN, 2006; DE CRAMER *et al.*, 2011). Pelo fato do parvovírus ser altamente mutagênico, a melhor forma de prevenção e controle é com o uso de imunização eficiente (CASTRO *et al.*, 2007; GAMA *et al.*, 2007).

A Parvovirose acomete em maior número os cães jovens em relação aos adultos, talvez pelo fato destes últimos serem mais resistentes em decorrência da imunidade adquirida (SOUZA, *et al.*, 2008). Os sinais clínicos são de rápido progresso e incluem, principalmente vômitos, diarreia (frequentemente hemorrágica) e rápida desidratação (DECARO *et al.*, 2005; STROTTMANN *et al.*, 2008) Por ser uma doença repentina e sem tratamento contra o vírus, é de extrema importância e quando não diagnosticada precocemente pode levar o cão a morte (BIRCHARD & SHERDING, 2003; CARVALHO & FERREIRA, 2004).

2.3. Imunidade passiva

A Vacinação das fêmeas antes do cio, mesmo que tenham sido anteriormente imunizadas é muito importante, pois poderá através da circulação transplacentária, transmitir os anticorpos maternos para os fetos, o que irá conferir a seus filhotes a imunidade passiva (SOUZA, 2008).

Além disso, após o parto, já na fase de aleitamento, tal imunidade materna será transmitida através do leite (principalmente o primeiro leite, chamado de colostro), prevenindo, então, os filhotes contra a doença, até que venham os mesmos atingir idade em que já possam também serem imunizados com a mesma vacina, adquirindo a imunidade adquirida (POVEY, 1986; CARVALHO e FERREIRA, 2004).

2.4. Imunidade ativa

O controle de doenças infecciosas como a cinomose e parvovirose canina pode ser alcançado principalmente através da vacinação (CHAPPUIS, 1995; DECARO *et al.*, 2005), por isso, este ainda é o melhor método para redução do risco do aparecimento dessas doenças. Além disso, a ausência de vacinação pode aumentar em torno de 100 vezes a ocorrência destas afecções numa população canina (BORBA *et al.*, 2002).

No entanto, o sucesso na imunização do animal depende de vários fatores como tipo de vacina, cepa viral, idade vacinal, saúde do animal (BIAZZONO, 2001; MARTINS, 2009). As diferenças individuais em animais vacinados também influenciam o sucesso de um programa de imunização tanto quanto o antígeno utilizado. A genética, nutrição, meio ambiente e situações de estresse são

importantes para o resultado da imunização. Esses fatores, individualmente ou em associação, podem influenciar a resposta do sistema imune e subsequentemente, o sucesso do programa de vacinação (RIKULA *et al.*, 2000).

Alguns tipos de vacinas que utilizam vírus vivo atenuado, na tentativa de estimular resposta imunológica mais expressiva, podem, no entanto, incitar o aparecimento da doença e a morte de animais. Ainda há casos de falha vacinal, que incluem desde problemas na aplicação, refrigeração incorreta, ineficácia da vacina, resposta imune antiviral inadequada, imunocomprometimento do cão por parasitas internos, estresse e anulação da vacina por anticorpos maternos (VAN DE BILT *et al.*, 2002; JOZWIK & FRIMUS, 2002).

A maioria das vacinas contra cinomose e parvovirose comercializadas atualmente é polivalente, o que, segundo Davies & Pidford (1991), compromete o desenvolvimento de uma adequada resposta imunológica. Estes autores sugeriram que vacinas com múltiplos componentes devem ser usadas com cautela, pois demonstraram que uma vacina contendo cinco antígenos diferentes, incluindo o da cinomose, promoveu menor título de anticorpos contra todos os antígenos, quando comparada a aplicação de uma vacina com quantidade menor de antígenos.

Também para Schultz (1995), quanto mais componentes são combinados em uma única vacina, maior será a interferência de um antígeno com outro. Neste caso, há competição entre as células apresentadoras de antígeno, podendo impedir que o animal responda normalmente a cada um deles.

Em contrapartida, a maior vantagem das vacinas polivalentes, além da segura imunização contra ambas as doenças, é a praticidade, pois permitem a imunização dos animais contra vários agentes na mesma aplicação (FLORES, 2007) A primeira dose da vacina polivalente é aplicada nos filhotes, por volta de 45-60 dias de vida, fase em que há baixa concentração dos anticorpos transmitidos pela mãe. Revacinações anuais são também recomendadas e necessárias, tanto aos filhotes quanto aos animais mais velhos susceptíveis de também virem a contrair a doença garantindo uma alta concentração de anticorpos durante toda vida do animal (CARVALHO & FERREIRA, 2004; SOUZA, 2008).

3. METODOLOGIA

Foi aplicado um questionário para os proprietários de cães atendidos no Hospital Veterinário UNIVÉRTIX, no Município de Matipó localizado na região da Zona da Mata em Minas Gerais, no período de 20 de Outubro de 2015 a 15 de Março de 2016.

Trata-se de um estudo observacional, do tipo seccional onde foi realizado um questionário com 13 perguntas objetivas, onde foram abordadas questões sobre vacinação, vermifugação, local (estabelecimento) em que o animal foi vacinado, aplicação da vacina por um Médico Veterinário, exame físico prévio, contato com animais vacinados, incluindo identificação do animal, esquema de vacinação e cuidados pré-imunização (ANEXO 1).

A fim de se obter informações sobre possíveis fatores de risco para Cinomose e Parvovirose. As perguntas foram lidas pelo entrevistador e, quando necessário, especificadas as alternativas para a resposta.

Os dados foram analisados no programa estatístico Sigma Plot 12.5, sendo os fatores de risco correlacionados com os casos de Cinomose e Parvovirose dos animais atendidos neste hospital, utilizando-se o Coeficiente de Correlação de Spearman, com nível de significância de 0,05.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram entrevistados 51 proprietários de cães, no período de 20 de Outubro de 2015 a 15 de Março de 2016, sendo que 33,3% dos cães atendidos apresentavam até um ano de idade, 35,3% de um a cinco anos de idade e 31,4% acima de cinco anos de idade. Destes animais, 13,7% da faixa etária de até um ano de idade, 5,8% de um a cinco anos, e 1,9% acima de cinco anos, já foram em algum momento da vida, diagnosticados com Cinomose ou Parvovirose (Figura 1 e Figura 2)

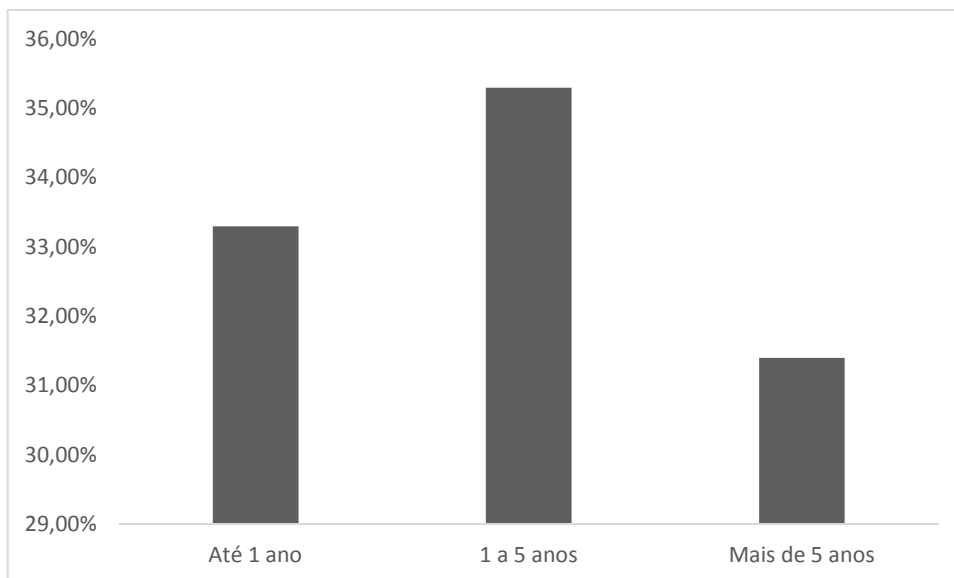


Figura 1: Idade dos animais atendidos no Hospital Escola Gardingo, Matipó, no período de 20 de Outubro de 2015 a 15 de Março de 2016.

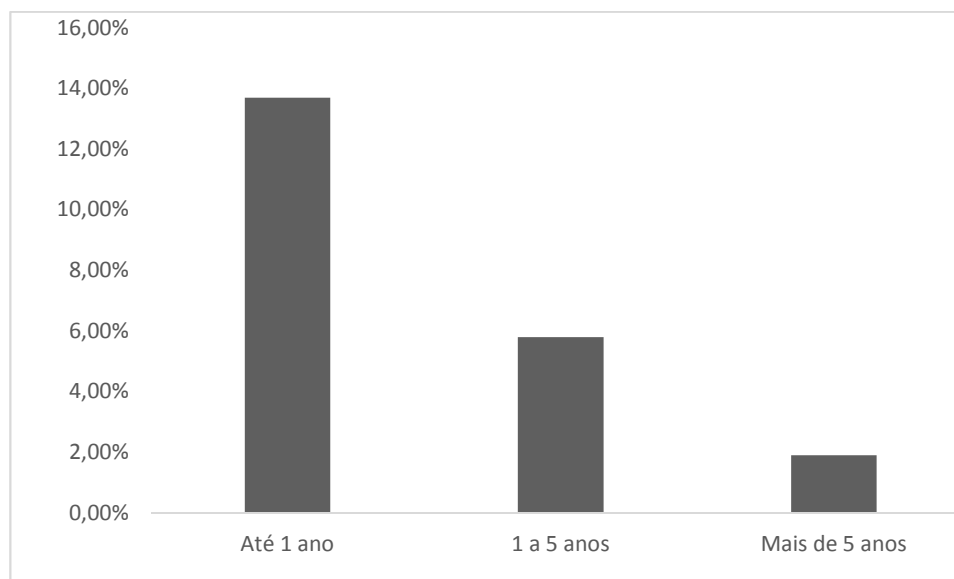


Figura 2: Prevalência de Cinomose e Parvovirose por idade em cães atendidos no Hospital Escola Gardingo, Matipó, no período de 20 de Outubro de 2015 a 15 de Março de 2016.

Neste estudo, em cães de até 1 ano de idade e de 1 à 5 anos, os parâmetros como a vacinação, a vermifugação antes da vacinação e o local de aplicação da vacina, apresentaram correlação positiva com a menor incidência da Cinomose e Parvovirose canina. Além disso, em animais de até 1 ano, a aplicação das vacinas por um Médico

Veterinário, o exame físico prévio, além do contato com cães vacinados, foram parâmetros significativos para a diminuição da incidência destas doenças nesta população (Tabela 1 e Tabela 2).

Tabela 1: Coeficiente de correlação e “valor p” de animais de até 1 ano atendidos no Hospital Escola Gardingo em Matipó – MG

Categorias	Coeficiente de correlação	Valor de p
Vacinação	0,553	0,0207
Vermifugação antes da vacinação	0,618	0,00811
Local de aplicação da vacina	0,7	0,00149
Aplicação por médico veterinário	0,883	0,0000002
Exame físico prévio	0,789	0,0000002
Contato com animais vacinados	0,648	0,00485

Tabela 2: Coeficiente de correlação e “valor p” de animais de um a cinco anos de idade atendidos no Hospital Escola Gardingo em Matipó – MG

Categorias	Coeficiente de correlação	Valor de p
Vacinação	0,478	0,044
Vermifugação antes da vacinação	0,598	0,00878
Local de aplicação da vacina	0,535	0,0223

Em cães de até 1 ano e de 1 a 5 anos de idade a não vacinação, apresentou correlação positiva com a alta incidência de cinomose e parvovirose canina. Este resultado pode ser explicado por essas afecções serem altamente contagiosas, principalmente em filhotes logo após desmame, entre 12 a 16 semanas de vida, fase em que diminui a taxa de anticorpos maternos. Além disso, cães de até 5 anos de idade são também comumente afetados, em decorrência da não vacinação anual destes animais e conseqüentemente diminuição do títulos de anticorpos circulantes (SOUZA, 2008).

O controle de enfermidades infecciosas como a cinomose e parvovirose canina pode ser realizado através da vacinação dos animais (CHAPPUIS, 1995; DECARO *et al.*, 2005; MARTINS, 2009). Entretanto, vários fatores relacionados às falhas vacinais podem comprometer a eficiência da imunização como problemas na aplicação, refrigeração incorreta, ineficácia da vacina e resposta imune antiviral inadequada (ETTINGER *et al.*, 2007).

Após o nascimento do filhote, a proteção contra os agentes infecciosos depende da imunidade materna e da quantidade de colostro ingerido pelo filhote, sendo o título de anticorpos de um filhote proporcional ao título de anticorpos de sua mãe (EK-KOMMONEN *et al.*, 1997; BIAZZONO *et al.*, 2001).

A vermifugação antes da vacina de cães de até 1 ano de vida e de 1 a 5 anos de idade também foi um fator significativo na diminuição de incidência de parvovirose e cinomose, visto que as infecções parasitárias acometem cães de todas as idades, mas usualmente são mais prevalentes em filhotes (RAMÍREZ-BARRIOS *et al.*, 2004). Recomenda-se a vermifugação prévia do animal para que haja a eliminação de endoparasitas, pois estes podem causar imunocomprometimento no animal, acarretando com isso, a falha vacinal e predispondo os animais à infecções por estes vírus (JOZWIK & FRIMUS, 2002).

Além disso, segundo Carvalho (2009) a primeira dose da vacina de cães que receberam o colostro deve ser realizada no 45º dia de vida do animal, logo após o desmame, por ser o período em que diminui a taxa de anticorpos maternos, pois resquícios da imunidade passiva interferem na vacinação dos animais.

A imunização completa é constituída por três doses vacinais, com o intervalo de 30 dias entre as doses, sendo que a não realização correta desses critérios, acarreta na diminuição da eficácia vacinal. Após a vacinação, em função da variação individual da resposta ao antígeno vacinal, mesmo naqueles animais em que não há mais interferência dos anticorpos derivados do colostro e considerando-se aqueles que, por diversos motivos, não são capazes de produzir uma imunidade mais duradoura, recomenda-se a revacinação anual para a adequada proteção (GREENE & APPEL, 2006). Por isso, após 12 meses da última dose vacinal, é necessário a revacinação do animal, pois nesta fase, o número de anticorpos diminui significativamente.

O local onde foi aplicada a vacina, incluindo hospitais e clínicas veterinárias, foi um fator significativo para a diminuição da incidência destas doenças em cães de até 5 anos de idade, o que pode estar relacionado a diminuição de erros de armazenamento, falhas na refrigeração e aplicação vacinal, pois estes são fatores importantes de falhas na imunização dos animais responsáveis pela ineficácia da vacina (APPEL, 1999).

Resultado diferente foi descrito por Monti (2004), que relata que não houve diferença na vacinação de cães em Clínicas Veterinárias e Lojas Agropecuárias, pois ambos mantiveram elevado título de anticorpos. No entanto, a autora destaca que os títulos de anticorpos são mantidos altos nos dois estabelecimentos, desde que sejam seguidos os protocolos de vacinação indicados na literatura. Além disso, neste mesmo trabalho não foi avaliado a vacinação para Parvovirose.

A aplicação da vacina por um Médico Veterinário foi um fator significativo para o controle de Cinomose e Parvovirose. A realização do exame físico completo do animal antes da vacinação é imprescindível, nele é possível identificar possíveis fatores de risco ao sucesso vacinal, como a incubação de alguma doença, hipotermia ou febre; animais com outras infecções, como *Ehrlichia canis* ou outras doenças debilitantes, que podem ocasionar uma resposta inadequada a vacinação (ABDELMAGID *et al.*, 2004; BOHM *et al.*, 2004; MOUZIN *et al.*, 2004).

Por isso o exame físico, parasitológico de fezes e a avaliação da necessidade de vacinas devem ser realizados por um Médico Veterinário, o único profissional capacitado para avaliar o estado de saúde do animal aumentando a probabilidade de uma imunização de sucesso (JOZWIK & FRIMUS, 2002; KLINGBORG *et al.*, 2002).

Em cães de até um ano de idade, o contato com cães vacinados também foi um fator significativo para a diminuição da incidência de Cinomose e Parvovirose. Durante o esquema de vacinação, deve-se evitar o contato com outros cães, no entanto, quando é inevitável, estes animais devem ser vacinados, visto que animais não vacinados tem alto potencial de obter e carrear tais vírus enquanto que animais imunizados apresentam menor risco de infecção (NELSON & COUTO, 2010).

Em animais acima de 5 anos não houve nenhum parâmetro significativo com a incidência de Cinomose e Parvovirose canina. Isto pode ser explicado pelo baixo número de animais diagnosticados com estas doenças, pois somente um animal nesta faixa etária foi confirmado o diagnóstico para estas afecções. A baixa prevalência destas doenças nesta faixa etária corrobora com o descrito por Headley e Graça (2000) que relata que apenas 6,4% dos cães diagnosticados com cinomose apresentavam idade acima de seis anos.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A vacinação, a vermifugação prévia do animal, o estabelecimento em que foi aplicada a vacina, a aplicação por um Médico Veterinário, o exame físico prévio e o contato com animais vacinados são fatores que diminuem a incidência de Cinomose e Parvovirose em cães de até um ano.

Em cães de um a cinco anos, a vacinação, a vermifugação e o local de aplicação da vacina são fatores que também diminuem a incidência dessas afecções.

REFERÊNCIAS

ABDELMAGID, O. Y.; LARSON, L.; PAYNE, L.; TUBBS, A.; WASMOEN, T.; SCHULTZ, R. Evaluation of the Efficacy and Duration of Immunity of a Canine Combination Vaccine Against Virulent Parvovirus, Infectious Canine Hepatitis Virus, and Distemper Virus Experimental Challenges. **Veterinary Therapeutics**, 2004, v.5, n.3, p.173-186

AMARAL, M. T. **Cinomose**. 2014. Disponível em:<<http://www.homeopatiaveterinaria.com.br/cinomose.htm>>. Acesso em: 18 de maio de 2016.

APPEL, M. J. G.; SUMMERS, B. A. Canine distemper: Current status. **International Veterinary Information Service**. 1999, p.68-72

BARBOSA, J. M.; PASSOS, R. F. B. Análise dos casos de cinomose no H. V. São Francisco de Assis da Faculdade Latino Americana. **Ensaio e Ciência: C. Biológicas, Agrárias e da Saúde**, 2008, v.XII, n.1, p.139-150.

BOHM, M.; THOMPSON, H.; WEIR, A. Serum antibodies titres to canine parvovirus, adenovirus and distemper virus in dogs in the UK which had not been vaccinated for at least three years. **Veterinary Record**., 2004, v.154, p.457-463.

BIAZZONO, L.; HAGIWARA, M. K.; CORRÊA, A. R. Avaliação da resposta imune humoral em cães jovens imunizados contra a cinomose com vacina de vírus atenuado. **Brazilian Journal of veterinary Research and animal Science** São Paulo, 2001, v.38, n.5, p.245-250

BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Clínica de Pequenos Animais**. 2. ed. São Paulo: Rocca, 2003.

BORBA, T. R.; MANNIGEL, R. C.; FRAPORTI, C. K.; HEADLEY, S. A.; SAITO, T. B. Cinomose: dados epidemiológicos Maringá – PR, (1998-2001). **Cesumar**, 2002, n.1, v.4, p.53-56, mar-jul.

BRAUND, K. G. **Clinical syndromes in veterinary neurology**. 2. ed. St. Louis: Mosby, p. 477, 1994.

CARVALHO, E. S.; FERREIRA, L. L. M. **Tratado de Infectologia**. 2º Ed., Rio de Janeiro: Atheneu, 2004. p.486-488.

CASTRO, T. X.; MIRANDA, S. C.; LABARTHE, N. V. Clinical and epidemiological aspects of canine parvovirus (CPV) enteritis in the State of Rio de Janeiro: 1995-2004. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2007, v.59, p.333-339.

CHAPPUIS, G. Control of canine distemper. **Veterinary Microbiology**, 1995, v.44, p.351-358

CORREA, W. M.; CORREA, C. M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992.

DAVIES, D. H.; PIDFORD, S. Vaccination of dogs with multi-component vaccines. **Australian Veterinary Journal**, v. 68, n.5, p. 183-184, 1991.

DE CRAMER, K. G. M.; STYLIANIDES, E.; VAN VUUREN, M. Efficacy of vaccination at 4 and 6 weeks in the control of canine parvovirus. **Veterinary Microbiology**. 2011 v.149, p.126–132

DECARO, N.; CAMPOLO, M.; DESARIO, C.; ELIA, G.; MARTELLA, V.; LORUSSO, E.; BUONAVOGLIA, C. Maternally-derived antibodies in pups and protection from canine parvovirus infection. **Biologicals**, 2005, v.33, p.261-267

DIAS, M. B. M. C.; LIMA, E. R.; FUKAHORI, F. L. P.; SILVA, V. C. L.; RÊGO, M. S. A. Cinomose Canina: Revisão de Literatura. **Medicina Veterinária**, v.6, n.4, p.32-40, 2012.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C.; ALTMAN, S. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**: enfermedades Del perro y el gato. 5º Ed. São Paulo: Elsevier, 2007.

EK-KOMMONEN, C.; SIHVONEN, L.; PEKKANEN, K.; RIKULA, U.; NUOTIO, L. Outbreak of canine distemper in vaccinated dogs in Finland. **Veterinary Record**. 1997, v.141, p.380-383

FLORES, Eduardo Furtado. **Virologia Veterinária**. Santa Maria: Editora da UFMS, 2007. 888p.

GAMA, F. G. V.; NISHIMORI, C. T.; SOBREIRA, M. R. Evaluation of electrophoretic profile and albumin quota in the cerebrospinal fluid of dogs with distemper showing or not nervous signs. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2007, v.59, p.77-80.

GREENE, C. E.; APPEL, M. J. Canine distemper. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3° ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2006. cap.3, p. 25-41.

HEADLEY S.A.; GRAÇA D.L. Canine Distemper: Epidemiological Findings of 250 cases. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, 2000, n.37, p. 136-140.

JOZWIK, A.; FRIMUS, T. Natural distemper in vaccinated and unvaccinated dogs in Warsaw. **Journal of Veterinary Medicine, series B**, 2002, v. 49, p.413-414.

KAPIL, S.; ALLISON, R. W.; JONHSTON, L.; MURRAY, B. L.; HOLLAND, S.; MEINKOTH, J.; JONHSON, B. 2008. Canine distemper virus strains circulating among North American dogs. **Clinical e Vaccine Immunology**. v.15, p.707-712.

KLINGBORG, D. J.; HUSTEAD, D. R.; CURRY-GALVIN, E. A.; GUMLEY, N. R.; HENRY, S. C.; BAIN, F. T.; PAUL, M. A.; BOOTHE, D. M.; SHAWN BLOOD, K.; HUXSOLL, D. L.; REYNOLDS, D. L.; RIDDELL JR, M. G.; REID, J. S.; SHORT, C. R. AVMA Council on Biologic and Therapeutic Agents' report on cat and dog vaccines. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 2002, v.221, n. 10, Nov.

KOUTINAS, A. F. *et al.* Relation of clinical signs to pathological changes in 19 cases of canine distemper encephalomyelitis. **Journal of Comparative Pathology**, 2002, v.126, n.1, p.47-56.

MARTELLA V.; ELIA G.; BUONAVOGLIA C. Canine distemper virus. **Clinicas Veterinaria da America do Norte: a Pratica de Pequenos Animais**. v.38, p.787-797, 2008.

MARTINS, D. B. **Cinomose Canina - Revisão de Literatura**. Santa Maria, 2009. Universidade Federal de Santa Maria

MONTI, F. S. **Anticorpos contra o vírus da cinomose em cães vacinados em diferentes estabelecimentos da área urbana do município de Viçosa/MG**. Viçosa, 2004. f.67. Tese. Pós- Graduação em Medicina Veterinária, Magister Scientiae. Universidade Federal de Viçosa

MOUZIN, D.E.; LORENZEN, M.J.; HAWORTH, J.D. *et al.* Duration of serologic response to five viral antigens in dogs. **J. Am. Journal of the American Veterinary Medical Association**, 2004, v.224, p.55-60.

NEGRÃO F. J.; ALFIERI A. A.; ALFIERI A. F. Avaliação da urina e de leucócitos como amostras biológicas para a detecção ante mortem do vírus da cinomose canina por RT-PCR em cães naturalmente infectados. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2007, n.59, p.253-257.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 4° Ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p 1304-1308

NORRIS, J. M.; KROCKENBERGER, M. B.; BAIRD, A. A.; KNUDSEN G. Canine distemper: re-emergence of an old enemy. **Australian Veterinary Journal**. 2006, v.84, p.362-363.

ORSINI, H.; BONDAN, E. F. Patogenia das lesões no sistema nervoso central (SNC) na cinomose canina. **Clínica Veterinária**, 2008, São Paulo, n. 74, p. 28-34, maio/jun.

POVEY, R. C. Distemper vaccination of dogs: factors which could cause vaccine failure. **Canadian Veterinary Journal of Hygiene**, 1986, v.27, p.321-323.

PRATELLI, A.; CAVALLI, A.; MARTELLA, V. Canine parvovirus (CPV) vaccination: comparison of neutralizing antibody responses in pups after inoculation with CPV2 or CPV2b modified live virus vaccine. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, 2001, v.3, p.612-615.

RAMIREZ-BARRIOS, A. R.; BARBOZA-MENA, G.; MUÑOZ, J.; ÂNGULO-CUBILLÁN, F.; HERNÁNDEZ, E.; GONZÁLEZ, F.; ESCOLONA, F. **Prevalence of intestinal parasites in dogs under veterinary care in Maracaibo**, Venezuela. 2004, 2° ed, v.121, p.11-20

RIKULA, U.; NUOTIO, L.; SIHVONEN, L. Canine distemper virus neutralising antibodies in vaccinated dogs. **The Veterinary Record**, 2000, v. 18, p.598-603, 200.

SHULTZ, R.D . Vaccine Failure. In: Smith, C.A Are we vaccinating too much? **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 207, n. 4, p. 421-425, 1995.

SOUZA, J. M.; ZAPPA, V. Pavovirose Canina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. 2008, a.VI, n.11

STROTTMANN, D. M.; SCORTEGAGNA, G.; KREUTZ, L.C.; BARCELLOS, L. J. G.; FRANDOLOSO, R.; ANZILIERO, D. Diagnóstico e estudo sorológico da infecção pelo parvovírus canino em cães de Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, 2008, v.38, n.2, p.400-405, mar-abr

SWANGO, L. J.; ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**: moléstias do cão e do gato. 1997, v.4, p.573-588

TRUYEN, U. Evolution of Canine Parvovirus – A need for new vaccines? **Veterinary Microbiology**, 2006, v.117, n.1, p.9-13.

VAN DE BILDT, M. W. G.; KUIKEN, T.; VISEE, A. M.; LEMA, S.; FITZJOHN, T. R.; OSTERHAUS A. D. M. E. Distemper outbreak and its effect on African wild dog conservation. **Emerging Infectious Diseases**, 2002, v.8, n.2, p. 211-213

ANEXO

Questionário de Trabalho de Conclusão de Curso

Professoras responsáveis: Vanessa Guedes Pereira e Letícia Ferreira da Silva

1) Qual a idade do seu animal?

--

2) Qual a raça do seu animal?

--

3) Seu animal foi vacinado com vacina polivalente?

SIM	NAO

4) Quantas doses seu animal tomou quando filhote?

UMA	DUAS	TRES

5) Seu animal recebe esta mesma vacina anualmente?

SIM	NAO

6) Seu animal foi vermifugado antes ou depois da vacina?

ANTES	DEPOIS

7) Onde seu animal foi vacinado?

Clínica/ Hospital Veterinário	Casa agropecuária	Em casa

8) Quem vacinou seu cachorro foi um médico veterinário.

SIM	NÃO

9) Seu animal foi examinado antes de receber a vacina?

SIM	NÃO

10) Seu animal teve contato com outros cães durante o esquema de vacinação?

SIM	NAO

11) Esses animais eram vacinados?

SIM	NÃO

12) Seu animal já foi diagnosticado com Cinomose ou Parvovirose?

SIM	NAO

13) Seu animal já apresentou algum dos sintomas descritos abaixo?

Corrimento nasal	
Corrimento ocular	
Diarreia	
Vômito	
Sinal neurológico	

LAMINITE DECORRENTE DE SÍNDROME CÓLICA EM EQUINO – RELATO DE CASO

Acadêmicas: Davyla Mystica Magalhães do Carmo e Simony Mendes Costa

Orientador: Bruno Santos Cândido de Andrade

RESUMO

Grandes são as perdas econômicas envolvendo a ocorrência de afecções em equinos, devido os custos muitas vezes onerosos para seu tratamento. A cólica e a Laminite são frequentes, causando invalidez e/ou morte dos animais em alguns casos. O presente trabalho tem o objetivo de relatar um caso de um equino quarto de milha, 3 anos e 10 meses, 518kg referenciado ao Hospital Escola Univértix e tratado cirurgicamente devido síndrome cólica, que no pós-cirúrgico desenvolveu laminite. O animal apresentava sinais de cólica persistentes há 4 dias, a suspeita diagnóstica do animal foi síndrome cólica por encarceramento do colón maior no ligamento nefroesplênico então o animal foi submetido a laparotomia exploratória. Durante o pós-operatório o animal foi tratado com penicilina, gentamicina, dimetilsufóxido, flunexina meglumina, heparina, meloxicam, também foi realizado a crioterapia preventiva de 48 horas. A crioterapia tem um grande valor no pós-operatório de síndrome cólica, como método de prevenir a laminite. Após a crioterapia o animal apresentou claudicação, chegou ao diagnóstico de laminite aguda, foi tratado com firocoxib, acepromazina e ácido acetil-salicílico, foi realizado a trepanação do casco e o ferrageamento terapêutico. Após 24 dias de tratamento o animal teve alta, podendo retornar a suas atividades seis meses após.

PALAVRAS-CHAVE: Endotoxemia, Pós-operatório, Laminite, Cólica, Equino.

1. INTRODUÇÃO

Existe um aumento nas atividades econômicas envolvendo os equídeos, e uma grande valorização dos animais, com o aumento dessas atividades busca-se diminuir as perdas diretas, como morte dos animais ou indiretas, como queda de desempenho e produção (PIEREZAN, 2009). O efetivo de equídeos no Brasil é representado pelos equinos com 5,514 milhões de cabeças, pelos asininos com 1,002 milhão de cabeças e pelas 1,277 milhões de cabeças de muares, a população apresenta-se estável nos últimos anos (EMBRAPA, 2010).

Com o intuito de diminuir as perdas nessa área é importante conhecer as patologias que acometem os equídeos (PIEREZAN, 2009). A síndrome cólica é muito frequente e causa grandes prejuízos econômicos, pois acarreta um custo elevado com o tratamento e pode causar a morte dos animais (PESSOA *et al.*, 2012;

OLIVEIRA *et al.*, 2014; BUSCH, 2009), bem como levar ao desenvolvimento de patologias secundárias como, por exemplo, a laminite que pode em casos mais graves causar invalidez e até mesmo óbito do animal (BUSCH, 2009; D'ARPE, 2010).

A síndrome cólica equina preocupa todos que lidam com esta espécie e, mesmo com todos os avanços científicos para obter sua resolução, ainda é um dos problemas que mais causam mortes dos animais (MORA, 2009). Animais com síndrome cólica podem desenvolver distúrbios metabólicos que levam a toxemia ou septicemia, sendo esses fatores predisponentes de laminite (BUSCH, 2009).

Este trabalho tem por objetivo relatar um caso de um equino atendido no Hospital Escola Univértix com queixa principal de síndrome cólica, que foi submetido à laparotomia exploratória, e apresentou laminite no seu pós-cirúrgico.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 SÍNDROME CÓLICA EQUINA

2.1.1 DEFINIÇÃO

Por definição a cólica é apenas uma dor abdominal, porém para os médicos veterinários de equinos a cólica descreve sinais comportamentais associados a essa dor, ou seja, um conjunto de sintomas e sinais, sendo, portanto denominada síndrome cólica (MORA, 2009). A maior parte da dor abdominal é causada por distúrbios digestivos, sendo causada em menor incidência por distúrbios em outros órgãos do abdômen (MACHADO, 2011). A dor de maneira geral é causada pelo aumento de pressão na luz intestinal, de alteração da posição das alças e até mesmo das alterações inflamatórias do sistema digestivo (MACHADO, 2011).

2.1.2 EPIDEMIOLOGIA

Cerca de 10% a 36% da população de equinos é acometida anualmente (MORA, 2009). Dentre os animais acometidos com síndrome cólica aproximadamente 15% são reincidentes (WHITE II, 2006). Mesmo havendo grande incidência de síndrome cólica, apenas 2% dos casos têm necessidade de tratamento cirúrgico (FREEMAN, 2005). Mesmo com o baixo índice de quadros cirúrgicos, o tratamento da cólica continua sendo um desafio, pelo simples fato que uma cólica

tratada de forma incorreta pode ocasionar a piora do quadro, o que piora o prognóstico do animal (LEHUBY, 2011).

Dentre todas as apresentações de desconforto abdominal, as cólicas obstrutivas têm sido a maior causadora de internações e óbitos em equinos (FALEIROS *et al.*, 2007).

2.1.3 FATORES PREDISPONETES

O equino apresenta particularidades do aparelho digestivo que predispõe a manifestação da síndrome cólica, tais como a incapacidade de regurgitar (FERNANDES, 2009; PEIRÓ e MENDES, 2004), devido à ausência do centro do vômito no sistema nervoso central e a musculatura bem desenvolvida do cárdia, a diminuição do diâmetro do lume dos segmentos intestinais que favorece o acúmulo de alimentos (PEIRÓ e MENDES, 2004).

Fatores externos também estão relacionados ao desencadeamento da síndrome cólica, sendo eles mudanças abruptas no manejo, atividade física ou na dieta do animal (DI FILIPPO, 2010).

2.1.4 SINAIS CLÍNICOS

A síndrome cólica pode se manifestar por uma simples inquietação até sinais de dor intensa. Devido a grande ocorrência dessa síndrome a maioria das pessoas que lidam com equinos é capacitada para identificar seu início. O animal apresenta inquietação ou depressão, rola pelo chão, raspa o chão com muita frequência, permanece deitado por longos períodos, tem o hábito de olhar para o flanco e de escoicear o abdômen, apresenta diarreia, sudorese, perda de apetite, apresenta frequentemente o posicionamento de defecar e urinar, e não realiza o mesmo (MORA, 2009).

2.1.5 CLASSIFICAÇÕES

É importante que a classificação seja bem feita, isso é imprescindível para um tratamento eficiente (MORA, 2009). A síndrome cólica pode ser considerada verdadeira quando originada de doenças no trato gastrointestinal e considerada

falsa síndrome cólica quando tem início em órgão não digestivo, como nos casos de nefrites, metrites, tumores abdominais, urolitíase, torções e contrações musculares uterinas, toxicose hepática, patologia renal primária, entre outros (MORA, 2009).

A síndrome cólica é classificada com base nas alterações morfofuncionais e nas lesões que ocorrem nas diferentes partes do trato gastrointestinal, podendo ser classificadas em: obstrução simples, obstrução estrangulativa, infartos não estrangulativos, infecções intestinais, enterites (GRAVENA, 2014; FERNANDES, 2009), colite, peritonite e ulceração.

2.1.6 DIAGNÓSTICO

A detecção do animal com síndrome cólica é importante, para o tratamento correto, identificando o tipo de síndrome cólica, através de exame físico completo e sistemático e com o auxílio de exames complementares (MORA, 2009). O diagnóstico rápido e preciso da origem da afecção no paciente é essencial para sua sobrevivência (CAMPELO e PICCININ, 2008).

O diagnóstico definitivo de qual síndrome cólica acomete cada animal, nem sempre é possível com base nos sinais clínicos, devido à grande semelhança (PEDROSA, 2008; FERNANDES, 2009). Para facilitar o diagnóstico o médico veterinário deve reunir informações no intuito de classificar a doença gastrointestinal de acordo com sua fisiopatologia, com essa classificação é possível decidir qual tratamento seguir (PEDROSA, 2008).

2.1.7 TRATAMENTO

O tratamento de cada caso de cólica depende da natureza e gravidade da lesão (PEDROSA, 2008), contudo existem alguns princípios no tratamento dos casos de cólica que são o alívio da dor, a correção e manutenção da hidratação e decompressão, sendo importante que a analgesia não mascare os sinais clínicos (PEDROSA, 2008; FERNANDES, 2009).

A escolha do método de tratamento da síndrome cólica não deve ser tomada considerando parâmetros isolados, deve levar em consideração todos os parâmetros e o estado físico do animal, por isso deve ser feito o exame completo no animal, para só assim fazer a escolha do tratamento adequado, sendo ele terapêutico ou

cirúrgico (WHITE II, 2006; WHITE II, 2009), é baseada também na experiência e conhecimento do médico veterinário (WHITE II, 2005b).

2.1.8 PROGNOSTICO

O prognóstico de cada animal acometido com síndrome cólica depende da sua condição geral, da localização e tipo das lesões (MORA, 2009), possíveis complicações e com a possibilidade de retorno precoce a suas atividades. É baseado nos dados do exame físico e o diagnóstico definitivo do animal (FERNANDES, 2009).

Determinar o prognóstico é um desafio, devido os diversos processos fisiopatológicos que estão envolvidos na origem da síndrome cólica (DUKTI e WHITE, 2009).

2.2 LAMINITE

2.2.1 DEFINIÇÃO

É uma doença perivascular periférica, que causa colapso da perfusão capilar levando a uma necrose isquêmica do tecido laminar (BUSCH, 2009). Está associada à separação do tecido laminar, levando a rotação ou afundamento da terceira falange distal, conseqüentemente a ruptura do casco (GRAVENA, 2014).

2.2.2 FATORES PREDISPOONENTES

A laminite pode estar relacionada à ingestão excessiva de grãos, doenças que causam toxemia/septicemia, apoio excessivo e prolongado no membro afetado, obesidade, induzida por drogas, entres outras (FERREIRA, 2008).

Vários mecanismos patogênicos da laminite ainda não estão completamente compreendidos (D'ARPE, 2010). As diversas fisiopatologias podem ser classificadas em teorias, sendo as principais a teoria vascular, a traumática, a enzimática e a de privação de glicose (BUSCH, 2009). A laminite é uma afecção que na maioria das vezes se desenvolve após um processo patológico sistêmico do organismo (BUSCH, 2009), por isso então é possível seu desenvolvimento após um quadro de síndrome cólica, porém não tem relação direta com o processo cirúrgico, e sim à presença de endotoxemia e choque séptico (MORA, 2009).

A relação entre a síndrome cólica e a laminite está ligada à resposta inflamatória do animal na origem das afecções, por isso deve-se entender a resposta inflamatória que ocorre no intestino e no tecido dérmico do animal (GRAVENA, 2014). As alterações que acometem as estruturas laminares ocorrem devido à resposta inflamatória levando então a laminite (GEOR E FRANK, 2009). A integridade da mucosa do trato gastrointestinal tem um papel muito importante, pois impede o acesso de bactérias e toxinas a circulação sanguínea (FERNANDES, 2009).

2.2.3 SINAIS CLÍNICOS

Três estágios são descritos na laminite, sendo eles a fase de desenvolvimento, a aguda e a crônica. A fase de desenvolvimento se inicia quando o animal tem contato com a injúria, ocorre antes do aparecimento dos primeiros sinais clínicos. A fase aguda é caracterizada quando o animal inicia os primeiros sinais de claudicação e dor, e dura aproximadamente 72 horas ou até o animal apresentar separação laminar, quando isso acontece se inicia a fase crônica (FRALEY, 2007).

O tratamento geralmente se inicia nos primeiros sinais de claudicação, com a intenção de evitar maiores danos às estruturas do casco (BUSCH, 2009).

O animal com laminite apresenta pulso digital aumentado, cascos quentes, claudicação (MORA, 2009; BUSCH, 2009), “aspecto de pisar em ovos”, sensibilidade ao pinçamento do casco e relutância ao se movimentar (BUSCH, 2009), na laminite crônica o animal apresenta claudicação muito evidente, dor severa e apresenta alteração na conformação do casco (REIS, 2014).

2.2.4 CLASSIFICAÇÃO DO GRAU DE CLAUDICAÇÃO

A claudicação pela laminite pode ser classificada em 4 graus, grau 1 o animal apresenta claudicação discreta e alterna o apoio constantemente; grau 2 se movimenta ao passo com ligeira relutância, o animal ainda permite elevação dos membros; grau 3 apresenta relutância em se movimentar e desloca o peso dos membros afetados para os membros saudáveis, para aliviar a pressão no membro lesionado, apresenta claudicação evidente e resiste a tentativa de elevar os membros; grau 4 o animal só movimenta quando forçado e com grande dificuldade,

com isso fica durante um longo período em decúbito (BUSCH, 2009; FERREIRA, 2008).

2.2.5 DIAGNOSTICO

O diagnóstico da laminite se baseia na anamnese, nos sinais clínicos e exames complementares de raio-x (MAGALHÃES, 2014).

2.2.6 TRATAMENTO

O que influencia a recuperação em um quadro de laminite é a extensão e a gravidade do processo inflamatório. Quando a laminite é uma consequência secundária se utiliza uma terapia específica para o quadro inicial, com a intenção de diminuir a duração e a gravidade da causa primária, causando danos menores ao tecido laminar (PREVIATTI *et al.*, 2012).

A indução de vasoconstricção digital é uma forma de prevenir o desenvolvimento da laminite ou amenizar seus danos, essa vasoconstricção pode ser obtida com o membro afetado em solução de água e gelo, é considerado um método seguro. O período de imersão depende da resposta vasodilatadora digital e do período de choque séptico, a imersão pode persistir enquanto o animal apresentar choque e até atingir a vasoconstricção desejada (POLLITTI, 2007). A crioterapia visa diminuir a atividade metabólica, o que reduz a gravidades das lesões laminares (PREVIATTI *et al.*, 2012), isso acontece devido a diminuição da perfusão dos tecidos moles presente no casco do animal (POLLITTI, 2007). O profundo efeito hipometabólico é o mecanismo mais importante para limitar a gravidade da lesão, isso acontece devido à taxa metabólica e consumo de oxigênio que são inversamente proporcionais a temperatura (BUSCH, 2009).

O tratamento da laminite deve ser feito imediatamente com terapia medicamentosa e terapia suporte para a terceira falange, sempre deve-se tratar a causa primária e minimizar a dor e a inflamação com o uso de anti-inflamatórios não esteroidais (BUSCH, 2009).

Para o tratamento eficaz da laminite deve-se reduzir as forças mecânicas exercidas e estabilizar a falange distal, para isso os animais afetados não devem ser exercitados para que se consiga diminuir a força mecânica, evitando assim a ruptura das lâminas. O tratamento eficaz dos cascos pode prevenir maiores problemas ao

animal, poupando o enfraquecimento e melhorando os resultados. Devem ser tomados cuidados com a rasilha evitando o excesso de pressão na sola (BUSCH, 2009). A ferradura é projetada para produzir pressão na rasilha, suportando então a falange e evitando a pressão na sola, deve ser colocada cobrindo dois terços do comprimento da rasilha (PREVIATTI *et al.*, 2012).

3. RELATO DE CASO

No dia 23 de março de 2015 foi atendido no Hospital Escola Veterinário Gardingo LTDA, um equino da raça quarto de milha de 3 anos e 10 meses, pesando 518 kg. Na anamnese o proprietário informou que o animal vivia em baia, e era alimentado com rao concentrada e feno, relatou que o animal havia iniciado um quadro de cólica há 4 dias, sendo tratado na propriedade com Soluo Fisiologia 0,9% endovenosa e administrao de Butilbrometo de Escopolamina e Flunixinina Meglumina. Como não houve melhora foi encaminhado ao Hospital Veterinário Univértix.

Ao exame físico o animal apresentou frequência cardiac a de 60bpm, frequência respiratória de 20mpm, temperatura retal 37,1°C, as mucosas oral e ocular se apresentavam congestas, o animal apresentava desidratao de 8% e o pulso estava filiforme.

a auscultao do abdomen o animal apresentou hipomotilidade intestinal em todos os quatro quadrantes, sem distensão abdominal evidente. à sondagem nasogástrica presença de refluxo de colorao acastanhada e sanguinolento, em pequena quantidade. Durante a palpao retal não foi observado distensão de alças, sendo que o braço transitava livre, verificando-se a ausência de fezes.

Foi realizado o hemograma no animal, que revelou uma leve hipocromia, porém não apresentou anemia; neutropenia com desvio a esquerda degenerativo; leucopenia, eosinopenia; linfopenia e monocitopenia (Tab. 1).

Tabela 1: Resultados do hemograma do equino, realizado no dia de chegada do animal.

Parâmetros avaliados	Resultado	Valores de Referência
Hemácias	9.26	5.3-13milhes/mm ³
Hemoglobina	125.00	108-150g/dL
Hematócrito	38.00	32-48%
V.C.M ¹	44.70	36-55fL
H.C.M ²	13.40	14-19pg
C.H.C.M ³	302.00	330-446g/dL
Proteínas totais	7.40	5.8-8.7g/dL
Leucócitos	2.800	5.000-11.000mil/mm ³

Bastonetes	1.120	0-280 mil/mm ³
Segmentados	560	2.100-9.100 mil/mm ³
Eosinófilos	0.00	35-1.540 mil/mm ³
Linfócitos	840	1.400-5.600 mil/mm ³
Basófilos	0.00	Raros
Monócitos	0.00	200-800 mil/mm ³
Plaquetas	223	95-660x10 ⁹ /L

OBS: Neutrófilos tóxicos e linfócitos reativos

¹Volume Corpuscular Médio ; ²Hemoglobina Corpuscular Média; ³ Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

Primeiramente optou-se pelo tratamento clínico, pois a suspeita diagnóstica inicial foi de enterocolite, então o animal foi tratado com fluidoterapia parenteral e enteral, e fez-se uso de procinéticos.

Foi realizado exame ultrassonográfico trans-abdominal, sendo possível atestar anormalidade da espessura da parede do colón dorsal direito, funcionamento normal do duodeno, o rim direito foi localizado e tinha o aspecto normal, o rim esquerdo não foi identificado, sendo sugestivo de síndrome cólica por encarceramento do colón maior no ligamento nefroesplênico.

Com base nos achados do exame ultrassonográfico e devido o animal não ter apresentado melhora clínica após 12 horas do tratamento clínico instituído, foi encaminhado à cirurgia.

Foi feita paracentese para análise, onde se observou líquido peritoneal de coloração avermelhada e densidade de 1.015, proteínas totais 3.4 g/dl, no exame citológico apresentou contagem total de células nucleadas 17.650 cels. μ L, 50% de neutrófilos, 45% de linfócitos, 5% de macrófagos. Presença de cocos no citoplasma de neutrófilos.

Ao exame físico pré-anestésico o animal apresentava frequência cardíaca de 36bpm, frequência respiratória de 18mpm, temperatura retal de 37°C, mucosas hipercoradas.

A medicação pré-anestésica foi feita com Detomidina, 0,02 mg/kg IV; a indução anestésica Éter Gliceril Guaiacol 50g diluídos em 1000ml de soro Glicose 5% IV e quetamina 2mg/kg IV; para a manutenção foi utilizado Isoflurano. O procedimento foi realizado em decúbito dorsal, realizou-se a tricotomia ampla na região abdominal, iniciou a celiotomia exploratória com incisão da pele e da linha média ventral, após a abertura da cavidade abdominal foi identificado o encarceramento de cólon maior no ligamento nefroesplênico, após a identificação do encarceramento foi realizado a enterotomia devido o colón do animal se encontrar

compactado, após a lavagem do colón e descompactação as alças intestinais foram reposicionadas.

Após o procedimento foi realizado o fechamento da cavidade abdominal, onde a musculatura foi suturada com padrão simples contínuo, utilizando fio de nylon 0,80. O subcutâneo foi reduzido com padrão simples contínuo com fio Ácido Poliglicólico 2-0. A dermorrafia foi realizada com sutura de Colchoeiro, com fio nylon 0.

Após a cirurgia foi realizado a crioterapia preventiva por 48 horas. Foi realizado bólus de 1,3mg/kg de lidocaína 2% em um litro de soro Ringer com Lactato durante uma hora, após isso foi feita infusão contínua de 2L/h de soro Ringer com Lactato durante 24 horas, acrescido de 0,05mg/kg/min de Lidocaína 2%, 20 ml de cálcio e 0,03mg/kg/h de cloreto de potássio 19,1%.

No pós - operatório foi utilizado

- Penicilina: 22000UI/kg IM BID por 6 dias
- Gentamicina: 6,6mg/kg IV SID por 6 dias
- Dimetilsufóxido: 100 ml diluído em soro Ringer com Lactato a 10% IV, SID durante 2 dias
- Flunexin Meglumine: 0,25mg/kg IV TID por 3 dias
- Heparina: 50UI/kg SC TID por 3 dias
- Meloxicam: 0,6mg/kg 15 ml IV SID por 5 dias

Após a cirurgia foi realizada a limpeza da ferida cirúrgica diariamente com solução de Clorexidine e gaze. O animal foi submetido a um jejum hídrico de 12 horas e um jejum alimentar de 24 horas. Após o jejum alimentar foi fornecido pequena quantidades de feno umedecido. A retirada dos pontos ocorreu 14 dias após o procedimento cirúrgico.

No segundo dia de internação foi solicitado um novo hemograma, que revelou uma leve hipocromia, porém não apresentou anemia; neutropenia com desvio a esquerda degenerativo; leucopenia e monocitopenia (Tab.2).

Tabela 2: Resultados do hemograma do equino.

Parâmetros avaliados	Resultado	Valores de Referência
Hemácias	7.81	5.3-13milhões/mm ³
Hemoglobina	110.00	108-150g/dL
Hematócrito	33.00	32-48%
V.C.M ¹	45.50	36-55fL
H.C.M ²	14.00	14-19pg
C.H.C.M ³	310.00	330-446g/dL

Proteínas totais	6.20	5.8-8.7g/dL
Leucócitos	4400.00	5.000-11.000mil/mm ³
Bastonetes	444	0-280 mil/mm ³
Segmentados	1.892	2.100-9.100 mil/mm ³
Eosinófilos	44	35-1.540 mil/mm ³
Linfócitos	1.848	1.400-5.600 mil/mm ³
Basófilos	0.00	Raros
Monócitos	176	200-800 mil/mm ³
Plaquetas	205	95-660x10 ⁹ /L

OBS: Neutrófilos tóxicos. Linfócitos atípicos e reativos.

¹Volume Corpuscular Médio ; ²Hemoglobina Corpuscular Média; ³ Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

Após a retirada do animal do gelo, observou-se relutância em se locomover e claudicação grau 01 dos membros torácicos. Ao exame clínico, verificou-se aumento do pulso da artéria digital, e resposta positiva ao estímulo do pinçamento dos cascos. Através dos sinais clínicos, resultado do exame físico, exame de raio-x e com o quadro de síndrome cólica que é um grande fator predisponente, o animal foi diagnosticado com laminite aguda. No exame de raio-x do membro torácico esquerdo (Figura 1) o animal apresentou um ângulo de rotação de 5,45', enquanto no membro torácico direito (Figura 2) 5,35'.



Figura 1: Projeção lateromedial – Casco do membro anterior esquerdo. Exame realizado antes do procedimento de manejo de casco de animal com laminite. Grau de rotação de 5,45'



Figura 2: Projeção lateromedial – Casco do membro anterior direito. Exame realizado antes do procedimento de manejo de casco de animal com laminite. Grau de rotação de 5,35'

Foi realizada a trepanação do casco para promover decompressão proveniente do edema instalado nas laminas dérmicas, e utilização de tamanco de madeira, com o rolamento da pinça iniciado propositalmente com o ápice da falange distal, para diminuir as forças de tensão do tendão flexor digital profundo, evitando que a falange tenha uma rotação maior.

O tratamento instituído na fase aguda da laminite foi:

- Firocoxib: 0,22mg/kg (½ comprimido de 227mg) VO BID por 10 dias
- Acepromazina 1%: 0,02mg/kg IV BID por 5 dias

- Ácido acetil-salicílico: 7,5g VO SID por 10 dias

Quinze dias após o ferrageamento, foi realizado um novo raio-x (Figura 3 e 4), neste novo exame o animal teve uma redução no ângulo de rotação onde o membro torácico esquerdo ainda apresentou 4,86' e o membro torácico direito 4,44'. O animal teve alta após 24 dias de tratamento no dia 17/04/2015, sem sinais evidentes de claudicação, podendo retornar às suas atividades 6 meses após esta data.



Figura 3: Projeção lateromedial – Casco do membro anterior esquerdo. Exame realizado após 15 dias do ferrageamento terapêutico. Grau de rotação de 4,86'.



Figura 4: Projeção lateromedial – Casco do membro anterior direito. Exame realizado após 15 dias do ferrageamento terapêutico. Grau de rotação de 4,44'.

4. DISCUSSÃO

No exame físico de animais com síndrome cólica, uns dos parâmetros de relevância, e que deve ser avaliado com atenção, é o aumento da FC, visto que possui correlação diretamente proporcional com a intensidade da dor (KELLER, 2015; ASSUMPÇÃO, 2008), fato que foi possível observar durante o tratamento do animal em estudo. Observações que corrobora também com Machado *et al.* (2011) que em um equino atendido no Hospital Veterinário da UNICRUZ, apresentava aumento da FC pela presença da dor proveniente da síndrome cólica, que foi diagnosticada posteriormente apresentando deslocamento de colón e ceco.

Ainda no exame físico, uma avaliação minuciosa das mucosas é necessária, pois demonstram para o clínico que o paciente esta apresentando quadros de

endotoxemia que podem ser constatados em casos da síndrome cólica que persiste por horas como também no pós-operatório, sinais que foram constatados no paciente atendido com presença de mucosas congestionadas e halo endotóxico. Segundo Gaughan (2006) e Moore (2006) mucosas congestionadas são indicativas de endotoxemia, muito presente em animais acometidos por enterite, Fernandes (2009), também relata que esta congestão está relacionada à endotoxemia.

De acordo com White II (2006), a presença ou ausência de refluxo nasogástrico tem grande correlação com a necessidade ou não de tratamento cirúrgico, devendo sempre levar em consideração qual o tipo de lesão existente, no animal em estudo a primeira suspeita diagnóstica foi de enterite onde mesmo com a presença de refluxo é recomendado o tratamento clínico.

Após o tratamento clínico com utilização de soros e substâncias procinéticas que desempenham funções de estimulação do peristaltismo, o paciente não respondeu ao tratamento, não restaurando a motilidade intestinal em sua integridade normal, permanecendo em quase todos os momentos em atonia intestinal principalmente, o que segundo White II (2005a) é um indicativo de uma necessidade de uma abordagem cirúrgica, o que pode ser observado também no trabalho de Machado *et al.* (2011), onde o animal não apresentava motilidade, sendo assim optando assim submeter o laparotomia exploratória.

A síndrome cólica possui grande potencial para desencadear alterações sistêmicas graves, como a laminite que tem sua fisiopatogenia mediada por transferência de bactérias e endotoxinas do lúmen intestinal para a corrente sanguínea, sendo responsáveis em desencadear uma resposta inflamatória exacerbada principiante nos cascos (FAGLIARI *et al.*, 2008). Segundo Belknap (2006), os sinais clínicos de laminite iniciam em média 2 dias após o início da toxemia bacteriana.

A crioterapia é muito utilizada como medida profilática em animais no pós-operatório, prevenindo a laminite ou reduzindo a gravidade da lesão que este animal possa ter, funcionando como diminuindo da via metabólica no casco, sendo que neste paciente a criopreservação não obteve êxito na prevenção da laminite. No entanto diversos autores relatam que essa técnica é utilizada e demonstra grande sucesso como relata Previatti (2012), que terapia aplicada na prevenção da laminite

em uma poltra atendida na Vetserra Clínica e Cirurgia de Equinos demonstrou eficaz.

A crioterapia foi utilizada por 48 horas e ao fim deste período, o paciente começou a apresentar sinais da laminite com desconfortos, dor ao ficar de pé, pequeno aumento do pulso da artéria digital, que são característicos de uma inflamação, os quais também foram encontrados e relatados por Ferreira (2008), em um animal atendido no SAME-Serviço Ambulatório Médico Veterinário de Equinos.

Após o diagnóstico de laminite aguda foi realizado o ferrageamento terapêutico, que segundo Prevati *et al.* (2012), promove a estabilização da terceira falange tendo um papel importante no tratamento da laminite. Esse mesmo procedimento foi realizado por Prevati *et al.* (2012), e em ambos os casos se obteve melhora.

Reis (2014) recomenda o uso de vasodilatadores, para melhorar a perfusão laminar, sendo que a vasoconstricção é o mecanismo mais aceito desencadeador da laminite. No animal atendido no Hospital Escola Univértix foi utilizado acepromazina, o que de acordo ainda com Reis deve ter sua dosagem e tempo de utilização avaliada de acordo com o pulso da artéria digital.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O animal retornou a suas atividades físicas, após os 6 meses de repouso. Com isso, conclui-se que o diagnóstico e tratamento realizados de forma correta e rápida, leva a um prognóstico favorável. Mesmo o animal tendo apresentado uma complicação no pós-cirúrgico de síndrome cólica, ele teve um prognóstico favorável, devido à laminite ter sido diagnosticada e tratada de forma eficiente ainda em sua fase aguda.

REFERÊNCIAS

ASSUMPÇÃO, A. E. - **Abordagem ao Abdome Agudo e Síndrome Dilatação/Torção Gástrica**. Rio Grande do Sul, 2001. 32 f. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina Veterinária.

BELKNAP, J.K. Treating and shipping the violent colic. In **North American Veterinary Conference Proceedings**, 2006, Ithaca, NY.

BUSCH, L. **Atualidades no Tratamento da Laminite em Equinos**. São Paulo, 2009. 18f. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

D'ARPE, L. The ice shoe to prevent and treat equine laminitis. In: **ESVOT CONGRESS**, 15, 2010, Bologna, Italia.

DI FILIPPO, P. A.; PEREIRA, R. N.; PEROTTA, J. H.; ALVES, A. E.; DIAS, D. P. M.; SANTANA, A. E. Estudo retrospectivo de 50 casos de cólica em equinos atendidos no hospital veterinário da FCAV-UNESP, no período de setembro de 2004 a julho de 2005. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 3, p. 689-694, 2010.

DUKTI, S.; WHITE, N. A. Prognosticating equine colic. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, 2009, v. 25, n.2, p.217-231.

CAMPELO, J.; PICCININ, A. Cólica Equina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina**. 2008, n.10

EMBRAPA. Produção da Pecuária Municipal. Rio de Janeiro, 2010. V.28, p. 1-65

FAGLIARI, J. J.; Silva, S. L.; Silva P. C.; Pereira G. T. Leucograma e teores plasmáticos de proteínas de fase aguda de eqüinos portadores de abdômen agudo e submetidos à laparotomia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.2, p. 322-328, 2008.

FALEIROS, R. R.; MACORIS, D. G.; ALVES, G. E. S.; SAQUETTI, C. H. C.; ALESSI, A. C. Avaliação Histomorfométrica e Ultra-estrutural da Mucosa do Cólon Menor Equino Submetido à Distensão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 9, p. 383-387, 2007.

FERNANDES, C. S. **Fatores de Prognóstico da Cólica em Equinos**. Lisboa, 2009. 96 f. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa- Faculdade de Medicina Veterinária.

FERREIRA, C. R. L. V. Laminites em equinos. Lisboa, 2008. 91 f. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa- Faculdade de Medicina Veterinária.

FRALEY, B. T. Treatment options for acute and chronic laminitis. In: **North American Veterinary Conference Proceedings**, 2007, Orlando, Florida, USA, 13-17 January.

FREEMAN, D. E. Economic consideration of the acute abdomen equine patient. In **Proceedings of the American Association of Equine Practitioners Focus Meeting** 2005, Québec, Canadá.

GEOR, R. J; FRANK, N. 2009. "Metabolic syndrome - From Human organ disease to laminar failure in equids" **Veterinary Immunology and Immunopathology** 129, 151-154

GAUGHAN, E. M. Evaluating horses with colic. In **Proceedings of the Latin American Veterinary Conference**, (2006) Lima, Perú, 29-30 September & 1-2 October.

GRAVENA, K. **Respostas Inflamatórias Sistêmicas, do Casco e do Colón Menor Submetido à Distensão em Equinos**. Jaboticabal, 2014. 76 f. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária. Faculdade de Ciência Agrárias.

KELLER, S. D. **Equine colic management**. BVSc MACVSc (Eq Surg). Disponível em: http://www.ava.com.au/sites/default/files/Equine%20Colic%20-%20Management_Stuart%20Keller.pdf. Acessado em maio de 2016.

LEHUBY, S. **Relevância do Exame Clínico Inicial de Cavalos com Cólica no Estabelecimento de um Diagnóstico Médico e na Determinação da Opção Terapêutica**. Lisboa. 2011. 109 f. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária.

MACHADO, R. R.; PREVIATTI, B. B.; BERNARDI, É. L.; REICHERT, C. R.; SCAPIN, L.; REOLON, M. MARTINS, D. B.; CARDONA, R. O. C.; SILVA, B. R. Síndrome Cólica em Equinos – Relato de Caso. In: **SEMINÁRIO INTERINSTITUCIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO**, 16, 2011, Rio Grande do Sul.

MAGALHÃES, J. F., LIMA, I. R.; LIMA, L. R.; VARELA, J. A. R. C.; VIEIRA, R. A. M., ALVES, G. E. S.; FALEIROS, R. R. Estudo da correlação de medidas radiográficas indicadoras de laminite em éguas da raça Mangalarga Marchador com e sem sinais de sobrepeso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.4, p. 1023-1032, 2014.

MORA, S. C. F. **Resolução Cirúrgica de Cólicas em Equinos - Critérios, Desenvolvimento e Pós-Operatório**. Lisboa, 2009. 88 f. Dissertação de Mestrado em Clínica e Cirurgia de Equinos. Universidade Técnica de Lisboa- Faculdade de Medicina Veterinária

MOORE, R. M. Diagnostic approach to colic in horses. In **Proceedings of the North American Veterinary Conference**, 2006, Orlando, Florida, 7-11 January.

OLIVEIRA, C. M. M.; RIBEIRO, I. B.; GADELHA, I. C. N.; CALADO, E. B.; PAULA, V. V.; BARRÊTO JUNIOR, R. A.; DIAS, R. V. C.; CÂMARA, A. C.; L. 2014. Cólica em Equídeos no Rio Grande do Norte: Estudo Retrospectivo dos Principais Achados Clínico-Epidemiológicos de 25 Casos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, n.4, p.290-294

PEDROSA, A. R. P. Á. Á. **Cólicas Em Equinos: Tratamento Médico vs Cirúrgico – Critérios de Decisão**. Lisboa. 2008. 102 f. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária.

PESSOA A. F. A.; MIRANDA NETO E.G.; PESSOA C. R. M.; SIMÕES S. V. D.; AZEVEDO S. S.; RIET-CORREA F. 2012. Abdômen agudo em equídeos no semiárido do Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.6, p.503-509.

PEIRÓ, J. R.; MENDES, L. C. Semiologia do sistema digestório eqüino: In: FEITOSA, F.L.F. Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico. São Paulo: Roca, 2004. p. 139-175.

PIEREZAN, F. **Prevalência das Doenças de Equinos no Rio Grande do Sul**. Santa Maria, 2009. 162 f. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Universidade Federal de Santa Maria- Centro de Ciências Rurais.

POLLITTI, C. C. **Laminits Medical Therapy**. 2007, capítulo 9.

PREVIATTI, B. B.; VASCONCELOS, A. W.; CARDONA, R. O. C.; GLOCK, A. J.; BERNARDI, É. L. Laminite - Relato de Caso. In: **SEMINÁRIO INTERINSTITUCIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO**, 17, 2012, Rio Grande do Sul.

RAGLE, C. A. Colic surgery of the small and large intestine – preoperative considerations and techniques. In: **the proceedings of the 9th International Congress of World Equine Veterinary Association**, 2006, Marrakech, Marrocos.

REIS, F. B. **Laminite em Equinos**. Porto Alegre, 2014. 36 f. Dissertação de Graduação em Medicina Veterinária. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

WHITE II, N. A. (2005a) Prognosis and strategies to prevent colic. In **Proceedings of the Focus Meeting of the American Association of Equine Practitioners**, 2005, Québec City, Québec, Canada.

WHITE II, N.A. (2005b). Equine colic: how to make the decision for surgery. In **Proceedings of the American Association of Equine Practitioners Focus Meeting**, 2005, Québec, Canada.

WHITE II, N. A. Equine colic. In **Proceedings of the 52th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners**, 2006, San Antonio, TX, USA, pp. 109-153.

WHITE II, N. A. Diagnosis of colic: decision for surgery. In **Proceedings of the 11th Annual Resort Symposium of the American Association of Equine Practitioners**, 2009, Gold Coast, Australia, 25-28 January.

ZIMMEL, D. N. How to manage pain and dehydration in horses with colic. In: **Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners**, 49, 2003, New Orleans, LA, USA

PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE ELISA PARA DETECÇÃO DAS INFECÇÕES POR *Neospora caninum* COM USO DO PEPTÍDEO RECOMBINANTE rSNcGRA1

Acadêmica: Janine Cavalcanti do Carmo

Orientador: Leandro Silva de Araújo

RESUMO

A neosporose é a principal doença causadora de abortos e perdas neonatais em bovinos de corte e de leite em todo o mundo. Atualmente é foco de estudos epidemiológicos e alvo da busca por métodos eficazes para diagnóstico. O presente trabalho teve por objetivo a padronização de teste ELISA para o diagnóstico sorológico de *Neospora caninum* utilizando peptídeo recombinante rSNcGRA1 como antígeno. O peptídeo recombinante foi desenhado com base na metodologia de genética reversa de epítomos antigênicos originados de uma proteína da organela de grânulo denso de *N. caninum*. Para a padronização do ELISA um pool proteico contendo o peptídeo foi testado em diferentes concentrações mediante diluições conhecidas de soros controle positivos e negativos. Os testes revelaram uma melhor reação quando utilizado antígeno na concentração de 0,5mg/ml e o soro diluído a 1:200. O presente trabalho então fornece suporte para realização de novos estudos sobre a utilização desse peptídeo recombinante no diagnóstico de neosporose.

PALAVRAS-CHAVE: Neosporose; aborto; diagnóstico sorológico; peptídeo recombinante.

1. INTRODUÇÃO

Neospora caninum é um parasito intracelular obrigatório, formador de cistos, capaz de infectar uma série de hospedeiros de interesse produtivo, principalmente ruminantes (BLANCO *et al.*, 2014). São capazes de provocar abortos, mortalidade neonatal e nascimento de bezerros com deficiências neuromusculares em bovinos, com o consequente impacto negativo sobre o desempenho reprodutivo dos rebanhos (DUBEY e LINDSAY, 1996; DUBEY, 1999, 2003).

A primeira evidência sorológica de infecção por *N. caninum* em bovinos no Brasil foi feita no ano 1996, no estado de São Paulo em bovinos de corte e leite com histórico de aborto (BLANCO *et al.*, 2014). A partir do primeiro isolamento de *N. caninum*, testes sorológicos como a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), teste de aglutinação e testes imunoenzimáticos foram desenvolvidos para o diagnóstico em cães, bovinos e outros animais hospedeiros potenciais (ATKINSON *et al.*, 2000).

Na epidemiologia da neosporose bovina, a transmissão vertical é reconhecida como a principal via para manter a infecção em bovinos, os bezerros são infectados pela via transplacentária em mães infectadas cronicamente, este mecanismo é altamente eficiente e permite o nascimento de bezerros clinicamente saudáveis, mas infectados. A doença é caracterizada por abortos, sendo o único sinal aparente da doença, podendo ocorrer entre o quinto e o sexto mês de gestação, embora possam se apresentar a partir do terceiro mês até o término da gestação (DUBEY & SCHARES, 2011; BLANCO *et al.* 2014).

Outra via de transmissão da infecção é a horizontal, na qual o cão, os coiotes, os lobos cinzentos e dingos australianos, que têm sido descritos como hospedeiros definitivos de *N. caninum*, aparecem como principais responsáveis pela excreção de oocistos nas fezes e, assim, contaminam a água e alimentos (DUBEY *et al.*, 2006, 2007).

As técnicas de imunodiagnóstico avaliam o contato do hospedeiro com o agente por meio da detecção de IgG, sendo as mais comuns a RIFI e o teste de imunoabsorção enzimática (ELISA). A primeira é uma técnica que pode ser considerada de leitura subjetiva, além de necessitar de equipamentos de alto custo (BLANCO *et al.*, 2014). A desvantagem do teste de ELISA é que os antígenos ainda não são produzidos no Brasil, limitando a execução do teste por causa do alto custo de importação (BLANCO *et al.*, 2014).

Tendo em vista a dificuldade de realização dos testes comerciais para diagnóstico da infecção por *N. caninum* em bovinos este trabalho teve como objetivo padronizar um teste sorológico de ELISA utilizando-se um antígeno recombinante baseado em uma proteína de superfície do parasita (NcGRA1).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 *Neospora caninum*

O parasito *N. caninum* possui estrutura celular típica de membros do filo Apicomplexa, classe Sporozoea, subclasse Coccidia, ordem Eucoccidia, subordem Eimeriina e família Sarcocystidae, junto com os gêneros *Toxoplasma*, *Sarcocystis*, *Hammondia*, *Besnoitia* (DUBEY *et al.*, 1988).

Os integrantes da família Sarcocystidae se caracterizam por apresentarem ciclo biológico heteroxeno e formarem cistos no hospedeiro intermediário. Todos

possuem hospedeiros intermediários de diferentes espécies de herbívoros ou onívoros e como hospedeiros definitivos, carnívoros. Os hospedeiros definitivos deste agente, eliminam pelas fezes oocistos não esporulados, os quais, depois de esporular no meio ambiente apresentam em seu interior dois esporocistos com quatro esporozoítos cada. Com destaque existem quatro espécies estreitamente relacionadas: *N. caninum*, *T. gondii*, *Hammondia hammondi* e *Hammondia heydorni*, cujos oocistos têm um tamanho similar. Entretanto, estas espécies apresentam diferenças tanto biológicas como estruturais que justificam a existência do gênero *Neospora*. Pode-se diferenciar esse gênero dos outros, por apresentarem diferente composição antigênica em provas sorológicas (DUBEY *et al.*, 2002).

O protozoário *N. caninum* se difere também quanto a ultra-estrutura dos cistos e taquizoítos. Ele apresenta uma parede cística mais espessa, e mais micronemas (SPERR *et al.*, 1999).

2.2 Ciclos Biológicos

Como foi mencionado anteriormente, ocorrem três estágios no ciclo biológico do *N. caninum*, o taquizoítos, o cisto com bradizoítos em seu interior e o oocisto. Os taquizoítos, responsáveis pela fase aguda da infecção, podem invadir uma grande variedade de tipos celulares no hospedeiro parasitado, incluindo macrófagos, neutrófilos, células nervosas, hepatócitos, fibroblastos, miócitos e células endoteliais dos vasos sanguíneos e renais. Nos cães infectados que apresentam quadros de paresia, os taquizoítos se encontram com frequência na musculatura esquelética, isolando-se facilmente do músculo quadríceps (DUBEY *et al.*, 1998).

N. caninum é um parasito intracelular obrigatório. Com cinco minutos de invasão, os taquizoítos conseguem penetrar no interior da célula em um vacúolo parasitóforo no citoplasma. Nesse vacúolo os taquizoítos se multiplicam mediante endodiogenia, podendo uma celular conter mais de 100 taquizoítos. Ao romperem a célula, os taquizoítos saem para o meio extracelular e em poucas horas iniciam o mecanismo de adesão e invasão de novas células. A destruição celular é a ocorrência de manifestações clínicas depende de um equilíbrio entre a habilidade do taquizoítos em penetrar e multiplicar-se na célula hospedeira e a habilidade do hospedeiro em inibir a multiplicação do parasito (HEMPHILL *et al.*, 1996).

A descoberta dos cistos teciduais com bradizoítos em seu interior, responsáveis pela fase crônica da infecção, foi de grande importância epidemiológica para compreensão do papel do hospedeiro intermediário. Esses são observados tanto em tecido nervoso de diversas espécies com infecções naturais e experimentais (DUBEY *et al.*, 1988; KOBAYASHI *et al.*, 2001), como no tecido muscular esquelético do cão e de bovinos com infecção natural (PETERS *et al.*, 2001).

2.3 Hospedeiros

Cães (*Canis lupus familiaris*), coiotes (*Canis latrans*), lobos cinzentos (*Canis lupus*) e dingos (*Canis lupus dingo*) foram confirmados como hospedeiros definitivos do coccídeo, eliminando oocistos em suas fezes (DONAHOE *et al.*, 2015). Dentre as espécies brasileiras pesquisadas, encontram-se resultados positivos para lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) (VITALIANO *et al.*, 2004), guaxaim do campo (*Lycalopex gymnocercus*) e o cachorro do mato (*Cerdocyon thous*) (CAÑON-FRANCO *et al.*, 2004).

Diversas espécies animais já foram descritas como hospedeiros intermediários do *N. caninum* entre eles bovinos (MELO *et al.*, 2005), caprinos (DUBEY *et al.*, 1996), búfalos (RODRIGUES *et al.*, 2004), galinhas (FURUTA *et al.*, 2007), gato doméstico (BRESCHIANE *et al.*, 2007), ovinos (ROMANELLI *et al.*, 2007) e equinos (VILLALOBOS *et al.*, 2006). Em animais silvestres, anticorpos anti-*N. caninum* já foram encontrados em alpacas (*Vicugna pacos*), lhamas (*Lama glama*), camelos (SADREBAZZAZ *et al.*, 2006), gambás e capivaras (YAI *et al.*, 2008)

2.4 Transmissão

A principal via de transmissão do parasito é a vertical, que assume papel primordial na manutenção da doença (YILDIZ *et al.*, 2009), pelo fato da maioria das infecções congênitas resultarem em animais clinicamente normais, mas persistentemente infectados. Ocorre via materno-fetal, pela placenta, podendo, esta infecção, ser recrudescente ou primária. Uma fêmea infectada pode transmitir a infecção ao feto por sucessivas gestações, contribuindo significativamente à persistência da infecção no rebanho e apresentar um ou mais abortos durante a sua vida reprodutiva, acarretando grandes perdas reprodutivas.

A transmissão horizontal ocorre quando os hospedeiros intermediários ingerem alimentos ou água contaminados com oocisto de *N. caninum*, liberados, principalmente, pelos cães (BASSO *et al.*, 2010). A transmissão horizontal foi comprovada por McALLISTER, *et al* (1998) quando confirmou a eliminação fecal de oocistos sem esporular em cães experimentalmente infectados com tecidos de camundongos contendo cisto de *N. caninum* e que esporulavam no ambiente transcorridas 48 a 72 horas.

2.5 Neosporose Bovina

Inicialmente a neosporose tinha sido descrita como uma enfermidade neuromuscular grave em cães. A descoberta do *N. caninum* como agente causal de aborto em bovinos de leite e de corte impulsionou o desenvolvimento dos primeiros estudos sobre essa doença nessa espécie. A neosporose é a principal causa de abortamentos em bovinos em numerosos países originando perdas econômicas significativas, incluindo custos diretos com alteração dos parâmetros reprodutivos e custos indiretos com diagnóstico, reposição dos animais que abortam. Não obstante, em alguns países, a informação é ainda escassa, os dados referem-se unicamente a descobertas esporádicas do agente etiológico, ou das lesões que o mesmo origina nos fetos abortados. São necessários, no entanto, mais estudos epidemiológicos que permitam conhecer a prevalência, os fatores de risco associados à real importância, tanto econômica quanto sanitária, da enfermidade (DUBEY, 1999; JENKINS *et al.*, 2002; GARCIA. D.P., 2005).

2.6 Diagnóstico

As técnicas de diagnósticos para a detecção de animais infectados com *N. caninum* são de importância para o entendimento dos aspectos epidemiológicos de neosporose. O diagnóstico pode ser por detecção parasitológica pós-morte, por histopatologia, imunohistoquímica ou por detecção de anticorpos específicos (HEMPHILL *et al.*, 2000).

O isolamento e cultivo *in vitro* de *N. caninum* conduziram ao desenvolvimento da prova de imunofluorescência indireta (RIFI) para o diagnóstico sorológico da neosporose (DUBEY *et al.*, 1988), e um ano mais tarde, LINDSAY & DUBEY (1989)

desenvolveram a prova de imunohistoquímica (IHQ) para a detecção do parasito em tecidos de animais infectados. GARCIA (2005) cita que o diagnóstico da neosporose é baseado na detecção de anticorpos específicos na população de bovinos adulta e na visualização de lesões características no cérebro, coração e fígado de fetos abortados, combinado com exames de IHQ de tecidos positivos e sorologia fetal.

O diagnóstico da neosporose em bovinos, segundo SILVA *et al* (2013), também pode ser realizado pelo método de ELISA, que apresenta maior especificidade e sensibilidade no diagnóstico sorológico de vacas infectadas por *N. caninum* quando comparados a RIFI (BJORKMAN *et al* .1999). Segundo SARTOR *et al* (2003), um fator favorável a isso consiste na automação existente na técnica de ELISA que praticamente elimina a interferência externa, a qual é responsável por erros como, por exemplo, os erros de leitura de uma lâmina. Ainda existem kits de testes ELISA que identificam anticorpos anti-*N. caninum* padronizados para bovinos (SILVA *et al.*, 2013).

2.7 Alvos proteicos

Atuais alvos proteicos tem se baseado predominantemente em proteínas recombinantes provenientes de componentes do protozoário expressas em diversos organismos. As proteínas são originárias de organelas, principalmente associadas com maquinaria de adesão/invasão como os antígenos de superfície componentes do micronema, proteínas de rópria, proteínas de grânulo denso e componentes da membrana do vacúolo parasitóforo (MONNEY e HEMPHILL, 2014).

Os grânulos densos são organelas globulares dispersas pelo citoplasma, que liberam proteínas (GRA) uma vez que o parasita encontra-se dentro do vacúolo parasitóforo, para alterar aquele ambiente interno de modo favorável à sobrevivência e multiplicação do agente. (NAM, 2009).

O rSNcGRA1 é um peptídeo sintético, que se origina de uma proteína de grânulo denso (NcGRA1) que é expressa no processo de transição de traquizoítos em bradizoítos de *N. caninum* . Este peptídeo foi construído utilizando-se a metodologia de genética reversa de epítomos antigênicos para obtenção de sequências de maior antigenicidade. As análises revelaram que a proteína é composta por 78 aminoácido, possui peso molecular teórico de 8,08 kDa e ponto isoelétrico de 4,3. Os peptídeos recombinantes apresentam alta sensibilidade e especificidade para o

diagnóstico, evitando muitas vezes a concorrência de reação cruzada. Comparando as 23 milhões de sequências de peptídeos, o rNcGRA1 apresentou 48% de similaridade com a proteína íntegra GRA1 e 50% de similaridade com *N. caninum*, cepa Liverpool sendo um peptídeo recombinante com capacidade de ser reconhecido pelos anticorpos de bovinos e ovinos infectados naturalmente. (PATARROYO *et al* 2013)

2.8 Controle

A realização de testes sorológicos nos animais é fundamental para avaliar o grau de infecção no rebanho e com isso realizar a prevenção da transmissão vertical e horizontal por *N. caninum* (PARÉ *et al.*, 1998; THURMON e HIETALA , 1995). A remoção de fetos abortados, placentas e natimortos do pasto, a minimização da contaminação da água e alimentos por cães, o impedimento da introdução de animais infectados no rebanho e o descarte dos animais infectados, podem ser consideradas medidas de prevenção (DUBEY, 2003).

2.9 Perdas econômicas

O total anual de custo de infecções/abortos por *N. caninum* foi estimado num espectro de uma média de US \$ 1,1 milhão na indústria de carne bovina na Nova Zelândia até uma média total de US \$ 546,3 milhões de impacto por ano na indústria de leite nos EUA. A estimativa média global, para o total das perdas relacionadas com *N. caninum* ultrapassou US \$1.298 bilhões por ano, variando em até US \$ 2,380 bilhões. Quase dois terços dos prejuízos incorridos para indústria de laticínios (US \$842.900 milhões). No Brasil, os custos associados à doença giram em torno de US \$200 milhões por ano (REICHEL *et al.*, 2013).

2.10 Prevalências do soropositivo para *N. caninum*

São numerosos os estudos de prevalência da infecção por *N. caninum* em bovinos adultos, nos quais obtiveram taxas de soroprevalência muito variadas. Além das diferentes técnicas empregadas para o diagnóstico utilizados, observam-se diferenças importantes entre as taxas de soropositividade obtidas em diversos países, em bovinos de leite e de corte e em animais com e sem antecedentes de

patologia abortiva. Segundo SAGER *et al* (2003) uma prevalência baixa de anticorpos anti-*N. caninum* é um indicador de aborto crescente.

Os primeiros relatos de infecção por *N. caninum* no Brasil foram feitos em 1996, em bovinos de corte e leite, com histórico de aborto. (BRAUTIGAN *et al.*, 1996; GODIN e SARTOR, 1997).No Brasil, a detecção de anticorpos para *N.caninum* tem sido descrita em bovinos leiteiros e de corte e quase todos os estados e em Minas Gerais, PITUCO *et al.*, (2001),relataram a frequência de anticorpos anti-*N.caninum* de 45%. Outros estudos mostraram prevalência de 18,6% (MELO *et al.*, 2005), 92,1% (GUEDES *et al.*, 2008) e 47% (SANTOS *et al.*, 2009) também no estado de Minas Gerais.

3. METODOLOGIA

3.1 Local de execução

Os testes foram realizados no Laboratório de Biologia e Controle de Hematozoários e Vetores, do BIOAGRO (Instituto de Biotecnologia Aplicada a Agropecuária) da Universidade Federal de Viçosa.

3.2 Quantificação proteica pelo método do Ácido Bicinconínico

A proteína recombinante fornecida pelo Prof. Joaquin H. Patarroyo, da Universidade Federal de Viçosa foi inicialmente quantificada pelo método colorimétrico de Ácido Bicinconínico.

Primeiramente foi preparada uma solução mãe de 2 mg/ml de albumina sérica bovina (BSA) como é demonstrada na Tabela 1. Com esta solução foram preparadas diluições com concentrações padrão para montagem de uma curva padrão. Em seguida foram pipetados 25µl de cada uma das soluções padrão de BSA para uma placa “multiwell” de 96 poços, em triplicatas. Foram usados 25µl de diluente para fazer o ponto zero da curva padrão. O mesmo volume das amostras a quantificar foi pipetado na placa, e adicionou-se o volume necessário de diluente para fazer 25 µl, também em triplicata.

Tabela 1: Soluções utilizadas para montagem da curva padrão com a albumina sérica bovina (BSA)

<i>Volume de BSA</i>	<i>Volume de Diluente</i>	<i>Concentração final de BSA</i>
100µl	0µl	2000µg/ml
75µl	25µl	1500µg/ml
50µl	50µl	1000µg/ml
50µl (A)	50µl	750µg/ml
50µl (B)	50µl	500µg/ml
50µl (D)	50µl	250µg/ml
50µl (E)	50µl	125µg/ml
20µl (F)	80µl	25µg/ml

Após adição de 200µl do reagente BCA; a placa foi incubada a 37 C durante 30 minutos. Passado este tempo foi deixada arrefecer e procedeu-se a mensuração das absorvâncias a 562nm. Com auxílio da curva padrão construída a partir das leituras das soluções padrão, representando num gráfico a Absorvância (562nm) de

cada uma das soluções padrão versus a sua concentração de proteína em $\mu\text{g/ml}$ foi possível determinar a concentração de proteína para cada uma das amostras.

3.3 ELISA indireto

O antígeno produzido de forma recombinante foi testado pela metodologia de ELISA indireto com soros bovinos positivos e negativos três amostras de cada respectivamente para *N. caninum* diagnosticados no laboratório TECSA.

As placas de ELISA foram sensibilizadas com uma solução de tampão carbonato pH 9,6 (0,159g Na_2CO_3 ; 0,293g NaHCO_3 ; H_2O deionizada q.s.p. 100mL), na qual um pool proteico contendo o antígeno foi diluído nas concentrações de 0,5; 1 e $2\mu\text{g/poço}$ e adsorvido a temperatura ambiente por uma hora, e posteriormente armazenada em geladeira por 12h. Decorrido este período, a placa foi lavada quatro vezes com tampão de lavagem (9,0g de NaCl ; 0,5mL Tween 20, H_2O ddq.s.p. 1000mL).

Posteriormente, foi adicionada a solução de bloqueio – caseína 2% em PBS pH 7,6 (4,25g NaCl ; 0,64g Na_2HPO_4 ; 0,068g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; H_2O deionizada q.s.p. 500mL) por uma hora à temperatura ambiente. Após o bloqueio foram repetidos os procedimentos de lavagem, seguidos de adição de $200\mu\text{l/poço}$ dos soros diluídos a 1;100 e 1:200 para cada concentração de antígeno testada, em tampão de incubação (87,5 mL de PBS pH 7,6; 12,5 mL de caseína 2% em PBS pH 7,6; $50\mu\text{L}$ de Tween 20), por incubação de duas horas à temperatura ambiente. As placas foram lavadas seis vezes com tampão de lavagem e procedeu-se a incubação, por duas horas, à temperatura ambiente, do anticorpo secundário (IgG de camundongo anti-IgG bovino conjugada com peroxidase). As placas foram lavadas seis vezes com tampão de lavagem e adicionou-se a solução reveladora no volume de $200\mu\text{L/poço}$, composta de 20mL de tampão substrato (7,19g Na_2HPO_4 , 5,19g ácido cítrico e H_2O deionizada Q q.s.p. 1000mL), 4mg de O. P. D. (θ -fenildiaminobenzeno) e $2,5\mu\text{L}$ de H_2O_2 , por um período de 20 minutos em local escuro, a 37°C .

A leitura foi realizada imediatamente após a última incubação em leitor de ELISA a 492nm. Para discriminar o ponto de corte entre positivo e negativo para a resposta sorológica mensurada no teste de ELISA, foi usada a adição de três desvios padrões à média dos controles negativos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A técnica de quantificação proteica utiliza a reação colorimétrica na mensuração de diferentes concentrações, que pode ser observada até mesmo a olho nu como na Figura 2, onde, quanto mais escura a reação, maior a concentração proteica. O método gerou um gráfico (Figura 3) em que, baseado em regressão linear obteve-se a equação da reta “ $y=1,9998x+0,4223$ ” onde Y representa a absorbância e os valores X a concentração da amostra. Obteve-se um $R^2= 0,8652$, o valor de R^2 representa o ajuste dos dados para confecção da reta, quanto mais próximo de 1, melhor o ajuste. O valor encontrado sugere a ocorrência de desvios entre as leituras do padrão, que podem ser decorrentes de erros de manipulação, pois o método utilizado, segundo SMITH *et al* (1985) apresenta excelente estabilidade à temperatura.

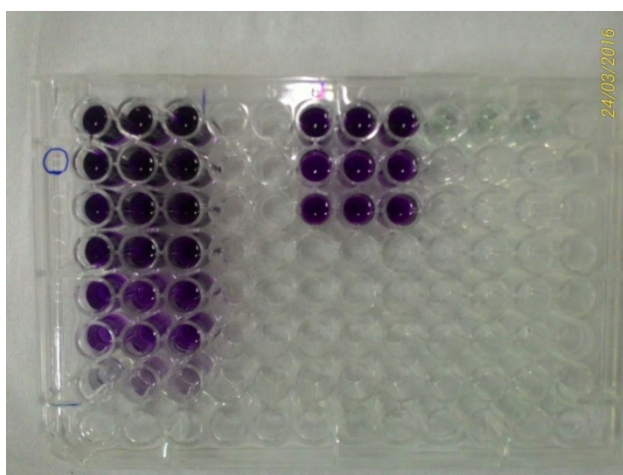


Figura 2: Demonstração colorimétrica das soluções padrão à esquerda e das amostras para quantificação proteica à direita, em triplicatas (houve repetição de uma amostra).

Foi possível quantificar duas amostras proteicas que já haviam sido expressas em leveduras, que apresentaram as concentrações de 0,4741 e 0,5245 mg/ml. Foi selecionada a amostra de 0,5245 mg/ml, pois possuía valor de quantificação mais adequado para as concentrações a serem testadas no método ELISA.

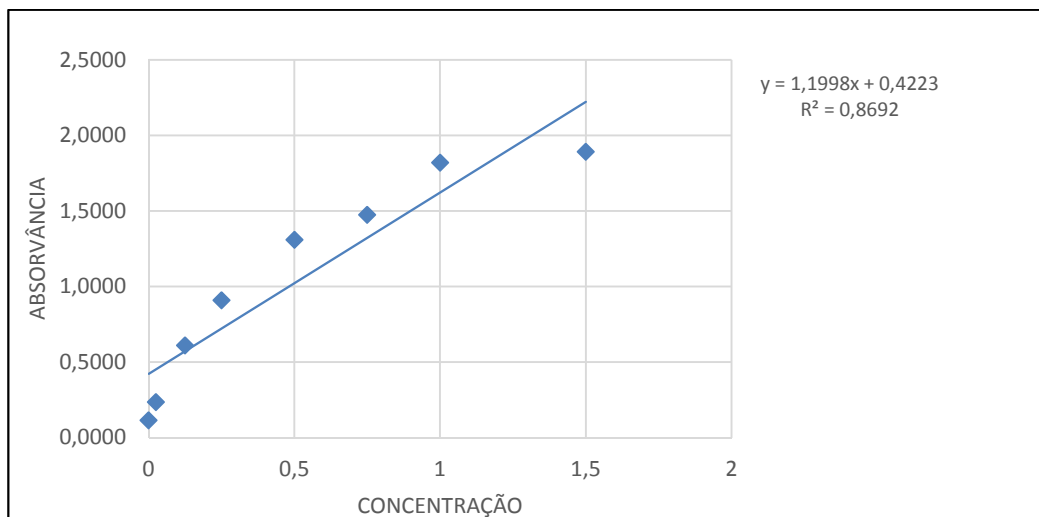


Figura 3: Retra confeccionada a partir de regressão linear das absorvâncias das soluções padrão.

Ao teste de ELISA apenas um dos pares testados de concentração de antígeno e diluição de soro (1,0 mg/ml – 1:200) não foi eficiente em identificar e discriminar os soros positivos e os soros negativos, uma vez que um dos negativos apresentou leitura de absorvância acima do ponto de corte calculado 0,7561. Para todos os demais, os negativos apresentaram leituras abaixo do ponto de corte calculado e todos os positivos apresentaram-se acima (Figura 4). Dentre esses resultados a fim de se desenvolver um kit de diagnóstico com menor custo para produção em larga escala, opta-se por utilizar a menor concentração de antígeno que seja capaz de discriminar os soros positivos e os negativos. Fundamentado nisso, a concentração ótima de antígeno a se utilizar é a de 0,5mg/ml, que obteve boa discriminação entre positivos e negativos.

Visando a padronização da técnica de imunodiagnóstico, o valor de diluição ótimo dos soros utilizado na realização do teste foi o de 1:200, por apresentar maior diferença entre as leituras dos negativos em relação aos positivos, em concordância com trabalho de Sartor *et al* (2003), que compara duas técnicas, ELISA e RIFI, usando a diluição 1:200, para determinação de infecções pelo parasito através da presença de IgGanti-*N caninum*, e identificam resultados melhores no ELISA.

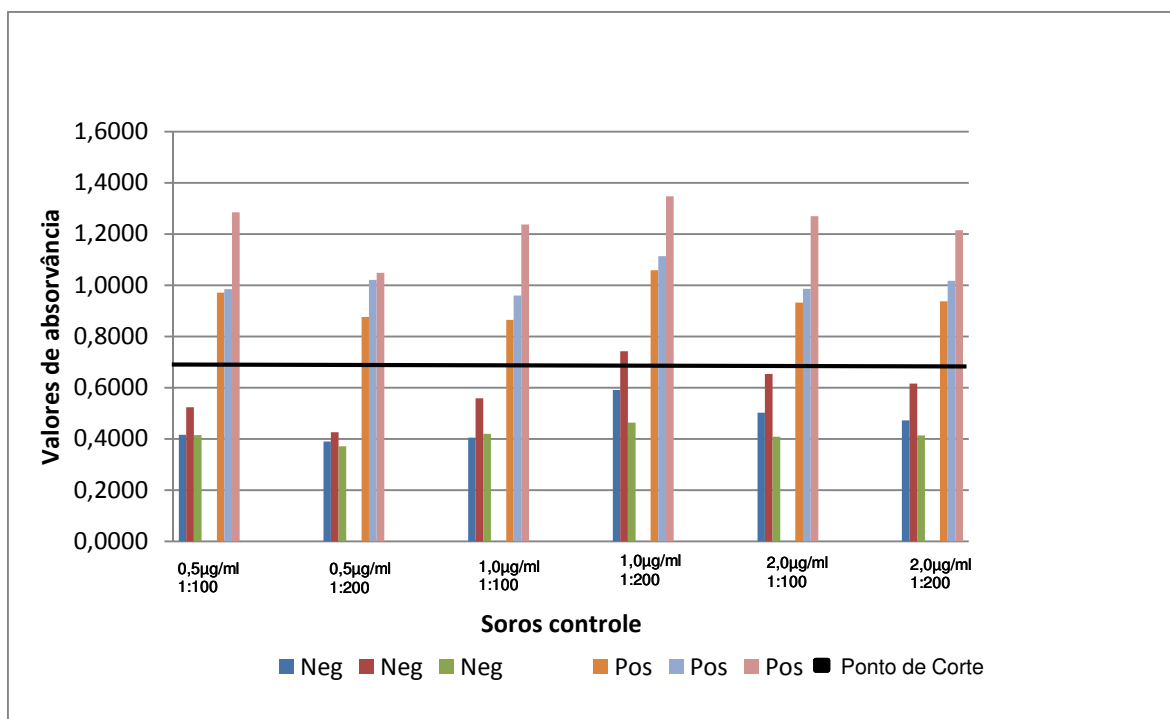


Figura 4: Resultados de absorvância dos soros controles, nas diferentes associações de concentração de antígeno e diluição de soro.

A utilização de antígenos gerados a partir de domínios de superfícies de *N. caninum* demonstrou resultados satisfatórios com o soro bovino e potencial para o desenvolvimento de teste sorológico específico para neosporose (PINHEIRO *et al* 2013). Além disso, o uso de antígenos produzidos e expressados em leveduras tem se mostrado estáveis, capazes de crescimentos em meio de cultura relativamente simples e de produção em escala industrial (CEREGHINO *et al* 2002). A maioria das pesquisas para diagnóstico sorológico para *N. caninum* tem utilizado proteínas recombinantes íntegras, diferente deste estudo onde foi empregado um peptídeo sintético construído com fragmentos da proteína original, o qual já havia demonstrado igual eficiência para o reconhecimento de anticorpos anti-*N. caninum* no teste Dot-ELISA (BLANCO *et al.*, 2014)

Em 2010, Gomes fez um estudo utilizando a proteína recombinante Tc14 de *Tenia crassiceps* nas proporções de 0,5;0,3;0,15 e 0,05µg/poço nas diluições de 1:50, 1:100, 1:200 e 1:400 tanto para o grupo de soros positivos quando para grupo de soros negativos. Em outro estudo com proteína recombinante do vírus da FIV (rp24), ALVES (2010) usou as concentrações 0,25; 0,5 e 1µg/poço nas diluições seriadas dos soros negativos e positivos em 1:20 a 1:1280, o que eu sugere que

mais associações ainda podem ser testadas para o antígeno deste trabalho, obtendo melhora na eficiência.

Os valores utilizados neste estudo foram escolhidos com base no trabalho de Blanco *et al* (2014), que utilizaram esse mesmo peptídeo para padronização de Dot-ELISA para diagnóstico de neosporose em bovinos. No seu estudo a concentração proteica foi de 4µg/ml, mas utilizou a concentração de 0,5µg/ml considerando que era o melhor para a padronização na diluição de 1:200. Os valores obtidos por Blanco foram como esperado, valores próximos obtidos para a padronização do ELISA. Isso se deu porque as duas técnicas são semelhantes, sendo diferentes na plataforma utilizada, membrana de nitrocelulose para o Dot-ELISA e placa de imunoadsorvente para o ELISA, além dos reagentes de revelação.

Não foi possível calcular a sensibilidade e a especificidade devido ao número limitado de soros controles, mas o presente trabalho fornece suporte para a realização de novos estudos para o teste em larga escala desse peptídeo utilizado como alvo vacinal nodiagnóstico de neosporose.

5. CONCLUSÃO

O uso do antígeno recombinante sintético rSNcGRA1 mostrou-se capaz de reconhecer os soros positivos e negativos para diagnóstico sorológico da neosporose em bovinos.

A concentração de antígeno mais adequada obtida neste estudo foi de 0,5mg/ml, como o valor mínimo para se conseguir um diagnóstico confiável e para utilização em larga escala. A diluição dos soros 1:200 foi eficiente em discriminar positivos e negativos, sendo, portanto, padronizada para este teste.

Este trabalho fornece suporte para realização de novos estudos sobre a utilização desse peptídeo como alvo proteico no diagnóstico da neosporose.

REFERÊNCIAS

ALVES, F. **Padronização de um ELISA indireto para o diagnóstico da imunodeficiência felina a vírus**. Tese de Doutorado. Escola de Veterinária UFMG. Belo Horizonte, MG. 32 p.: il. 2010

ATKINSON, R. et al. Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle. **Parasitology Today**, v. 16(1), p.110-114, 2000.

BASSO, W.; VENTURINI, L.; MC VENTURINI; DE HILL; OCH KWOK; SK SHEN; JP

DUBEY. Primeiro isolamento de *Neospora caninum* a partir das fezes de um cão infectado naturalmente. **Journal of Parasitology**., Vol. 87, No. 3, pp. 612-618.2001

BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. **International Journal for Parasitology**.v.29(10), p.1497-507, 1999.

BLANCO R.D., FIDELIS C.F., ARAÚJO L.S., HENAO A.M., CARDONA J.A., GUIMARÃES J.D., VARGAS M.I. & PATARROYO J.H. 2014 Desenvolvimento e padronização do Dot-ELISA usando peptídeos recombinantes para o diagnóstico sorológico de *Neospora caninum*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 34(8):723-727, agosto 2014.

BRAUTIGAM, F. E.; HIETALA, S.K.; GLASS, R. Resultados de levantamento sorológico para a espécie *Neospora* em bovinos de corte e leite. In: CONGRESSO

PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15, 1996, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: PANVET, pp.284. 1996.

BRESCIANI, K. D. S.; GENNARI, S. M.; SERRANO, A. C. M.; RODRIGUES, A. A. R.; UENO, T.; FRANCO, L. G.; PERRI, S. H. V.; AMARANTE, A. F. T. Antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in domestic cats from Brazil. **Parasitology Research**, v. 100, p 281-285, 2007.

CÂNON-FRANCO, W.A. et al. Detection of antibodies to *Neospora caninum* in two species of wild canids, *Lycalopex gymnocercus* and *Cerdocyon thous* from Brazil, **Veterinary Parasitology**, v. 123, n.3-4, p.275-277,2004.

CEREGHINO G.P.L., CEREGHINO J.L., ILGEN C. & CREGG J.M. Production of recombinant proteins in fermenter cultures of the yeast *Pichia pastoris*. **Current Opinion in Biotechnology** 13(4):329-332. 2002.

DUBEY J.P. & SCHARES G. Neosporosis in animals – The last five years. **Veterinary Parasitology** 180(1-2), p:90–108, 2011.

DUBEY J.P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**.8(4):349-367. 1999

DUBEY J.P., SCHARES G. & ORTEGA-MORA L.M..Epidemiology and control of Neosporosis and *Neospora caninum*.**Clinical Microbiology Reviews** v.20, p.323-367. 2007.

DUBEY JP, ROMAND S, HILALI M, KWOK OCH, THULLIEZ P. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Egypt. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 527–529. 1998.

DUBEY, J. Neosporosis in cattle. **Journal Parasitology**. 89 (Suppl): S42-S56. 2003.

DUBEY, J. P. et al. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidian. **International Journal for Parasitology**.v.32, p.929-946, 2002.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 140, n. 1-2, p. 1-34, 2006.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; ADANS, D.S.; GAY, J.M.; BASZLER, T.V.; BLAGBURN, B.L.; THULLIEZ, P. Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. **American Journal of Veterinary Research**.v.57(3), p.329-336, 1996.

FURUTA, P.I.; MINEO, T.W.P.; CARRASCO, A.O.T.; GODOY, G.S.; PINTO, A.A.; MACHADO, R.Z. *Neospora caninum* infections in birds: experimental infections in chicken and embryonated eggs. **Parasitology**, v. 134, p.1931-1939, 2007.

GARCIA D.P. Neosporose bovina: prevalência, transmissão e diagnóstico em fetos abortados, nas microrregiões de Anapólis e Goiânia- Goiás. **Escola de Veterinária**. Universidade Federal de Goiás. Goiás, 2005.

GONDIM L.F.P., SARTOR I.F., HASEGAWA M. & YAMANE I. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil.**Veterinary Parasitol**. V.86, p. 71-75. 1997.

GONDIM, L.F.P.; SARTOR, I.F.; MONTEIRO JR.; L.A., HARITANI, M. *Neospora caninum* infection in an aborted bovine fetus in Brazil.**New Zealand Veterinary Journal**. v. 47, p. 35- 252,1999a.

GOMES, A. B. **Obtenção de proteína recombinante baseada em antígeno do líquido vesicular de *Tenia crassiceps*: aplicação no imunodiagnóstico da neurocisticercose**. São Paulo, 2010. 129f. Tese, Doutor- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

GUEDES MHP, GUIMARÃES AM, ROCHA CMBM, HIRSCH C. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em vacas e fetos provenientes de municípios do Sul de Minas Gerais. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária** v.17, p.189-194, 2008.

HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B.; KAUFMANN, H. Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*.**Parasitology**, v. 112 (Pt 2), p. 183-197, 1996.

HIETALA, S.K.; THURMOND, M.C. Postnatal *Neospora caninum* transmission and transient serologic responses in two dairies.**International Journal for Parasitology**, v. 29, p.1669-1676, 1999.

JENKINS, M. C.; BASZLER, T.; BJÖRKMAN, C.; SCHARES, G.; WILLIAMS, D. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion.**International Journal for Parasitology**, v. 32, p. 631-636, 2002.

KOBAYASHI, Y.; YAMADA, M.; OMATA, Y.; KOYAMA, T.; SAITO, A.; MATSUDA, T.; OKUYAMA, K.; FUJIMOTO, S.; FURUOKA, H.; MATSUI, T. Naturally-occurring *Neospora caninum* infection in an adult sheep and her twin fetuses. **Journal Parasitology**, v. 87, p. 434-436, 2001.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J. P. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. **American Journal of Veterinary Research**., v. 50, p. 1981-1983, 1989.

McALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A.; McGUIRE, A. M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 1473-1478, 1998.

MELO, C. B.; LEITE, R. C.; LEITE, R. C. Infecção por *Neospora caninum* em cães e outros carnívoros. **Revista CFMV, Brasília**, v.11(35), p.32-43, 2005.

MONNEY, T.; HEMPHILL, A. Vaccines against neosporosis: What can we learn from the past studies? **Experimental Parasitology**. v. 140, n. 0, p. 52-70, 2014.

PARÉ J, FECTEAU G, FORTIN M, MARSOLAIS, G. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v213, p.1595-1598, 1998.

PATARROYO S, J.; VARGAS V, M.; CARDONA Á, J.; BLANCO M, R.; GOMEZ L, V. Frecuencia de anticuerpos anti-*Neospora caninum* en ovinos del departamento de Córdoba, Colombia. **Revista MVZ Córdoba**, v. 18, p. 3886-3890, 2013.

PETERS, M.; LUTKEFELS, E.; HECKEROTH, A. R.; SCHARES, G. Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p.1144-1148, 2001.

PITUCO, E.M.; STEFANO, E.; OKUDA, L.H. et al. Sorodiagnóstico de Neosporose bovina no Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico** v.68(2), p.83, 2001.

REICHEL, M. P.; ALEJANDRA AYANEGUI-ALCÉRRECA, M.; GONDIM, L. F. P.; ELLIS, J. T. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle – The billion dollar question. **International Journal for Parasitology**, v. 43, n. 2, p. 133-142, 2013.

RODRIGUES, A.A.R; GENNARI, S.M; AGUIAR, D.M; SREEKUMAR,C; HILL, D.E; MISKA, K.B; VIANNA, M.C. B; DUBEY, J.P. Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed tissues from naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.124, p.139–150, 2004.

ROMANELLI, P. R.; FREIRE, R. L.; VIDOTTO, O.; MARANA, E. R. M.; OGAWA, L.; DEPAULA, V. S. O.; GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 82, p. 202–207, 2007.

SAGER, H., GLOOR, M., BJORKMAN, C., KRITZNER, S., GOTTSTEIN, B. Assessment of antibody avidity in aborting cattle by a somatic *Neospora caninum* tachyzoite antigen IgG avidity ELISA. **Veterinary Parasitology**, v. 112, p. 1–10, 2003.

SANTOS, R.R.D.; GUIMARES, A.M.; ROCHA, C.M.B.M; HIRSCH, C. Frequência de Anticorpos Anti-*Neospora Caninum* em bezerras e novilhas de rebanhos leiteiros na microrregião de Lavras, Minas Gerais. **Ciência Animal Brasileira**, v.10(1), p.271-280, 2009.

SARTOR I.F., HASEGAWA M.Y., CANAVESSI A.M.O. & PINCKNEY R.D.. Ocorrência de anticorpos de *Neospora caninum* em vacas leiteiras avaliados pelos métodos de ELISA e RIFI no município de Avaré, SP. Semina, **Ciências Agrárias** 24:3-10.2003.

SILVA, SANDRO P. et al . Comparação das técnicas de ELISA indireto e Imunofluorescência indireta na detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum* em búfalas (*Bubalus bubalis*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro , v. 33, n. 4, p. 431-434, Apr. 2013 .

SMITTIH, P.H.; KROHN,R.I.;HERMANSON,G.T.; MALLIA, A.K; GARTNER, F.H; PROVENZANO,M.D.; FUJIMOTO, E.K.; GOEKE, N.M.;OLSON, B.J.; KLENK,D.C.; Measurement of protein using Bicinhoninic Acid. **Analytical Biochemistry**. V.150. p. 76-86. 1995.

SPEER, C. A.; DUBEY, J. P.; MCALLISTER, M. M.; BLIXT, J. A. Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v.29, p. 1509-1519, 1999.

THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K. Strategies to control *Neospora* infection in cattle. *Bovine Practitioner*, **Stillwater**, v.29, p.60-63, 1995

VILLALOBOS, E. M. C.; UENO, T. E. H.; DE SOUZA, S. L. P.; CUNHA, E. M. S.; LARA, M. C. C. S. H.; GENNARI, S. M.; SOARES, R. M. Association between the presence of serum antibodies against *Neospora* spp. and fetal loss in equines. **Veterinary Parasitology**, v. 142, p. 372–375, 2006.

VITALIANO, S.N. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in captive maned wolves (*Chrysocyonbrachyurus*) from southeastern and midwestern regions of Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 128(4), p.253-260,2004.

YAI, L. E. O.; RAGOZO, A. M. A.; CAÑON-FRANCO, W. A.; DUBEY, J. P.; GENNARI,S. M. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in capybaras (*Hydrochaerishydrochaeris*) from São Paulo State, Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 94(3), p. 766, 2008.

YILDIZ, K. et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle ranches with high abortion rate: special emphasis to serologic co-existence with *Toxoplasma*

gondii, Brucella abortus and Listeria monocytogenes. **Veterinary Parasitology**, v. 164(2), p. 306-310, 2009.

PARÂMETROS ANDROLÓGICOS EM TOUROS HOLANDESES JOVENS

Acadêmicas: Kenia Martins Assis e Taiane Miranda Portes

Orientadora: Vívian Rachel de Araújo Mendes

RESUMO

A predição da fertilidade de um touro é extremamente importante na criação de bovinos, uma vez que, a reprodução está correlacionada à lucratividade da atividade. O exame andrológico completo é capaz de prever o potencial reprodutivo de um animal. Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os parâmetros andrológicos de touros holandeses jovens por meio da realização do exame andrológico para diagnosticar patologias que possam estar associadas à redução da fertilidade, ou até mesmo a infertilidade de reprodutores. Portanto, o presente estudo foi conduzido com touros da raça Holandesa da Embrapa Gado de Leite localizada em Coronel Pacheco – MG. Foram realizadas duas avaliações andrológicas de 15 e 10 animais, nos meses de dezembro do ano de 2015 e fevereiro de 2016, respectivamente. Os touros reprovados foram 6 (40%), sendo destes 3 (20%) considerados inaptos e 3 (20%) inaptos temporários. Os animais considerados inaptos foram aqueles que apresentaram patologias anatômicas, e inaptos temporários aqueles com defeitos morfológicos espermáticos superiores ao limite estabelecido pelo manual CBRA. A maioria dos animais se encontravam aptos à reprodução e, aqueles classificados como inaptos temporariamente, devem ser avaliados posteriormente.

PALAVRAS-CHAVE: Exame andrológico; fertilidade; touros.

1. INTRODUÇÃO

A predição da fertilidade de um touro é extremamente importante na criação de bovinos, uma vez que a reprodução está correlacionada à lucratividade da atividade. Tanto nos sistemas de produção de carne quanto nos de leite, a fertilidade é uma das mais importantes características de produção a ser considerada (BARBOSA *et al.*, 2005). Os problemas de fertilidade são frequentes e variações intensas quanto à habilidade reprodutiva de um touro podem ocorrer (FONSECA, 2009). Em alguns casos, um touro pode apresentar-se com aparência saudável e ter problemas de fertilidade, não sendo identificado durante uma estação reprodutiva, e ao final deste período ser detectado um grande número de vacas não gestantes (AMANN *et al.*, 2000).

Com a execução do exame andrológico completo podem ser detectadas anormalidades em um ou mais dos órgãos genitais, alterações inflamatórias,

problemas físicos ou qualidade espermática inferior, bem como distúrbios na libido e na habilidade de cópula. Quaisquer destas alterações levam tanto à redução da capacidade ou à incapacidade reprodutiva, caracterizando quadros de subfertilidade e, até mesmo, esterilidade (CBRA, 2013). Desta forma, é possível predizer o potencial reprodutivo de um touro, possibilitando a exclusão daqueles inférteis ou subférteis da atividade reprodutiva e também permite eliminar animais com patrimônio genético indesejável para a reprodução (FONSECA, 2009; COSTA e SILVA *et al.*, 2013).

O conhecimento da baixa fertilidade é mais importante do que o da esterilidade, já que o reprodutor infértil é facilmente identificado, porém, muitas vezes há falhas na determinação daquele que possui fertilidade reduzida acarretando prejuízos econômicos para criadores e para bovinocultura que poderá comprometer, por longo período, a produção de carne e leite quando não diagnosticada em tempo hábil (SILVA *et al.*, 1993). Portanto, a aplicação do exame para aptidão reprodutiva em touros torna-se essencial para aumentar a produtividade e, conseqüentemente, o lucro na atividade (FONSECA, 2009).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar parâmetros andrológicos de touros da raça Holandesa jovens por meio da realização do exame andrológico para diagnosticar patologias que possam estar associadas à redução da fertilidade, ou até mesmo à infertilidade de reprodutores.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 EXAME ANDROLÓGICO

O exame andrológico deve ser realizado de forma completa para que seja eficiente, incluindo a avaliação de todos os fatores que contribuem para a capacidade reprodutiva do touro (BARBOSA, 2005; ALMEIDA, 2006).

É indicado a realização antes da estação de monta, na ocorrência de problemas reprodutivos no rebanho, para determinar precocemente a ocorrência da puberdade, para comercialização de reprodutores, e para o ingresso dos touros nas centrais de inseminação, e ainda com o objetivo de criopreservação de sêmen (BARBOSA, 2005).

Trata-se de um método que consiste, basicamente: no exame clínico geral; exame do sistema genital interno e externo; medição da circunferência escrotal; avaliação dos aspectos físicos e morfológicos do sêmen e avaliação do comportamento sexual (CBRA, 1998; FONSECA, 2009).

Os testes realizados auxiliam na eliminação de touros com baixa fertilidade e para estimar a proporção touro/vaca que deverá ser usada (PARKINSON, 2004).

Inicialmente, para que apresente pelo menos um potencial que possa ser mensurado clinicamente quanto à fertilidade, um animal deve desenvolver-se e alcançar a puberdade. Após a maturidade sexual ser alcançada, o objetivo do diagnóstico clínico será o de avaliar o quanto se encontra conservada a saúde morfoanatômica e fisiológica de um touro potencialmente fértil, avaliado de preferênciana pré-estação reprodutiva, antes de desafiá-lo a campo (COSTA e SILVA *et al.*, 2015).

Na realização do exame andrológico, é fundamental a adoção de um formulário apropriado para a condução dos exames, contendo um cabeçalho com o nome, o número de inscrição no Conselho Regional de Medicina Veterinária (CRMV) e o endereço do Médico Veterinário responsável pela execução dos exames. Deve conter ainda no formulário um roteiro com quatro itens, sendo estes básicos e fundamentais para emissão do certificado de exame andrológico: a identificação do animal e do seu proprietário, o exame clínico, oespermograma e a conclusão dos achados (BARBOSA, 2005).

2.2 ANAMNESE E EXAME CLÍNICO GERAL

A anamnese deve ser resumida, mas apresentando informações importantes quanto à saúde do animal e o estado sanitário geral do rebanho do qual faz parte. Também deve basear-se nos dados do registro genealógico, quando houver, caso contrário, obter-se o máximo de informações possíveis, como procedência, idade, paternidade (FONSECA *et al.*, 1992; CBRA, 1998; VALE FILHO *et al.*, 2012). Além disso, as circunstâncias que levaram a suspeitar da infertilidade do animal devem estar envolvidas na anamnese (DERIVAUX, 1980).

Os parâmetros como a identificação do proprietário e dos animais, a idade, a raça, a condição corporal e a história clínica devem ser levadas em conta e anotados no momento da realização do exame andrológico (WALDNER *et al.*, 2010).

O exame clínico geral do touro no exame andrológico é importante, pois, enfermidades extragenitais que cursam com alteração acentuada do estado geral interferem, com frequência, na função reprodutiva (ROSENBERGER, 1990).

Não havendo alteração do estado geral durante o exame clínico, o touro deve ser submetido a uma rápida inspeção, onde pêlo, pele, cabeça, linha do dorso e cauda, peito, abdômen, membros e cascos devem ser observados. A avaliação deve ser minuciosa, em particular a defeitos hereditários que possam ser transmitidos aos descendentes (ROSENBERGER, 1990).

Devem ser avaliados os sistemas respiratório, circulatório, digestivo e locomotor, com a atenção voltada especialmente para os aprumos. Outro ponto importante é o peso e o escore corporal do animal avaliado. Sendo assim, o mesmo deve apresentar peso, tamanho, condição corporal e conformações adequadas para raça e idade (CBRA, 1998; VALE FILHO *et al.*, 2012).

2.3 EXAME CLÍNICO DO GENITAL EXTERNO

Os órgãos genitais externos são examinados por inspeção e palpação. A inspeção mostra a eventual existência de lesões traumáticas, dermatológicas ou a existência de assimetrias, entre outros. Quando à palpação, os testículos devem movimentarem-se livremente no interior do escroto e serem de tamanho semelhante e consistência fibroelástica (KASTELIC e THUNDATHIL, 2008; MOURA, 2013).

Para a mensuração da circunferência escrotal deve-se colocar a fita métrica ao nível da circunferência maior dos testículos, aplicando-se uma pressão moderada (KASTELIC e THUNDATHIL, 2008).

No segmento testículo/escroto qualquer anomalia que for detectada deverá ser analisada de forma cuidadosa, visando estimar a severidade e a perda de fertilidade potencial. Assimetrias escrotais, quando presentes, podem ser indicativas da existência de lesão inflamatória local, como uma orquite e/ou epididimite. Lesões essas que podem provocar, numa forma aguda, aumento de temperatura e tumefação. Se evoluírem para forma crônica, podem provocar aumento da densidade local e aderências (NOAKES *et al.*, 2001b).

Durante o movimento de deslocamento para frente, o pênis e o prepúcio são examinados, para pesquisa de papilomas, lacerações, neoplasias, ou ainda a existência de anéis de pêlo ou de frênulo persistente (ALEXANDER, 2008).

2.4 EXAME CLÍNICO DO GENITAL INTERNO

Os órgãos genitais internos são examinados por palpação ou ultrassonografia transretal. O exame por palpação transretal tem como objetivo a pesquisa de doenças sistêmicas ou de alterações nas estruturas genitais pélvicas que possam influenciar a fertilidade do touro. Dentre elas, a que possui maior importância, no caso do touro, é a vesiculite (HOPKINS, 2007; MOURA, 2013). O diagnóstico é feito normalmente pela avaliação das glândulas vesiculares que se encontram aumentadas de tamanho, dolorosas, firmes e aparentemente menos lobuladas na palpação transretal (SCOTT *et al.*, 2011). As ampolas dos canais deferentes e as glândulas vesiculares devem ser avaliadas quanto ao tamanho, simetria, forma, lobulação e sensibilidade (MOURA, 2013).

A ultrassonografia representa um método importante na Medicina Veterinária com o intuito de aumentar a chance de se fazer um diagnóstico rápido, preciso e seguro, pois, permite avaliar o trato reprodutivo e órgãos reprodutivos internos com precisão anatômica e não invasiva, inócua, segura e que pode ser usada rotineiramente (SÁNCHEZ e AFONSO, 2000).

2.5 ESPERMOGRAMA

Após a realização do exame clínico geral e do exame das estruturas reprodutivas, procede-se com a avaliação da qualidade do ejaculado para estimar o potencial de fertilidade do macho (SILVA, 2013).

A coleta de sêmen no touro pode ser realizada através da utilização de vagina artificial, por massagem transretal das glândulas sexuais acessórias ou por eletroejaculação (PALMER, 2005).

O espermograma reúne todas as informações que referem ao exame seminal, sendo imprescindível para a emissão do laudo andrológico (CBRA, 1998).

Logo após a coleta do sêmen, as características físicas do mesmo devem ser avaliadas, independentemente de qual método de coleta for utilizado, fornecendo parâmetros quanto a sua qualidade e comparando-os aos padrões de normalidade da espécie (VALE FILHO e PINTO, 1988; VALE FILHO *et al.*, 1988; 2010; 2011; 2012; CBRA, 1998; BARBOSA, 2005).

Com relação aos aspectos físicos do sêmen, devem ser avaliados o turbilhonamento (ou motilidade espermática de massa), a motilidade espermática progressiva, vigor e a concentração espermática, ambos por microscopia (CBRA, 1998; VALE FILHO *et al.*, 2012).

O turbilhonamento deve ser avaliado por meio de uma gota de sêmen sobre uma lâmina sem lamínula. Em aumento de 100 vezes à uma temperatura de 37°C, verifica-se na borda da gota o movimento de massa. Como resultado de uma associação entre concentração elevada, motilidade e vigor elevados, é avaliado numa escala de zero a cinco. Já a motilidade espermática progressiva e o vigor espermático são observados em um aumento de 100 a 400 vezes, também à temperatura de 37°C, porém com a gota sob lamínula. Para a avaliação da motilidade espermática, considera-se o percentual de espermatozoides progressivamente móveis, uma vez que a percentagem destes está relacionada com a fertilidade (FOOTE, 2003), e o vigor, a intensidade dessa movimentação, sendo avaliado numa escala de zero a cinco.

Na avaliação morfológica, defeitos na forma e estrutura do espermatozoide podem ser identificados e divididos em maiores, aqueles que incluem a maioria dos defeitos na cabeça e peça intermediária, gotas citoplasmáticas proximais e, quando presentes em elevada percentagem, anomalias isoladas, como defeitos de acrossoma, “pouch formation”, pseudo-gota, cabeça isolada patológica, delgado na base, defeitos de peça intermediária e cauda fortemente enrolada ou dobrada, subdesenvolvidos, piriforme pequeno anormal, contorno anormal e formas teratológicas; e menores como gota citoplasmática distal, acrossoma desprendido, cauda dobrada com gota citoplasmática distal anexa, cauda enrolada, cabeça isolada normal, cabeça delgada, pequena normal, gigante, curta, larga e com inserções abaxial, retro-abaxial ou oblíqua (BLOM, 1973; BARTH e OKO, 1989; PARKINSON, 2004).

Esta avaliação da morfologia espermática permite que o veterinário andrologista feche o diagnóstico diferencial entre diversas alterações clínicas reprodutivas e possa ser capaz de definir, baseado na possibilidade de reversão do quadro de subfertilidade e da alteração ser herdável e/ou indesejável para o rebanho, o destino a ser dado ao touro. A morfologia espermática não deve ser deixada de lado na seleção de reprodutores, uma vez que é essencial e tem enorme

valor interpretativo no diagnóstico final do animal (FRENEAU *et al.*, 2000; HOLROYD *et al.*, 2002).

Para a classificação qualitativa do sêmen os parâmetros são a motilidade, que deverá ser de no mínimo de 60% e a morfologia espermática, que deverá apresentar 70% de espermatozoides normais (PARKINSON, 2004).

2.6 COMPORTAMENTO SEXUAL

O teste da libido deve ser utilizado na avaliação de touros como um complemento ao exame andrológico para diagnóstico de problemas inerentes à cópula (SANTOS *et al.*, 2004).

A falta de libido é a síndrome com diagnóstico de maior dificuldade, uma vez que pode estar relacionada com vários fatores, como: patologia genital, doença concomitante, idade, manejo, maturidade ou época de cobertura (NOAKES *et al.*, 2001b).

2.7 PRINCIPAIS CAUSAS DE INFERTILIDADE E SUBFERTILIDADE EM TOUROS

Quando touros possuem alguma alteração do trato genital e não atingem parâmetros considerados normais, estes são classificados como portadores de algum distúrbio reprodutivo, que poderá ser por uma causa ambiental, infecciosa, genética ou traumática, levando à subfertilidade, infertilidade ou esterilidade (CBRA, 1998).

Caso a subfertilidade diagnosticada seja de uma origem genética, o problema será transmitido à sua progênie. Assim, quando identificados, estes touros subfêrteis deverão ser eliminados do plantel (VALE FILHO *et al.*, 1979; 2001).

São diversas as causas que levam as falhas reprodutivas, entre elas: degeneração e hipoplasia testiculares, criptorquidismo, espermatogênese imperfeita e deficiência neuroendócrina (VALE FILHO *et al.*, 1998). Além destes fatores, sua aptidão reprodutiva depende também da capacidade de copular e fecundar (PARKINSON, 2004), bem como os distúrbios de origem nutricional (ROSENBERGER, 1990). Referente à nutrição, ela exerce sua influência seja por déficit ou excesso, com impactos diferentes em determinados períodos (BARTH *et al.*, 2008). Principalmente nos touros de elite, a obesidade está associada à problemas nutricionais relacionados com deficiência qualitativa de vitaminas,

proteínas e minerais ou excesso de energia ou proteínas o que leva a um desequilíbrio nutricional, que terá como resposta uma alteração endócrina e como consequência a subfertilidade (VALE FILHO, 1980). Por isso, os animais com um aporte energético elevado apresentam maior circunferência escrotal, porém com qualidade seminal pior, devida a deposição de gordura no escroto (BARTH *et al.*, 2008). Além de causar hipertermia por aumento e isolamento da espessura dos envoltórios testiculares, comprometendo a termorregulação, o que origina subfertilidade nestes touros com excesso de peso (BARTH *et al.*, 1995). Existem também algumas afecções, que embora não atinjam diretamente o sistema reprodutivo do macho, podem originar perda da qualidade seminal. Manutenção da espermatogênese, a existência de uma claudicação em touros por exemplo, também afeta a qualidade do sêmen, devido à redução de secreção de testosterona e LH, causados pela dor (BARTH e WALDNER, 2002). Fatores externos também são uma causa que levam a uma deficiência reprodutiva, principalmente na fase de desenvolvimento físico e maturidade sexual em touros com idade entre 12 e 24 meses de idade no qual são mais vulneráveis a estes fatores (ELLIS *et al.*, 2005). Dentre eles, a presença de um animal mais dominante no plantel que poderá ocultar o comportamento sexual destes touros mais jovens, em consequência de maior necessidade de exposição de fêmeas em estro para que os mesmos evidenciem excitação (BARTH, 2007). Além destas causas citadas destacamos também agentes infecciosos que poderão levar à problemas de subfertilidade e infertilidade (GIVENS e MARLEY, 2008).

2.8 PATOLOGIAS ANATÔMICAS

Dentre as diversas patologias relacionadas às causas de problemas reprodutivos citaremos:

Persistência do frênulo peniano é um fino feixe de tecido conjuntivo que une o aspecto ventral do prepúcio ao pênis interferindo no momento da cópula. O processo de separação torna sua linha de ruptura contínua como uma rafe clara sobre o pênis e sobre o prepúcio uma rafe menos clara. O início do rompimento para liberação do pênis ocorre por volta dos quatro meses de idade, separando por completo na puberdade do animal que ocorre por volta do nono ao décimo primeiro mês, resultando positivamente em um acasalamento e fertilidade satisfatórios. As

causas do rompimento são a tensão mecânica, devido as constantes masturbações e micção (ASDOWN,2006).

É uma importante causa de impotência *coeundi*, porque impossibilita a permanência reta do pênis e a introdução na genitália feminina. Na rafe do pênis, proximal à base do processo uretral, é onde se encontra a parte persistente. Há a presença de um tecido conectivo margeado por uma veia e acredita-se no fato de ocorrer uma maior resistência à ruptura neste local (ASDOWN, 2006).

Aplasia da cauda do epidídimo é uma alteração de origem congênita e hereditária, podendo ser uni ou bilateral, que poder esultar no desenvolvimento de granulomas espermáticos, evoluindo para espermatocele. Como os epidídimos são responsáveis pelo transporte, armazenamento e maturação dos espermatozoides, a infertilidade pode ser causada por qualquer alteração que interfira na função do mesmo. Animais acometidos devem ser eliminados do rebanho porque transmite a seus descendentes a patologia (BLOM, 1973).

Balanopostite é uma inflamação de pênis e do prepúcio provocando dor intensa ao ponto de o animal não executar a monta ou diminuir sua frequência (HOPKINS, 2007). Pode estar associado com abrasões que ocorrem no momento da monta ou por infecções por *Bovine Herpesvirus 1* (BoHV-1) (HOPKINS, 2007) e por *Mycoplasma/Ureaplasma spp* (SCOTT *et al.*, 2011).

Hipoplasia testicular unilateral é uma alteração hereditária (SETTERGREN e McENTEE, 1992) que causa uma falha no epitélio seminífero, sendo considerada uma das principais causas de falhas reprodutivas nos touros (NASCIMENTO e SANTOS, 2011). Estes animais apresentam baixa concentração espermática e motilidade, com altas patologias espermáticas (VALE FILHO *et al.*, 2010), casos de azoospermia também podem ser encontrados (STEFFEN, 1997; BICUDO *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2011; NASCIMENTO E SANTOS, 2011).

A hipoplasia testicular será classificada anatomopatologicamente como parcial, quando parte dos túbulos seminíferos forem afetados, ou total, quando houver ausência de espermatogênese no testículo afetado e também quando todos os túbulos seminíferos estiverem comprometidos. Dependendo do grau de comprometimento destes testículos, poderá ser detectada azoospermia no ejaculado (NASCIMENTO e SANTOS, 2011; BICUDO *et al.*, 2007). Além disso, a hipoplasia unilateral parcial ou total, ocasionará aos animais subfertilidade, podendo possuir

libido e habilidade reprodutiva, dificultando a identificação deste animal no rebanho. Foi observado que o testículo esquerdo é o mais afetado, e para diagnóstico é necessário realizar uma biometria testicular em animais jovens (ROBERTS, 1986; VALE FILHO e PINTO, 1988; McENTEE, 1990; LADDS, 1993; STEFFEN, 1997).

Degeneração testicular é também uma das principais causas de subfertilidade em touros (NASCIMENTO e SANTOS, 2011), sendo mais comuns em taurinos que em zebuínos (VALE FILHO *et al.*, 1979). Também pode ser classificada como uni ou bilateral, permanente ou temporária, que irá depender de fatores como grau de severidade, tipo e o tempo de exposição do fator causal (SETCHELL, 1998). Quando os animais são submetidos à distúrbios na saúde acompanhados de febre, fatores imunes, agentes químicos e físicos, obstruções na cabeça do epidídimo, fatores hormonais, toxemia ou infecção local e alterações que aumentem a temperatura testicular, estes estão mais predispostos à degeneração testicular (NASCIMENTO e SANTOS, 2011). Devido à uma deficiência na gametogênese estes animais apresentarão baixa concentração seminal e motilidade com alta patologia espermática (VALE FILHO *et al.*, 2010; 2011).

Criptorquidismo é um distúrbio de caráter genético caracterizado pela interrupção do trajeto normal de migração do testículo da cavidade abdominal, podendo resultar em ausência de um ou ambos os testículos no escroto, estando intimamente relacionado ao desenvolvimento do gubernáculo, causado por ausência do seu desenvolvimento ou o desenvolvimento anormal, bem como o retardo na regressão ou o crescimento excessivo deste ligamento (NASCIMENTO e SANTOS, 2011). Os animais criptorquidas bilaterais são inférteis em consequência da supressão térmica da espermatogênese. Já os unilaterais são subférteis, sendo de grande importância a eliminação destes animais no rebanho após identificados, por se tratar de uma anomalia hereditária (VALE FILHO *et al.*, 1979; NASCIMENTO e SANTOS, 2011).

Orquite é uma inflamação testicular que pode se manifestar de forma aguda ou crônica, com vários graus de acometimento do órgão. São vários os patógenos causadores desta doença que tem predileção pelo epidídimo e testículo. Dentre as bactérias relacionadas, a *Brucella* é a principal causadora desta patologia (JONES *et al.*, 1997).

Em sua forma aguda, verifica-se o testículo firme à palpação e aumentado de volume, inapetência, febre, dor intensa e dorso arqueado. Quando a patologia se torna crônica, os testículos diminuem de volume, tornam-se insensíveis à palpação, e ainda se observa presença de leucócitos e células gigantes no ejaculado (GALLOWAY, 1974; NASCIMENTO e SANTOS, 2011).

2.9 PATOLOGIAS ESPERMÁTICAS

Cauda fortemente dobrada é considerado um defeito maior que ocorre durante a maturação espermática no trânsito pelo epidídimo. Devido a alguma alteração, depois que as caudas foram formadas, elas se dobram. As causas incluem o choque osmótico, processos degenerativos dos testículos ou imaturidade sexual, onde o ambiente epididimário pode ser alterado (KOEFOED-JOHNSEN *et al.*, 1980; ARRIOLA *et al.*, 1985).

Gota citoplasmática proximal são corpos residuais resultantes das organelas que compunham o citoplasma das espermatídes originadas na fase final da espermiogênese (HERMO *et al.*, 1994). A maioria do citoplasma é eliminado durante a espermiogênese e somente uma pequena quantidade permanece aderido a peça intermediária próxima a cabeça. Esse resquício de citoplasma que é caracterizado como a gota citoplasmática que permaneceu durante a maturação (BRANTON e SALISBURY, 1947; RAO *et al.*, 1980; BARTH e OKO, 1989; CARREIRA, 2008).

Quando em alta porcentagem no ejaculado, a presença de gotas citoplasmáticas proximais está associada a distúrbios da função epididimária e anormalidades da espermatogênese, com redução da fertilidade. Gotas proximais em níveis de 5 e 10 % podem estar associadas à sêmen com fertilidade e motilidade reduzida. Em níveis acima de 15% no espermograma, indica prejuízo de desenvolvimento embrionário e queda da taxa de fertilização (BLOM, 1977b; AMANN *et al.*, 2000; AMARAL *et al.*, 2009).

A presença de gota citoplástica em touros adultos é indicativa de processo degenerativo testicular, e em animais jovens, se deve à imaturidade sexual (LAGERLOF, 1934; WENKOFF, 1988; BARTH e OKO, 1989).

Cauda dobrada com gota ocorre quando na porção da cauda existe uma dobra ou enrolamento com presença da gota citoplasmática (MIES FILHO, 1978;

VALE FILHO *et al.*, 2010). Está associada à fatores hereditários, indicando baixa fertilidade do reprodutor (VALE FILHO, 2008).

3. METODOLOGIA

O estudo foi realizado com touros da raça Holandesa da Embrapa Gado de Leite localizada em Coronel Pacheco – MG. Duas avaliações andrológicas foram realizadas: a primeira no mês de dezembro do ano de 2015, com 15 animais e a segunda em fevereiro de 2016, onde 10 dos primeiros touros foram reavaliados. Os animais se encontravam sadios, foram contidos em tronco e passaram por palpação retal para análise das vesículas seminais quanto ao tamanho e simetria entre ambas e sensibilidade. Além disso, foi realizada também a palpação dos testículos onde foi possível avaliar sensibilidade, consistência, mobilidade, simetria, posição e formato, além da mensuração da circunferência escrotal através da colocação de uma fita métrica própria na circunferência maior e comprimento e largura de ambos os testículos, utilizando-se de um paquímetro. Posteriormente, houve a avaliação do prepúcio e do pênis verificando se havia deslizamento dentro do prepúcio e presença de alguma alteração, e como método de coleta do sêmen foi utilizado o eletro-ejaculador. A probe transretal foi introduzida no reto do animal com os eletrodos em posição ventral e, através de uma estimulação elétrica, com choques pulsáteis, levou à exposição do pênis em alguns dos animais e o sêmen foi ejaculado e coletado em tubo coletor graduado preso ao funil. Os primeiros gotejamentos foram desprezados até que o ejaculado se tornasse mais leitoso.

Após a coleta, o sêmen foi analisado, começando pela avaliação macroscópica do material, como o volume, cor, aspecto e odor. Posteriormente, em microscópio óptico num aumento de 100 x, foi observado o turbilhonamento, onde apenas uma gota do sêmen foi utilizada sobre uma lâmina sem lamínula e o movimento de onda foi classificado em uma escala de 0 a 5. Posteriormente, foi avaliada a motilidade, em que foi observada e classificada a porcentagem quanto ao número de células móveis, e o vigor através da observação da velocidade do movimento dos espermatozoides, sendo classificado, em escala de 0 a 5.

Em seguida, 20 µl do sêmen foram diluídos em 1000 µl de formol salino tamponado 1%, para análise da morfologia espermática, visando estimar o

percentual de células normais e patológicas e, posteriormente, para estimativa da concentração espermática em câmara de Neubauer.

Todos os materiais utilizados para a análise do sêmen permaneceram sobre a placa aquecedora em temperatura de 37°C. Os resultados encontrados foram anotados em fichas com identificação de cada touro e os dados foram processados através de um estudo descritivo.

Em ambas avaliações, os animais foram separados em dois grupos, sendo um com faixa etária de 15-20 meses de idade e outro de 21-30 meses e, dentro desses grupos, puderam ser classificados com relação à circunferência escrotal e também fazer uma comparação entre os resultados de circunferência escrotal e concentração espermática entre eles.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Durante a realização do exame clínico específico dos órgãos reprodutivos dos touros avaliados, 3 deles apresentaram patologias anatômicas, sendo elas: assimetria do testículo esquerdo com consistência flácida, aplasia da cauda do epidídimo esquerdo e persistência do frênulo peniano. Com relação ao testículo com assimetria e flacidez, a classificação foi baseada nos achados, uma vez que os animais não passaram por avaliação para diagnóstico de qual a verdadeira patologia.

Dos 15 touros avaliados, nove (60%) foram considerados aptos à reprodução na primeira avaliação, semelhante ao encontrado por Almeida (2006), onde 57,14% dos touros holandeses foram considerados aptos. Uma maior diferença pode ser observada em relação aos resultados de Fragnani *et al.* (2011) e Moraes *et al.* (1998) em que 71,60% dos touros avaliados da raça Devone 75% dos touros das raças Hereford e Braford foram considerados aptos à reprodução, respectivamente. Essas diferenças podem estar relacionadas com o fato da diferença entre raças, onde os touros Holandeses apresentam menor rusticidade do que as outras raças e também com relação à diferença no número de animais avaliados, forma de criação e época da avaliação.

Os touros reprovados foram seis (40%), sendo destes três (20%) considerados inaptos e três (20%) inaptos temporários. Os animais considerados inaptos foram aqueles que apresentaram patologias anatômicas, e inaptos

temporários aqueles com defeitos morfológicos espermáticos superiores ao limite estabelecido pelo manual CBRA (2013).

Quanto aos animais considerados inaptos, nas raças Hereford e Braford, Moraes *et al.* (1998) encontraram um percentual de 18% para primeira raça, pequena variação com relação aos animais desta avaliação, porém, para segunda raça, a diferença foi relevante, pois o percentual foi de 47%.

Uma diferença significativa também pode ser notada com relação à frequência encontrada segundo Oliveira *et al.* (2001), que ao avaliarem touros de corte *Bos taurus taurus*, encontraram 31,10% de touros inaptos, e Almeida (2006), que ao avaliar animais holandeses, encontrou 14,28%.

Com relação aos animais inaptos temporários, os resultados foram semelhantes aos de Almeida (2006), onde 20% dos touros leiteiros (*Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*) avaliados tiveram a mesma classificação. No entanto, apesar de semelhante, Fernandes Junior e Franceschini (2007), encontraram uma ocorrência um pouco superior, 23,24% de animais inaptos temporários em touros jovens Compostos Montana.

Assim como nas recomendações do CBRA (2013), os animais devem ser agrupados em faixas etárias para serem classificados com relação à circunferência escrotal. Os resultados dos animais avaliados encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação segundo CBRA de *Bos taurus taurus* baseada no perímetro (circunferência) escrotal (cm).

	IDADE (meses)	MUITO BOM	BOM	QUESTIONÁVEL
1ª Ava.	15-20	3	8	-
	21-30	2	2	-
1.				
2ª Ava.	15-20	-	1	-
	21-30	4	5	-
2.				

Segundo o CBRA (2013), animais com faixa etária de 15 a 20 meses de idade, para serem considerados como muito bons, devem apresentar CE > 37 cm, e como bons CE de 31–37 cm. Dentro destas recomendações, três animais foram classificados como muito bons e oito como bons na primeira avaliação, porém, na segunda, houve apenas um animal classificado como bom. Já entre 21 e 30 meses, os animais devem ter CE > 39 cm para serem classificados como muito bons e 32-39

cm para bons. Nestas condições, na primeira avaliação, em ambas classificações, houveram dois animais. No entanto, na segunda, foram considerados como muito bons quatro animais e cinco como bons.

Dentro dos grupos de 15-20 (G1) e 21-30 (G2) meses de idade, foram calculadas as médias de circunferência escrotal e concentração espermática dos animais, em ambas avaliações, e os valores estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Médias de circunferência escrotal e concentração espermática de G1 e G2 nas duas avaliações.

	Médias	G1	G2
1ª Ava.	CE (cm)	36,32	39,82
	CONC. ($\times 10^6$ spz/ml)	74,68	198,25
2ª Ava.	CE (cm)	34,50	38,38
	CONC. ($\times 10^6$ spz/ml)	400	1292,50

G1: 15-20 meses; G2: 21-30 meses; CE: circunferência escrotal; CONC.: concentração espermática.

Em touros jovens, quando a CE aumenta, a concentração espermática, assim como, a motilidade espermática progressiva, o número de total de espermatozoides no ejaculado e a porcentagem destes vivos também crescem e acontece redução quanto ao número de espermatozoides anormais (BRINKS, 1987).

Considerando as médias do G1, os valores da circunferência escrotal, nas duas avaliações, aproximaram-se, no entanto, foram mais baixos do encontrado por Maciel *et al.* (2015), que foi de 37,84, em touros também holandeses. Porém, houve diferença quanto à concentração espermática, que observaram um valor de 22×10^6 , muito abaixo. Entretanto, os resultados de circunferência escrotal foram superiores aos obtidos por Moraes (2012) e Chacur *et al.* (2006), sendo estes 31,69 e 31,80, em touros das raças Senepol e Canchim, respectivamente. Mas, quanto à concentração espermática, os resultados de Moraes (2012) foram de $198,64 \times 10^6$, maiores que dos animais da primeira avaliação e menores que dos da segunda, assim como os de Chacur *et al.* (2006), que encontraram $85,50 \times 10^6$.

Em G2, os resultados em ambas avaliações foram maiores em relação à média de 31,69 de circunferência escrotal encontrada por Moraes (2012), porém, quanto aos resultados de concentração espermática observados, os da primeira avaliação foram semelhantes ao observado de $198,64 \times 10^6$ e bem menor em comparação com os da segunda. Em comparação ao observado por Maciel *et al.*

(2015), sendo 37,84, os valores de circunferência se apresentaram com pequena diferença, porém superiores, em ambas avaliações. Já quanto à concentração, também foram superiores e com grande diferença do relatado por eles, apenas 22×10^6 . Uma diferença maior pode ser notada com relação às médias obtidas nas duas avaliações quando comparadas aos resultados encontrados por Chacur *et al.* (2006) que foram 31,80 de circunferência e $85,50 \times 10^6$ de concentração espermática.

Os valores médios e desvios padrões observados das características dos ejaculados dos animais nas duas avaliações estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Comparação dos valores médios e desvios padrões das características dos ejaculados dos touros observados nas duas avaliações.

	Nº Animais	Idade (meses)	CE (cm)	TE (1-5)	ME (%)	Vigor (1-5)
1ª	15	21,60±3,75	37,25±2,68	1,07±1,24	60,67±12,36	2,57±0,73
2ª	10	23±3,16	38±3,6	1,40±1,22	62,50±18,67	3,15±0,68

CE= Circunferência escrotal; TE: Turbilhonamento espermático; ME: Motilidade espermática.

Com relação à CE, os touros nas duas avaliações, apresentaram médias de 37,25 e 38 cm, não variando muito de 37,84 observado por Maciel *et al.* (2015) em touros da raça holandesa submetidos ao semiárido, que apresentavam média de idade de 17,50, porém, essa média foi diferente dos animais, de 21,60 e 23. Pouca variação também quanto ao encontrado por Oliveira *et al.* (2001), em animais avaliados no período da seca, com média de CE de 37,64, e 37,92 no período chuvoso, no entanto, a idade média desses animais foi de 36 meses, valor bem mais elevado. Já Almeida (2006) encontrou um valor superior quanto à CE de 40, sendo que 57,14% (n=4) dos animais apresentaram de 30 a 60 meses de idade, diferença muito grande, também em touros da raça holandesa.

Os valores da ME encontrados de 60,67 e 62,50 foram superiores em relação aos animais também holandeses avaliados por Oliveira *et al.* (2001), de 57,91. E quanto ao vigor, os resultados foram de 2,57 e 3,15, bem próximo à 3,04 encontrado por Maciel *et al.* (2015) e Oliveira *et al.* (2001).

Segundo o CBRA (2013) é aceitável na avaliação do ejaculado dos touros, $\leq 30\%$ de defeitos totais, $\leq 10\%$ de defeitos maiores, $\leq 20\%$ de defeitos menores, $\leq 5\%$ de defeitos individuais maiores e $\leq 10\%$ de defeitos individuais menores. Na tabela 4, estão representados os valores dos defeitos que ultrapassaram em cada animal e, conseqüentemente, os reprovaram temporariamente.

Tabela 4. Defeitos espermáticos que ultrapassaram os valores aceitáveis segundo o CBRA (2013).

		Defeitos Totais (%)	Defeitos Maiores (%)	Defeitos Menores (%)	Defeito Isolado Maior (%)	Defeito Isolado Menor (%)
ANIMAL 1	1º	33,50	-	-	14	-
	Ava. 2ª	-	17,50	-	8	-
ANIMAL 2	1º	-	26,50	-	11,50	-
	Ava. 2ª	-	13	-	6	-
ANIMAL 3	1º	-	16,50	-	10,50	-
	Ava.	-	7,50	-	2	-

Em ambas avaliações, o primeiro touro ultrapassou o recomendado de defeitos totais (33,50%), defeitos maiores (17,50%) e defeito isolado maior (14% e 8%). O segundo touro ultrapassou os valores de defeitos maiores (26,50% e 13%) e defeito isolado maior (11,50% e 6%). Quanto ao terceiro animal reprovado, os valores ultrapassaram também quanto aos defeitos maiores (16,50%) e defeito isolado maior (10,50%) na primeira avaliação, porém, na segunda avaliação, os resultados encontraram-se dentro da normalidade.

Através da análise da morfologia espermática, nas duas avaliações, respectivamente, os defeitos maiores mais encontrados, somando a porcentagem ocorrida entre todos os touros avaliados, foram gota citoplasmática proximal (31,50% e 8%), cauda dobrada com gota (30,50% e 18,50%) e cauda fortemente dobrada (24,50% e 10%). Dentro dos resultados de Almeida (2006), como principais defeitos maiores, também foi observado a presença de cauda fortemente dobrada e/ou enrolada. Já com relação aos defeitos menores, o principal encontrado foi cauda dobrada (45,50%), na primeira avaliação, diferente do obtido por Almeida (2006) que foi cabeça isolada normal.

Os defeitos maiores diminuíram na segunda avaliação dos touros e o defeito menor não teve valor significativo. Esse resultado pode estar relacionado com o fato dos animais, entre o intervalo de 60 dias das duas avaliações, terem passado por outras coletas periodicamente, renovando assim, a espermatogênese.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentro das avaliações andrológicas dos touros Holandeses jovens, pôde ser observado que um pequeno número de animais foi descartado da reprodução. A maior parte estava apta e alguns animais foram classificados como inaptos temporariamente por apresentarem defeitos espermáticos na primeira e segunda avaliação, devendo estes serem avaliados posteriormente. Dentro dos parâmetros estabelecidos pelo CBRA, a maior parte dos animais foram considerados como bons apresentando resultados satisfatórios quanto à circunferência escrotal, motilidade espermática, vigor, turbilhonamento, concentração espermática, concluindo serem animais aptos para reprodução.

REFERÊNCIAS

ALEXANDER, J.H. Bull breeding soundness evaluation: A practitioner's perspective. **Theriogenology**, v.70, n.3, p.469-472, aug.2008.

ALMEIDA, J. **Avaliação andrológica de reprodutores bovinos leiteiros na região sul do estado do Rio de Janeiro**. Barra Mansa, 2006. 40f. Monografia/Bacharel em Medicina Veterinária - Centro Universitário de Barra Mansa.

AMANN, R.P.; SEIDEL JUNIOR, G.E.; MORTIMER, R.G. Fertilizing potential in vitro of semen from young beef bulls containing a high or low percentage of sperm with a proximal droplet. **Theriogenology**, v.54, n.9, p.1499-1515, dec.2000.

AMARAL, T.B.; SERENO, J.R.B.; PELLEGRIN, A.O. Fertilidade, funcionalidade e genética de touros zebuínos: dados eletrônicos. **Embrapa Gado de Corte, Embrapa Cerrados, Embrapa Pantanal** - Corumbá, MS, 216p., 2009.

ARRIOLA, J.; JOHNSON, L.A.; KAPROTH, M.; FOOTEI, R.H. A specific oligoteratozoospermia in a bull: the sperm tail stump defect. **Theriogenology**, v.23, n.6, p.899-913, Jun.1985.

ASHDOWN, R.R. Functional, developmental and clinical anatomy of the bovine penis and prepuce. **CAB Reviews: Perspectives in agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, London, v.1, n.21, 2006.

BARBOSA, R.T.; MACHADO, R.; BERGAMASCHI, J.A.C.M. A importância do Exame Andrológico em Bovinos. **Circular técnica**, EMBRAPA, São Carlos – SP, n°41, 13p., 2005.

BARTH, A.D.; OKO, R.J. **Abnormal Morphology of Bovine Spermatozoa**. Ames: Iowa State University Press, 285p., 1989.

BARTH, A.D.; CATES, W.F.; HARLAND, R.J. The effect of amount of body fat and loss of fat on breeding soundness classification of beef bulls. **Canadian Veterinary Journal**, v.36, n.12, p.758-764, dec.1995.

BARTH, A.D.; WALDNER, C.L. Factors affecting breeding soundness classification of beef bulls examined at the Western College of Veterinary Medicine. **Canadian Veterinary Journal**, v.43, n.4, p.274-284, apr.2002.

BARTH, A.D. Evaluation of Potencial Breeding Soundness of the Bull. In **Current Therapy in Large Animal Theriogenology**. 2^a ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007. p.228-240.

BARTH, A.D.; BRITO, L.F.C.; KASTELIC, J.P. The effect of nutrition on sexual development of bulls. **Theriogenology**, v.70, n.3, p.485-494, aug.2008.

BICUDO, S.D.; SIQUEIRA, J.B.; MEIRA, C. Patologias do sistema reprodutor de touros. **Biológico**, v.69, n.2, p.43-48, 2007.

BLOM, E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of bull spermogram. **Nord Vet Med.**, v.25, n.77/8, p.383-91, 1973.

BLOM, E. Sperm morphology with reference to bull infertility. In: **First All-India Symposium on Animal Reproduction**, 1977, Ludhiana, India. Proceedings...Ludhiana: The Symposium, p.61-81, 1977.

BRANTON, C.; SALISBURY, G.W. Morphology of spermatozoa from different levels of the reproductive tract of the bull. **Journal of Animal Science**, v.6, n.2, p.154-160, 1947.

BRINKS, J.S. Genetics of fertility in bulls. In: **annual meeting of the society theriogenology**. Austin, 1987. Procced., Hasting, Society for Theriogenology, p.56-63, 1987.

CARREIRA, J.T. **Avaliação da integridade do acrossoma, membrana citoplasmática, potencial mitocondrial, cromatina e produção de embriões in vitro de sêmen bovino com altos índices de gota citoplasmática proximal**. Jaboticabal, 2008. 56p. Dissertação/Mestrado. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP.

CHACUR, M.G.M.; ARAÚJO, M.C.; KRONKA, S. Características seminais, corpóreas e anatômicas do aparelho reprodutor de reprodutores da raça Canchim aos 14 e 48 meses de idade. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia - Unipar**, Umuarama, v. 9, n. 1, p.21-27, 2006.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL - CBRA. **Procedimentos para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. Belo Horizonte: CBRA, 2ªed., 92p., 1998.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL - CBRA. **Manual para exame andrológico e avaliação do sêmen animal**. Belo Horizonte: CBRA, 3ªed., 104p., 2013.

COSTA e SILVA, E.V.; FERREIRA, B.X.; QUEIROZ, V.L.D.; COSTA FILHO, L.C.C.; ZÚCCARI, C.E.S.N. Precocidade sexual de touros a campo em condições tropicais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal Suplemento**, Belo Horizonte, v.37, n.2, p.97-104, abr./jun. 2013.

COSTA e SILVA, E.V.; COSTA FILHO, L.C.C.; SOUZA, C.C.; OLIVEIRA, C.C.; QUEIROZ, V.L.D.; ZÚCCARI, C.E.S.N. Precocidade sexual de touros a campo em condições tropicais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal Suplemento**, Belo Horizonte, v.39, n.1, p.22-31, jan./mar.2015.

DERIVAUX, J. **Reprodução dos Animais Domésticos**. Zaragoza – Espanha: Ed. Acribia, 446p., 1980.

ELLIS, R.W.;RUPP, G.P.; CHENOWETH, P.J.; CUNDIFF, L.V.; LUNSTRA, D.D. Fertility of yearling beef bulls during mating. **Theriogenology**,v.64,n.3, p.657–678, aug.2005.

FERNANDES JUNIOR, J.A.; FRANCESCHINI, P.H. Maturidade sexual e biometria testicular de touros jovens compostos Montana Tropical® criados a pasto. **ARS Veterinaria**, Jaboticabal - SP, v. 23, n.1, p.059-066, 2007.

FONSECA, V.O. Avaliação reprodutiva de touros para a monta a campo: análise crítica. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, n.6, p.36-41, dez.2009.

FONSECA, V.O.; VALE FILHO, V.R.; MIES FILHO, A.; ABREU, J.J.**Procedimentos para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. Belo Horizonte- Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1992, 79p.

FOOTE, R.H.; Fertility estimation: a review of past experience and future prospects.**Animal Reproduction Science**, v.75, p.119–139, Jan.2003.

FRAGNANI, J.B.; RODRIGUES, E.M.; SOUZA, G.V.; MEZZALIRA, A.; CRUZ, F.B. Avaliação andrológica de reprodutores bovinos da raça Devon no estado de Santa Catarina.**V Congresso Internacional de Educação Unibave: criatividade e inovação. Orleans** – Santa Catarina – Brasil, Jun./Jul. 2011.

FRENEAU, G.E;PUOLI, J.R; BORJA, A.L.R. Índice de capacidade andrológica por pontos (ICAP) em touros Nelore: estudo de estação de acasalamento em Mato Grosso do Sul. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 37, 2000, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: SBZ,2000, v.5, p.177-181.

GALLOWAY, D.B. Introductory review; factors affecting fertility in bulls. **Course held at the University of Queensland Veterinary School**, 18-22, p.2-23, feb.1974.

GIVENS, M.D.; MARLEY, M.S.D. Pathogens that cause infertility of bulls or transmission via semen. **Theriogenology**, v.70, n.3, p.504–507. Aug.2008.

HERMO, L.; OKO, R.; MORALES, C.R. Secretion and endocytosis in the male reproductive tract: a role in sperm maturation. **International Review of Cytology**, v.154, p.105-189, Feb.1994.

HOLROYD, R.G.; DOOGAN, V.J.; FAVERI, J.D.; FORDYCE. G.; MCGOWAN, M.R.; BERTRAM, J.D.; VANKAN, D.M.; FITZPATRICK, L.A.; JAYAWARDHANA, G.A.; MILLER,R.G. Bull selection and use in northern Australia 4: calf output and predictors of fertility of bulls in multiplesire herds. **Animal Reproduction Science**, v.71, p.67-79, may.2002.

HOPKINS, F.M. Diseases of the reproductive system of the bull. In **Current Therapy in Large Animal Theriogenology**,2^a ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007. p.240-243.

JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Patologia Veterinária**. 6^a ed. São Paulo: Ed. Manole, 1997.

KASTELIC, J.; THUNDATHIL, J. Breeding soundness evaluation and semen analysis for predicting bull fertility. **Reproduction in Domestic Animals**, v.43, n.2, p.368–373, jul.2008.

KOEFOED-JOHNSEN, H.H.; ANDERSET, J.B.; ANDRESENCD, E.; BLOMCE, E.; PHILIPSENLB, H. The dag defect of the tail of the bull sperm. Studies on the inheritance and pathogenesis. **Theriogenology**, v.14, n.6, p.471-475, 1980.

LADDS, P.W. The male genital system. In: JUUB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. **Pathology of domestic animals**. 4. ed. San Diego: Academic Press, v.3, 1993. p.485-512.

LAGERLÖF, N. Morphologische untersuchungen ueber veränderungen im spermabilt und in den hoden bei bullen mit verminderter oder aufgehobener fertilitat. **Acta Pathol Microbiol Scand Suppl**, n.19, p.1-254, 1934.

MACIEL, J.P.O.; SILVA, E.J.; NASCIMENTO, P.S.; GUIDO, S.I.; SANTOS FILHO, A.S.; BARTOLOMEU, C.C. Avaliação de parâmetros andrológicos de touros das raças Holandesa e Guzerá submetidos ao Semiárido. **Scientia Plena**, v. 11, n. 04, p.1-5, 2015.

MCENTEE, K. Reproductive pathology of domestic animals. **London: Academic Press**, 401p., 1990.

MIES FILHO, A. Tecnologia do sêmen. In: Mies Filho A. **Reprodução dos animais e inseminação artificial**. 4.ed. Porto Alegre, RS: Sulina, 1978. p.461-513.

MORAES, J.C.F.; HORN, M.M.; ROSADO JUNIOR, A.G. Exame andrológico em touros: qualidade dos indicadores da aptidão reprodutiva em distintos grupos raciais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 4, p. 647-652, 1998.

MORAES, G.P. **Puberdade e maturidade sexual de tourinhos Senepol, criados semi-extensivamente na região do Triângulo Mineiro – MG**. Belo Horizonte – MG, 2012. 56p. Dissertação/Mestrado em Medicina Veterinária. Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.

MOURA, G.S. **Estudo clínico-andrológico e genético-molecular da subfertilidade em touros da raça Gir Leiteiro (*Bos taurus indicus*) no Estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte, 2013. Tese apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais- UFMG.

NASCIMENTO, E.F.; SANTOS, R.L. **Patologia da reprodução dos animais domésticos**. 3ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

NOAKES, D.E.; PARKINSON, T.J.; ENGLAND, G.C.W. Fertility and infertility in male animals. In **Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics**. 8ª ed. Ed. W. B. Saunders, 2001b. p.695-750.

OLIVEIRA, C.M.G.; OLIVEIRA FILHO, B. D.; FERNANDES, P. R.; *et al.* Avaliação seminal de reprodutores *Bos taurus taurus* criados extensivamente na região do

Vale do Araguaia. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.25, n.2, p. 192-194, 2001.

OLIVEIRA, L.Z.; DO CARMO, A.S.; LIMA, V.F.M.H.; LIMA, F.M.; COSTA, M.Z. Alta incidência de hipoplasia testicular em touros BRANGUS-IBAGÉ no Estado do Mato Grosso do Sul: relato de caso. **ARS Veterinaria**, Jaboticabal, SP, v.27, n.1, p.051-055, 2011.

PALMER, C.W. Welfare aspects of theriogenology: Investigating alternatives to electroejaculation of bulls. **Theriogenology**, v.64, n.3, p.469–479, aug.2005.

PARKINSON, T.J. Evaluation of fertility and infertility in natural service bulls. **Veterinary Journal**, v.168, n.3, p.215–229, nov.2004.

RAO, A.R.; BANE, A.; GUSTAFSSON, B.K. Changes in the morphology of spermatozoa during their passage through the genital tract in dairy bulls with normal and impaired spermatogenesis. **Theriogenology**, v.14, p.1-12, 1980.

ROBERTS, J.S. **Veterinary obstetric and genital diseases**. 2ed. Ann Arbor: Ed. Edwards Brothers, 1986.

ROSENBERGER, G. **Exame Clínico dos Bovinos**. 3ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 420p., 1990.

SÁNCHEZ, R.; AFONSO E. Ultra-sonografia na reprodução animal. **Revista TecnoVet**, v.1, p.6, 2000.

SANTOS, M.D.; TORRES, C.A.A; RUAS, J.R.M.; SILVA FILHO, J.M.; COSTA, E.P.; PEREIRA, J.C. Teste da libido e atividade de monta em touros da raça Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.56, n.4, p.504-510, ago.2004.

SILVA, A.E.D.F.; DODE, M.A.N.; UNANIAN, M.M. Capacidade reprodutiva do touro de corte: funções, anormalidades e fatores que a influenciam. Campo Grande: **EMBRAPA-CNPGC**, Documentos, n.51, 128p., 1993.

SILVA, J.F.C. **Avaliação do potencial reprodutivo do touro em situação de campo**. Vila Real, 2013. Dissertação/Mestrado em Medicina Veterinária, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro - UTAD.

SCOTT, P.R.; PENNY, C.D.; MACRAE, A.I. Reproductive system. In **Cattle Medicine**, 1ª ed. Ed.: Manson Publishing, 2011. p.7-16.

SETCHELL, B.P. The parkes lecture heat and the testis. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.114, n.2, p.179-194, nov.1998.

SETTERGREN, I. e MCENTEE, K. Germ cell weakness as a cause of testicular hypoplasia in bulls. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.33, n.4, p. 273-282, 1992.

STEFFEN, D. Genetic causes of bull infertility. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.13, Issue 2, p.243-254, July 1997.

VALE FILHO, V.R.; PINTO, P.A.; FONSECA, J.; SOARES, L.C.O.V. Patologia do sêmen: Diagnóstico andrológico e classificação de *Bos taurus* e *Bos indicus* quanto à fertilidade para uso como reprodutores em condições de Brasil – de um estudo de 1088 touros. **São Paulo: Dow Química**, p.4, 1979.

VALE-FILHO, V.R., **Patologia do sêmen**. 2.ed., Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais - Escola de Veterinária, 54p., 1980.

VALE FILHO, V.R.; PINTO, E.H. Testicular hypoplasia in *Bos indicus* and *Bos taurus* bulls, raised in Brasil. In: **International Congresso n Animal Reproduction and Artificial Insemination**, 11, 1988. Proceedings...Dublin, Ireland, p.387, 1988.

VALE FILHO, V.R. Desenvolvimento testicular em touros: aspectos clínicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO REPRODUÇÃO ANIMAL, 7, 1988, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: CBRA, 1988. v.1. p.418-438.

VALE FILHO, V.R.; PINHEIRO, L.E.L.; BASRUR, P.K. Reproduction in zebu cattle. In: MORROW, D. A. **Current Therapy in Theriogenology: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Reproductive Diseases in Small e Large Animals**, 2.ed, Philadelphia, W.B. Saunders company, 1998, p.437-443.

VALE FILHO, V.R. Subfertilidade em touros jovens e erados: parâmetros para avaliação andrológica e conceituação geral. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, nº35, p.81-87, 2001.

VALE FILHO, V. R. Padrões de sêmen bovino para o Brasil: análise e sugestões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 8, 1989. **Palestras...** Belo Horizonte: CBRA, 2008. p.94-118.

VALE FILHO, V.R.; ANDRADE, V.J.; AZEVEDO, N.A., Avaliação andrológica e seleção de tourinhos zebu para reprodução. In: SIMCORTE Simpósio Internacional de Produção de Gado de Corte, 7, 2010, Viçosa, **Anais...** Viçosa, RBZ, 2010. p. 363-412.

VALE FILHO, V.R.; VALLE, G.R.; NASCIMENTO, E.F. Patologia espermática. In: NASCIMENTO, E.F.; SANTOS, R.L. **Patologia da reprodução dos animais domésticos**. 3ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2011. p. 129-149.

VALE FILHO, V.R.; ANDRADE, V.J.; SILVA, M.A. et al. Novos métodos de avaliação andrológica e do potencial reprodutivo de touros. In: V Simpósio Nacional sobre Produção e Gerenciamento da Pecuária de Corte, 5, 2012, Belo horizonte, **Anais...** Belo Horizonte, FEPMVZ, 2012. p.179-239.

WALDNER, C.L.; KENNEDY, R.I.; PALMER, C.W. A description of the findings from bull breeding soundness evaluations and their association with pregnancy outcomes in a study of western Canadian beef herds. **Theriogenology**, v.74, n.5, p.871–883, sep.2010.

WENKOFF, M.S. **The evaluation of bulls for breeding soundness**. Manual. 2.ed. Ottawa: Canadian Veterinary Medical Association, 48p., 1988.

PESQUISA DE *Listeria* spp. EM PRESUNTOS DE DIFERENTES MARCAS COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE MATIPÓ, MINAS GERAIS

Acadêmicas: Luiza de Oliveira Lopes e Marianny de Oliveira Amorim

Orientadora: Letícia Ferreira da Silva

RESUMO

O presunto é um produto pronto para o consumo de grande aceitabilidade, por se tratar de um derivado cárneo de fácil preparo, não necessitando de nenhum processo de cocção ou reaquecimento. Essas características aliadas ao fato da grande manipulação que este produto sofre no estabelecimento comercial, possibilitam a sua contaminação por alguns patógenos, como a *L. monocytogenes*, oferecendo riscos à saúde do consumidor. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a presença de *Listeria* spp. em presuntos de diferentes marcas (registradas no Serviço de Inspeção Federal) comercializadas em estabelecimentos da cidade de Matipó, Minas Gerais, no mês de abril de 2016. Para isso, foram coletadas 10 amostras em cinco estabelecimentos do referido município. As amostras foram fatiadas no ato da compra e acondicionadas de acordo com as embalagens de cada estabelecimento. As análises microbiológicas e bioquímicas foram realizadas de acordo com o estabelecido pela IN nº62, de 26 de agosto de 2003, do MAPA. Observou-se que 50% das amostras analisadas estavam contaminadas por *Listeria* spp. A presença de *Listeria* spp. em presuntos observada nesse trabalho indica a necessidade de uma melhor prática de higiene dos utensílios e dos manipuladores de alimentos, além de representar um risco à saúde pública.

Palavras-chave: Listeriose; produtos prontos para o consumo; saúde pública.

1. INTRODUÇÃO

O consumo de alimentos contaminados com *Listeria monocytogenes*, representa grande risco à saúde dos consumidores (SIEGMAN-IGRA *et al.*, 2002). Apesar dos esforços realizados por diferentes agências reguladoras de diversos países, a listeriose ainda é uma das mais importantes doenças transmitidas por alimentos, devido à gravidade das suas manifestações clínicas, como septicemia, meningite e morte fetal, e, também, por apresentar taxa de letalidade variando entre 20 e 50% (VAZQUEZ-BOLAND *et al.*, 2001).

O fato da *L. monocytogenes* estar naturalmente presente no ambiente e por sua natureza psicrotrofica, faz com que este patógeno alimentar apresente alta prevalência em diferentes produtos prontos para o consumo armazenados em refrigeração (LIANOU & SOFOS, 2007), enquadrando-os na classe de alimentos que apresenta o maior risco potencial para a saúde pública relacionado a listeriose (PAL, LABUZA & DIEZ-GONZALEZ, 2008).

Aliado a isto, a crescente preferência por conveniência é uma das maiores tendências na alimentação, fazendo com que os alimentos prontos para o consumo ganhem espaço cada vez maior no mercado. Ainda, um dos aspectos mais importantes desse novo cenário de mudança nos hábitos alimentares, é o fato de que estes tipos de alimentos não necessitam ser reaquecidos ou passar por processo de cocção, o que aumenta ainda mais o risco de ocorrências de doenças transmitidas por alimentos, uma vez que diversos patógenos são destruídos pelo tratamento térmico (MARTINS & GERMANO, 2011).

O presunto, é um destes produtos que possui grande aceitabilidade pelos consumidores. Além disso, por ser armazenado sob temperatura de refrigeração e, ainda mais, por passar por um processo de fatiamento no ato da compra, pode contribuir com a dispersão da *L. monocytogenes*, dependendo das práticas higiênicas adotadas pelos manipuladores e, principalmente, pela higiene aplicada no ambiente de processamento (GARRIDO, VITAS & GARCÍA-JALÓN, 2009).

Apesar da grande disponibilidade de dados sobre a prevalência de *L. monocytogenes* em produtos prontos para o consumo fatiados, poucos estudos determinaram a sua ocorrência de acordo com marcas comerciais (PAL, LABUZA & DIEZ-GONZALEZ, 2008). Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de *Listeria* spp. em presuntos fatiados de diferentes marcas comercializadas em estabelecimentos localizados na cidade de Matipó, Minas Gerais, no mês de abril de 2016, e, com isso, expor o risco em que a população deste município se encontra.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 *Listeria* spp.

O gênero *Listeria* é compreendido por seis diferentes espécies, entre elas a *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. grayi*, *L. innocua*, *L. welshimeri* e *L. seeligeri* (KONEMAN, 2008)

As bactérias pertencentes a este gênero caracterizam-se por serem bastonetes curtos ou cocobacilos Gram-positivos, com extremidades arredondadas, não formadoras de esporos ou cápsulas, e anaeróbias facultativas. Já em provas bioquímicas, apresentam-se como catalase positivas e oxidase negativas (ROCOURT & BUCHRIESER, 2007; BRASIL, 2003). Ainda, a *Listeria* spp.

apresenta crescimento móvel característico em forma de guarda-chuva quando cultivadas entre 22 e 25°C (BRASIL, 2003), porém tornam-se imóveis ou apresentam fraca motilidade a 37°C (ROCOURT & BUCHRIESER, 2007). Podem, também, tolerar valores de pH entre 5,5 e 9,6 (SWAMINATHAN, 2001).

Entre todas essas espécies, as únicas que apresentam importância para a saúde pública são a *L. monocytogenes*, reconhecidamente a principal responsável pelos casos de listeriose humana, e a *L. ivanovii*, que acomete mais comumente pequenos ruminantes, porém, sob certas condições, também pode ser patogênica ao homem (TRABULSI, 2008).

A *Listeria monocytogenes* é capaz de se replicar no meio ambiente, apresentando, portanto, característica saprófita; além disso, possui ampla capacidade de crescimento em temperaturas de refrigeração, por se tratar de um micro-organismo psicrófilo. Essas duas características, aliadas à sua habilidade de formação de biofilmes, faz com que este patógeno alimentar persista por longos períodos em estabelecimentos de produção de alimentos (CARPENTIER & CERF, 2011).

O biofilme pode ser definido como uma colônia de células bacterianas aderidas a uma superfície abiótica ou biótica (OLIVEIRA, BRUGNERA & PICCOLI, 2010). E, para controlar a formação dos mesmos nas indústrias de alimentos, deve ser realizada, rotineiramente, boa higienização do local onde é feito o processamento dos mesmos, utilizando detergentes e sanitizantes (GRAM *et al.*, 2007).

2.2 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

A incidência das Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) vem sofrendo constante aumento a nível mundial. Entre os fatores que contribuem para a emergência dessas doenças, destacam-se, principalmente, a necessidade de produção de alimentos em larga escala, a maior exposição da população a alimentos destinados ao consumo coletivo (*fast food*) e prontos para o consumo, além do aumento do uso de aditivos e das mudanças nos hábitos alimentares (BRASIL, 2010).

Segundo dados do Ministério da Saúde, estima-se que no período compreendido entre 2000 e 2015, cerca de 2,1% dos surtos de DTA no Brasil foram ocasionados por ingestão de carne suína em natureza, assim como pelo consumo

de seus derivados e miúdos. Além disso, a região Sudeste foi responsável pelo maior número de notificações nesse mesmo período, representando 40,2% do total dos casos (BRASIL, 2015).

Vários são os agentes causais, o que resulta em uma enorme gama de possibilidades para a ocorrência de DTA em suas três formas: infecção, intoxicação e toxinfecção; que podem se apresentar em características de surtos ou casos isolados e com evoluções clínicas diversas (BRASIL, 2010).

2.2.1 LISTERIOSE

A listeriose é uma infecção causada pela ingestão de alimentos contaminados pela *L. monocytogenes*, e pode se desenvolver de duas formas distintas: listeriose invasiva e listeriose gastrintestinal (MEAD *et al.*, 1999). A forma invasiva refere-se a uma doença severa com alta taxa de mortalidade, acometendo, principalmente, pessoas imunocomprometidas, idosos, gestantes e recém-nascidos (SWAMINATHAN, 2001). Trata-se de uma das mais importantes DTA, devido à gravidade das suas manifestações clínicas, como septicemia, meningite e morte fetal, e, também, por apresentar taxa de letalidade variando entre 20 e 50% (VAZQUEZ-BOLAND *et al.*, 2001).

Já a listeriose gastrintestinal, ou não invasiva, é caracterizada por manifestações mais brandas, com sintomatologia semelhante à gripe, podendo ocorrer também surtos gastrointestinais febris em indivíduos saudáveis; nessa forma não-invasiva, a doença não evolui para o óbito (CARRIQUE-MAS *et al.*, 2003; GAHAN & HILL, 2005).

O período de incubação da doença pode variar de horas a semanas, e, a dose infectante da *L. monocytogenes* ainda não está bem definida (DALTON *et al.*, 1997). Embora a Vigilância Sanitária deva ser notificada em casos de surtos de DTA para que se inicie uma investigação epidemiológica, a fim de solucionar o problema e identificar a fonte de contaminação e o agente causal (FAUSTINO *et al.*, 2007), dados sobre surtos de listeriose no Brasil ainda são escassos, uma vez que em aproximadamente 59% dos casos, os agentes etiológicos não foram identificados pelos serviços de saúde (BRASIL, 2015).

No entanto, já foi verificado que produtos derivados da carne suína, como linguiças mistas do tipo frescal, salame e presuntos têm-se mostrado

constantemente envolvidos em casos de listeriose (SILVA *et al.*, 2004; PAL, LABUZA & DIEZ-GONZALEZ, 2008; BRASIL, 2010). Também podem atuar como fontes de contaminação queijos, água, vegetais crus, patês de carnes, molhos de carne crua fermentada, aves cruas ou cozidas, peixes (inclusive defumados) e frutos do mar. (SCHWAB, EDELWEISS & GRAÇA, 2004).

2.3 PRESENÇA DE *Listeria* spp. EM PRODUTOS PRONTOS PARA O CONSUMO

Os alimentos prontos para o consumo são assim considerados porque geralmente são consumidos sem qualquer cozimento ou tratamento adicional; ainda, são armazenados em baixas temperaturas (temperatura de refrigeração) e embalados a vácuo (EFSA, 2013). Entre esta categoria de alimentos, são exemplos comuns o leite pasteurizado, queijos, vegetais crus, defumados cárneos e embutidos (NAKARI *et al.*, 2014).

Embora a presença de *L. monocytogenes* tenha sido relatada em diversos alimentos, os maiores índices de contaminação estão relacionados com os produtos prontos para o consumo, como embutidos, cozidos e defumados, representando grande risco para a saúde pública (MANTILLA *et al.*, 2007; CAMARGO, NERO & TODORV, 2014). Em uma pesquisa envolvendo 40 de amostras de presunto, Fai e colaboradores (2011) relataram altos índices de contaminação por *L. monocytogenes*.

Com relação ao presunto, o mesmo é um produto elaborado a partir do pernil suíno sem osso, podendo ser cozido ou semicozido, defumado ou não, e que possui grande aceitação pelos consumidores (BRASIL, 2000).

Por se tratar de um produto refrigerado e que passa, inevitavelmente, por um processo de fatiamento no ato da compra, torna-se possível a contaminação e a multiplicação do patógeno alimentar em questão, a *L. monocytogenes*, dependendo das práticas higiênicas adotadas pelos manipuladores e, principalmente, pela higienização aplicada no ambiente de processamento de cada estabelecimento (GARRIDO, VITAS & GARCÍA-JALÓN, 2009).

Devido a sua capacidade de formação de biofilme em superfícies de contato, a *L. monocytogenes* pode permanecer viável por extensos períodos, acarretando assim uns dos principais fatores que correlaciona a sua disseminação e persistência no ambiente de um estabelecimento processador de alimentos (GRAM *et al.*, 2007).

Com isso, a higiene adequada da máquina de fatiar, assim como a higiene pessoal do manipulador são de suma importância, pois, na maioria das vezes, esses alimentos prontos para o consumo, embora sejam bastante manipulados, não passam por tratamentos térmicos pós-processamento; tais procedimentos garantem a inocuidade do alimento, além de prolongar a vida de prateleira dos mesmos (FAI *et al.*, 2011).

3. METODOLOGIA

3.1 COLETA DAS AMOSTRAS

Foram adquiridas 10 amostras de presunto suíno cozido (sem capa de gordura) de quatro diferentes marcas (A, B, C e D) comercializadas, sob temperatura de refrigeração, em cinco supermercados e padarias (1, 2, 3, 4 e 5) localizados na cidade de Matipó, Minas Gerais, no mês de abril de 2016. As amostras foram obtidas de acordo com a disponibilidade de venda em cada estabelecimento.

Todas as marcas possuíam registro no Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Ainda, os presuntos foram fatiados no ato da compra e acondicionados de acordo com as embalagens utilizadas em cada estabelecimento comercial.

3.2 PESQUISA DE *Listeria* spp.

Após a aquisição, as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas e, então, encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do Hospital-Escola Gardingo da Faculdade Vértice, para a realização imediata das análises microbiológicas.

Nesta etapa do estudo, foi adotado o protocolo adaptado de pesquisa de *Listeria* spp. em alimentos cárneos estabelecido pela Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003, do MAPA (BRASIL, 2003).

Para isso, 2,5 g de cada amostra foram acondicionadas em frascos estéreis contendo 22,5 ml de caldo de enriquecimento para *Listeria* (LEB) (Oxoid), seguido de homogeneização, e incubadas a 30°C por 24 horas. Após este período, foram transferidos 0,1 ml da cultura para tubos contendo 10 ml do caldo Fraser (Oxoid), sendo novamente incubadas a 30°C por 24 a 48 horas.

Após as etapas de enriquecimento seletivo, foi, então, realizado o isolamento de *Listeria* spp., quando as culturas obtidas foram repicadas em placas contendo ágar Oxford (AO) (Oxoid) e Palcam (AP) (Oxoid). A incubação das amostras foi realizada a 30°C por 24 a 48 horas, sendo, em seguida, realizada a leitura dos resultados. Colônias pretas rodeadas por halo escuro em AO e colônias verde amareladas rodeadas por zona escura ou colônias verdes acinzentadas em AP, foram consideradas típicas de *Listeria* spp.

As colônias típicas foram então utilizadas para a realização de duas provas de confirmação e identificação, a prova da catalase e a coloração de Gram. Das culturas catalase positivas, foram realizados esfregaços para a coloração de Gram.

3.3. ANÁLISE DOS RESULTADOS

Os dados encontrados foram dispostos na forma de frequência de resultados positivos por marca comercial e entre os diferentes estabelecimentos amostrados.

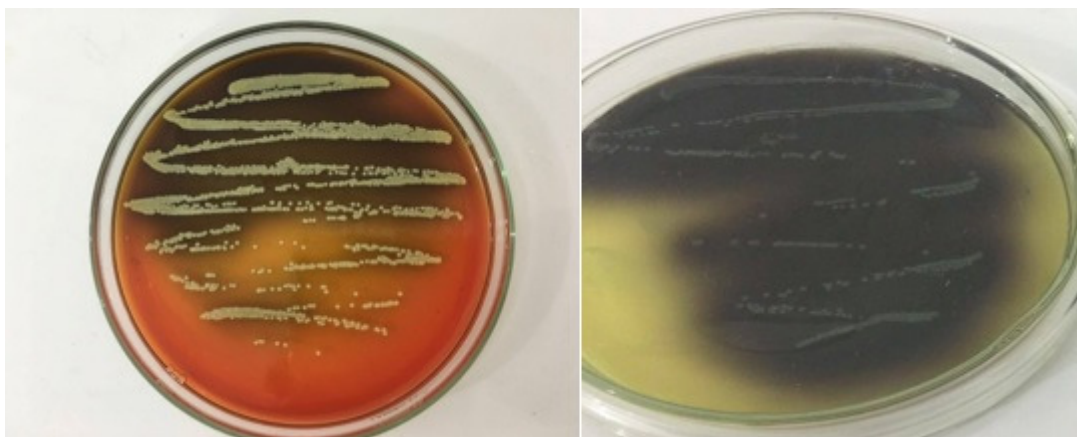
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após o processamento e análise dos resultados, foram observadas que cinco das amostras apresentaram colônias características de *Listeria* spp. tanto no ágar AP quanto no ágar AO (FIGURA 1).

a

b

Figura 2. Colônias características de *Listeria* spp.: a) colônias verdes amareladas com halo preto em ágar Palcam (AP); b) colônias negras com halos pretos em ágar Oxford (AO).



As colônias retiradas dessas placas para a realização das provas confirmatórias, mostraram-se, todas, catalase positivas e Gram-positivas (FIGURA 2), confirmando o diagnóstico de *Listeria* spp.

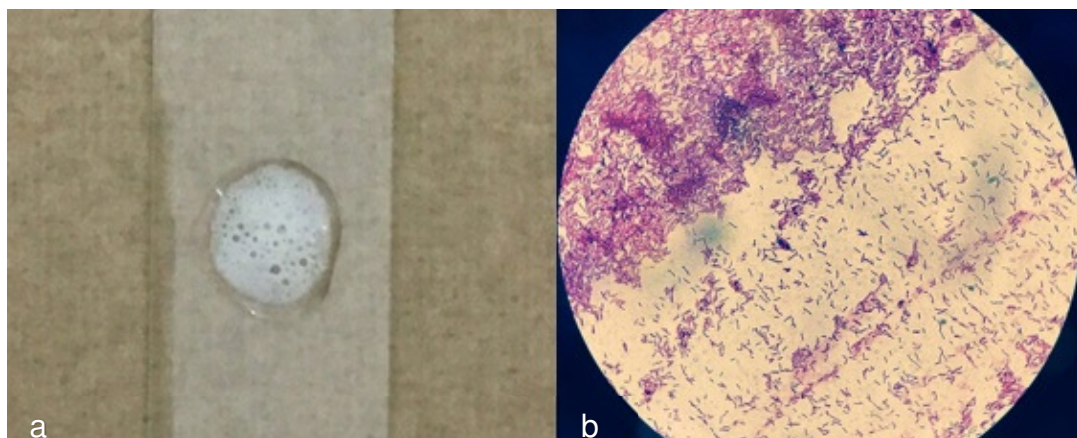


Figura 3. Resultados das provas de confirmação e identificação de *Listeria* spp.: a) Reação positiva à prova da catalase; b) Bastonetes curtos Gram-positivos à coloração de Gram (1.000x).

Estes resultados demonstraram que 50,0% das amostras analisadas foram positivas para o patógeno em questão. Achados semelhantes foram descritos por Fai e colaboradores (2011), que, em estudo realizado nos oito principais estabelecimentos comerciais de Fortaleza, detectaram a presença de *Listeria* spp. em 67,5% das 40 amostras de presunto adquiridas, e, no mesmo trabalho, 57,69% dos estabelecimentos positivos; valor próximo ao constatado neste estudo, que foi de 60,0% dos estabelecimentos (1, 2 e 3) positivos para *Listeria* spp. (TABELA 1).

Tabela 2. Frequência dos resultados positivos para *Listeria* spp. segundo a marca e o estabelecimento amostrados

Marca	Estabelecimento	Estabelecimento	Estabelecimento	Estabelecimento	Estabelecimento
	1	2	3	4	5

	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
A	1	0,0	1	0,0	1	100,0	1	0,0	1	0,0
B	1	100,0	1	0,0	-	-	-	-	-	-
C	1	100,0	1	100,0	-	-	-	-	-	-
D	1	100,0	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	4	75,0	3	33,3	1	100,0	1	0,0	1	0,0

Em contraposição aos resultados apresentados, Cornelius, Hudson e Wong (2008) ao avaliarem 301 amostras de presuntos fatiados para pesquisas de *Listeria* spp., encontraram em apenas 13 amostras (4,3%) a presença de *L. monocytogenes* e, em outras 13 (4,3%) isolaram outras espécies de *Listeria*. Ainda, em um estudo realizado por Martins e Germano (2011) foram coletadas 130 amostras de presuntos cozidos fatiados comercializados na cidade de São Paulo, sendo detectada a presença de *L. monocytogenes* em apenas 0,8% desse total. Ambos resultados com frequência muito abaixo da obtida neste trabalho.

Estas diferenças observadas entre as frequências de amostras positivas por estudo, podem ser explicadas por falhas nas boas práticas de fabricação dos estabelecimentos com alta taxa de contaminação, incluindo higiene deficiente tanto dos equipamentos e utensílios utilizados quanto dos próprios funcionários que realizam a manipulação desses alimentos (FAI *et al.*, 2011).

De acordo com essa descrição, verificou-se nos estabelecimentos amostrados nesse estudo, algumas deficiências na aplicação das boas práticas de manipulação que podem contribuir para esses altos índices, como a exposição de produtos crus e cozidos na mesma gôndola, presença de resíduos de alimentos nos equipamentos e utensílios, e funcionários manuseando alimentos crus e produtos prontos para o consumo com a mesma luva.

De acordo com a Tabela 1, pode-se verificar também que no estabelecimento 1, 75% das marcas analisadas (B,C e D) foram positivas para *Listeria* spp., enquanto no estabelecimento 2, apenas a marca C foi positiva (33,3%) e no estabelecimento 3, a marca A, única comercializada no local, também mostrou-se positiva na análise. Já nos estabelecimentos 4 e 5, ambos comercializadores apenas da marca A, não foram encontrados resultados positivos para o micro-organismo em questão.

O fato de terem sido encontradas diferentes marcas positivas em um mesmo estabelecimento, com culturas apresentando exatamente a mesma morfologia na

coloração de Gram, aponta para uma provável contaminação no ambiente. Uma vez que a *Listeria* spp. é um micro-organismo ubíquo, a partir do momento que os produtos prontos para o consumo são expostos ao ambiente, este agente pode facilmente se aderir ao alimento em qualquer estágio de manipulação, desde o fatiamento até dentro do domicílio (GOMBAS *et al.* 2003).

Ainda, outro fator que contribui para o argumento da contaminação no estabelecimento comercializador, é a legislação brasileira, que exige a ausência de *L. monocytogenes* em produtos prontos para o consumo e assegura esse resultado através de análises oficiais periódicas realizadas em laboratórios pertencentes à Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária (BRASIL, 2009).

Considerando, também, que o processo de cozimento do presunto é suficiente para destruir a *L. monocytogenes*, a contaminação ocorre em etapas pós-processamento (FAI *et al.*, 2011). Assim, supõe-se que a presença de *Listeria* spp. em várias amostras de um mesmo estabelecimento pode ser consequência de uma contaminação cruzada, transferindo células bacterianas entre o fatiador e as fatias de presunto, como demonstrado por Vorst, Todd e Ryser (2006).

De acordo com Prencipe e colaboradores (2012), os maiores níveis de contaminação por *L. monocytogenes* são alcançados após o fatiamento do presunto, tornando essa etapa um ponto crítico de controle microbiológico desse alimento. O fatiador, por acumular matéria orgânica ao longo da rotina de trabalho, pode representar, portanto, importante fonte de transmissão de micro-organismos deteriorantes e patogênicos, por favorecer a formação de biofilmes em sua superfície (CHMIELEWSKI & FRANK, 2003).

Ressalta-se ainda que os micro-organismos quando em biofilmes se tornam consideravelmente mais resistentes à remoção por sanitizantes, uma vez que estão protegidos pela matriz dessa estrutura (JAY, 2005).

Araújo e colaboradores (2002) ao pesquisarem a presença de *Listeria* spp. em presuntos, verificaram uma alta incidência desse micro-organismo em presuntos fatiados (90,0%), contrastando com a ausência nos inteiros, corroborando com essas informações.

Conseqüentemente, a manipulação inadequada de presuntos e falhas na higienização dos equipamentos que entram em contato com o mesmo, podem

resultar na contaminação dos mesmos por *L. monocytogenes* (FREON & REOLON, 2006).

Essa contaminação, mesmo quando em níveis muito baixos, representa um perigo potencial para a saúde do consumidor, podendo resultar em um grande número de pessoas infectadas pelo patógeno em questão, principalmente ao se levar em consideração a distribuição e o grande volume consumido de presunto (PAL, LABUZA & DIEZ-GONZALEZ, 2008).

Embora seja adotada a prática de refrigeração dos produtos prontos para o consumo para manutenção da sua qualidade, esse método não inibe o crescimento de micro-organismos psicrotróficos, como a *L. monocytogenes*, culminando com a redução da vida de prateleira desses produtos (PAL, LABUZA & DIEZ-GONZALEZ, 2008), caracterizando, portanto, mais um ponto negativo para essa contaminação.

5. CONCLUSÃO

A presença e os altos níveis de *Listeria* spp. detectados em presuntos de diferentes estabelecimentos amostrados, representam um sério risco à saúde pública, principalmente ao se levar em consideração o aumento do consumo dessa categoria de produtos nos últimos anos.

Por serem alimentos consumidos sem a necessidade de qualquer cozimento, isso aumenta ainda mais o risco de infecções alimentares por esse patógeno. Outro fator de importância, é que a manipulação desses produtos contaminados dentro do domicílio pode culminar na contaminação de outros alimentos e utensílios.

Esses resultados refletem, portanto, a necessidade de melhorias nos programas de higiene e desinfecção, aplicando práticas mais eficientes e educação em saúde continuada aos manipuladores de alimentos, o que irá contribuir para prevenir a contaminação cruzada e exposição a *Listeria* spp.

6. REFERÊNCIAS

ARAÚJO, P.C.C.; FRANCO, R.M.; OLIVEIRA, L.A.T.; CARVALHO, J.C.A.P. Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em produtos de carne de peru comercializados na cidade de Niterói-RJ-Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.30, n.1, p.19-25, 2002.

BRASIL. MAPA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO). **Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas**

para controle de produtos de origem animal e água. Aprovado pela Instrução Normativa nº62, de 26 de agosto de 2003. Brasília, 2003, 38p.

BRASIL. MAPA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO). **Procedimentos de controle para *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para o consumo.** Aprovado pela Instrução Normativa nº9, de 8 de abril de 2009. Brasília, 2009. 3p.

BRASIL. MAPA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO). **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Presunto Cozido.** Aprovado pela Instrução Normativa nº20, de 31 de julho de 2000. Brasília, 2000, 27p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos.** Brasília : Editora do Ministério da Saúde, 2010. 158p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Situação Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos – DTA.** Brasília, 2015.

CAMARGO, A.C.; NERO, L.A.; TODOROV, S.D. Where the problem is with *Listeria monocytogenes*. **Journal of Nutritional Health & Food Engineering**, v.1. p.1-2, 2014.

CARRIQUE-MAS, J.J.; HÖKEBERG, I.; ANDERSON, Y.; ARNEBORN, M.; THAM, W.; DANIELSSON-THAM, M.L.; OSTERMAN, B.; LEFFFLER, M.; STEEN, M.; ERIKSSON, E.; HEDIN, G.; GIESECKLE, J. Febrile gastroenteritis after eating on-farm manufactured fresh cheese – an outbreak of listeriosis. **Epidemiology and Infection**, v.130, n.1, p.79-86, 2003.

CARPENTIER, B; CERF. B. Review - Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. **International Journal of Food Microbiology**, v.145, p.1-8, 2011.

CHMIELEWSKI, R.A.N.; FRANK, J.F. Biofilm formation and control in food processing facilities. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.2, p.22-32, 2003.

CORNELIUS, A.J.; HUDSON, J.A.; WONG, T.L. Enumeration and growth of naturally occurring *Listeria* spp. in unpackaged ham. **Food Microbiology**, v.25, p.407-412, 2008.

DALTON, C.B.; AUSTIN, C.C.; SOBEL, J.; HAYES, P.S.; BIBB, W.F.; GRAVES, L.M.; SWAMINATHAN, B.; PROCTOR, M.E.; GRIFFIN, P.M. An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria monocytogenes* in milk. **New England Journal of Medicine**, v.336, n.2, p.100-105, 1997.

European Food Safety Authority (EFSA). Scientific opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 1 (outbreak data analysis and risk ranking of food/pathogen combinations). **EFSA Journal**, v.11, n.1, p.3025, 2013.

FAI, A.E.C.; FIGUEIREDO, E.A.T.; VERDIN, S.E.F.; PINHEIRO, N.M.S.; BRAGA, A.R.C.; STAMFORD, T.L.M. *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes* em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza (CE, Brasil): fator de risco para a saúde pública. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.16, p.657-662, 2011.

FAUSTINO J.S.; PASSOS, E.C.; MELLO, A.R.P.; ARAÚJO, A.L.M.; SOUZA, C.V.; JORGE, L.I.F.; ZAMARIOLI, L.A. Análises microbiológicas de alimentos processados na Baixada Santista, envolvidos em doenças transmitidas por alimentos, no período de 2000 – 2006. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.66, n.1, p.26-30, 2007.

FREON, J.D.; REOLON, J.I. Qualidade dos produtos derivados de carne e leite, industrializados pelas agroindústrias de Frederico Westphalen, RS. **Higiene Alimentar**, v.21, p.53-59, 2006.

GAHAN, C.G.M.; HILL, C. A review: Gastrointestinal phase of *Listeria monocytogenes* infection. **Journal of Applied Microbiology**, v.98, n.6, p.1345-1353, 2005.

GARRIDO, V.; VITAS, A.I.; GARCÍA-JALÓN, I. Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products: Prevalence by brands and retail establishments for exposure assessment of listeriosis in Northern Spain. **Food Control**, v.20, p.986–991, 2009.

GOMBAS, D.E.; CHEN, Y.; CLAVERO, R.S.; SCOTT, V.N. Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. **Journal of Food Protection**, v.66, p.559-569, 2003.

GRAM, L; BAGGE-RAVN, D.; NG, Y.Y.; GYMOESE, P.; VOGEL, B.F. Influence of food soiling matrix on cleaning and disinfection efficiency on surface attached *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v.18, p.1165- 1171, 2007

JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712p.

KONEMAN, E.W. **Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Coloridos**. 6 ed. Guanabara Koogan, 2008. 1465p.

LIANOU, A.; SOFOS, J. N. A review of the incidence and transmission of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products in retail and food service environments. **Journal of Food Protection**, v.70, p.2172-2198, 2007.

MANTILLA, S.P.S.; FRANCO, R.M.; OLIVEIRA, L.A.T.; SANTOS, E.B.; GOUVÊA, R. Importância da *Listeria monocytogenes* em alimentos de origem animal. **Revista da FZVA**, v.14, p.180-192, 2007.

MARTINS, E.A.; GERMANO, P.M.L. *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat, sliced, cooked ham and salami products, marketed in the city of São Paulo, Brazil: Occurrence, quantification, and serotyping. **Food Control**, v.22, p.297-302, 2011.

MEAD, P.S.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V.; McCAIG, L.F.; BRESEE, J.S.; SHAPIRO, C.; GRIFFIN, P.M.; TAUXE, R.V. Food-related illness and death in the United States. **Emerging Infectious Diseases**, v.5, n.5, p.607-625, 1999.

NAKARI, U.M.; RANTALA, L.; PIHLAJASAARI, A.; TOIKKANEN, S.; JOHANSSON, T.; HELLSTEN, C.; RAULO, S.M.; KUUSI, M.; SIITONEN, A.; RIMHANEN-FINNE, R. Investigation of increased listeriosis revealed two fishery production plants with persistent *Listeria* contamination in Finland in 2010. **Epidemiology and Infection**, v.24, p.1-9, 2014.

OLIVEIRA, M.M.M.; BRUGNERA, D.F.; PICCOLI, R.H. Biofilmes microbianos na indústria de alimentos: uma revisão. **Revista Instituto Adolf Lutz**, v.69, n.3, p.277-284, 2010.

PAL, A.; LABUZA, T.P.; DIEZ-GONZALEZ, F. Shelf life evaluation for ready-to-eat sliced uncured turkey breast and cured ham under probable storage conditions based on *Listeria monocytogenes* and psychrotroph growth. **International Journal of Food Microbiology**, v.126, p.49-56, 2008.

PRENCIPE, V.A.; RIZZI, V.; ACCIARI, V.; IANNETTI, L.; GIOVANNINI, A.; SERRAINO, A.; CALDERONE, D.; ROSSI, A.; MORELLI, D.; MARINO, L.; MIGLIORATI, G.; CAPORALE, V. *Listeria monocytogenes* prevalence, contamination levels and strains characterization throughout the Parma ham processing chain. **Food Control**, v.25, p.150-158, 2012.

ROCOURT, J.; BUCHRIESER, C. The genus *Listeria* and *Listeria monocytogenes*: phylogenetic position, taxonomy and identification. In: RYSER, E.T.; MARTH, E.H. **Listeria, listeriosis and food safety**. 3 ed. Boca Raton: CRC Press, 2007. Chap. 1, p.1-20, 2007.

SCHWAB, J.P.; EDELWEISS, M.I.A.; GRAÇA, D.L. Identificação de *Listeria monocytogenes* pela técnica de imunohistoquímica em tecido nervoso central de ruminantes. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.99, n.594, p. 65-66, 2004.

SIEGMAN-IGRA, Y.; LEVIN, R.; WEIBERGER, M.; GOLAN, Y.; SCHWARTZ, D.; SAMRA, Z.; KONIGSBERGER, H.; YINNON, A.; RAHAY, G.; KELLER, N.; BISHARAT, N.; KARPUCH, J.; FINKELSTEIN, R.; ALKAN, M.; LANDAU, Z.; NOVIKOV, J.; HASSIN, D.; RUDNICKI, C.; KITZES, R.; OVADIA, S.; SHIMONI, Z.; LANG, R.; SHOHAT, T. *Listeria monocytogenes* infection in Israel and review of cases worldwide. **Emerging Infectious Diseases**, v.8, p.305-310, 2002.

SILVA, W.P.; LIMA A.S.; GANDRA, E.A.; ARAÚJO, M.R.; MACEDO, M.R.P.; DUVAL, E.H. *Listeria* spp. no processamento de linguiça frescal em frigoríficos de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v.34, n.3, p.911-916, 2004.

SWAMINATHAN, B. *Listeria monocytogenes*. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R.; MONTVILLE, T.J. **Food microbiology**, fundamentals and frontiers. 2 ed., Washington D.C.: ASM. Chap.18, p.383-409, 2001.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5ª Ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 780p.

VÁSQUEZ-BOLAND, J. A.; KUHN, M.; BERCHE, P.; CHAKRABORTY, T.; DOMÍNGUEZ-BERNAL, G.; GOEBEL, W.; GONZÁLEZ-ZORN, B.; WEHLAND, J.; KREFT, J. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. **Clinical Microbiology Reviews**, v.14, n.3, p.584-640, 2001.

VORST, K.L.; TODD, E.C.D.; RYSER, E.T. Transfer of *Listeria monocytogenes* during mechanical slicing of Turkey Breast, Bologna and Salami. **Journal of Food Protection**, v.69, n.3, p.619-626, 2006.

PRINCIPAIS CAUSAS DE CONDENAÇÃO DE FÍGADO BOVINO EM ESTABELECIMENTO SOB SERVIÇO DE INSPEÇÃO FEDERAL NA ZONA DA MATA MINEIRA

Acadêmicas: Márcia Carolina Alves Klem e Sabrina Paiva de Souza

Orientadora: Letícia Ferreira da Silva

RESUMO

Além da carne *in natura*, as vísceras também são economicamente importantes, sendo estas reais fontes de ingredientes alimentares para a população mundial. Pelo fato do fígado ser um miúdo de valor comercial, a sua condenação na linha de inspeção acarreta grande perda econômica; tornando-se necessário o conhecimento da situação epidemiológica atual para controlar as doenças no rebanho, minimizando os prejuízos durante o abate. Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a prevalência das principais causas de condenação de fígado bovino em Matadouro-Frigorífico sob Serviço de Inspeção Federal, situado na Zona da Mata Mineira, no período compreendido entre 2007 e 2013. Para isso, foram utilizadas fichas relativas ao movimento mensal de abate de bovinos e de causas de condenação no referido estabelecimento. Durante este período, foram abatidos 150.752 bovinos e a prevalência de condenação hepática entre os anos variou de 9,38% a 14,09%. As principais patologias envolvidas foram abscesso, telangiectasia e fasciolose, responsáveis por 32,03%, 29,20% e 21,95% das condenações respectivamente. Além disso, foi observada uma tendência de redução na frequência de condenação por abscesso (3,26%) e telangiectasia (0,68%) ao ano, e, em contraposição, aumento por fasciolose de 3,40% ao ano. Este estudo mostra a utilidade da inspeção *post mortem* no monitoramento da saúde e produção animal.

PALAVRAS-CHAVE: Inspeção de carnes, saúde pública; miúdos; impacto econômico.

1. INTRODUÇÃO

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne (ABIEC), do total das exportações de carne bovina realizadas pelo Brasil, 10% são atribuídos aos miúdos. Durante os meses de janeiro a agosto de 2015, foi observada uma redução de 4% na exportação de miúdos (121.065 toneladas) quando comparado ao mesmo período do ano anterior (126.334 toneladas); no entanto, esta redução foi inferior a atribuída à carne *in natura*, de 19% (ABIEC, 2015).

Com isso, além da carne *in natura*, os miúdos, obtidos durante o processo de abate, também são economicamente importantes na cadeia produtiva da carne, pois acrescentam valor à produção dos Matadouros-Frigoríficos, uma vez que são reais fontes de nutrientes alimentares para a população mundial (CHIBA, 2005). Portanto,

é provável que os subprodutos alimentares se tornem ainda mais relevantes no futuro (KALE *et al.*, 2011).

A condenação de órgãos, vísceras e carcaças de animais destinados ao abate pelo Serviço de Inspeção veterinário é de extrema importância para a saúde pública, pois muitas das alterações patológicas são devidas a zoonoses. Tal prática tem o objetivo de tornar seguro o consumo humano dos alimentos inspecionados, mas também de afastar do comércio produtos com aspecto repugnante (HERENDA *et al.*, 1994).

Certo de que os órgãos são subprodutos que agregam valor na renda dos estabelecimentos de abate, torna-se necessário minimizar os prejuízos decorrente da condenação dos mesmos (CHIBA, 2005; KALE *et al.*, 2011). As condenações relatadas apresentam perdas econômicas diretas para a indústria (SOUZA *et al.*, 2007; KALE *et al.*, 2011) e indiretas para o produtor, uma vez que animais com órgãos comprometidos não terão o mesmo desempenho de produção e econômico quando comparados aos animais hígidos (PEREIRA *et al.*, 2006; MAS-COMA *et al.*, 2009; DUTRA *et al.*, 2010; SANCHEZ-VAZQUEZ & LEWIS, 2013).

O fígado é um órgão vital devido suas funções desintoxicantes e hemostáticas; porém, em virtude disso, torna-se suscetível às lesões causadas por afecções sistêmicas, parasitárias e infecciosas (CASTRO & MOREIRA, 2010). Ainda, por ser considerado um miúdo comestível e de valor comercial, a sua condenação durante as linhas de inspeção acarreta grande perda econômica, além de indicar alto grau de patologias nos animais abatidos (BRASIL, 1997; CASTRO & MOREIRA, 2010).

Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a prevalência das principais causas de condenação de fígado bovino em um Matadouro-Frigorífico sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), situado na Zona da Mata Mineira, no período compreendido entre janeiro de 2007 e dezembro de 2013. O conhecimento dessas informações permitirá a gerência do frigorífico sugerir aos produtores medidas de controle a serem tomadas com o intuito de promover a melhoria da sanidade do rebanho, evitando, assim, perdas econômicas para ambos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A inspeção sanitária da carne tem o propósito de garantir a segurança alimentar e a integridade da carne e seus produtos (PRATA & FUKUDA, 2001). Do ponto de vista sanitário, devem ser dois os alvos da inspeção de carnes, a saúde pública e a animal, restringindo a distribuição de carnes que podem ser danosas ao homem, e auxiliando na detecção e controle das doenças em rebanho, incluindo, também, aquelas de significativo impacto econômico, mesmo que não apresentem caráter zoonótico (PINTO, 2014).

Na inspeção *post mortem* órgãos e tecidos são averiguados, observam-se características externas, passam por palpação e, quando necessário, são realizados cortes sobre o parênquima (BRASIL, 1997). Órgãos e carcaças que apresentarem alterações serão julgados pelo médico veterinário e poderão ter destinações diversas, o que sempre gera depreciação no valor do produto final (SANCHEZ-VAZQUEZ & LEWIS, 2013).

O fígado é inspecionado na linha “E” de abate, onde são realizados exame visual das faces da peça e palpação, seguidos de cortes transversais com compressão dos ductos bilíferos, cortes nos nodos linfáticos da víscera e incisão da vesícula biliar (BRASIL, 1971). Após o julgamento sanitário, o órgão pode receber as seguintes destinações: liberação, quando não forem constatadas lesões; rejeição parcial, em casos de lesões discretas ou circunscritas, retirando-se somente as partes atingidas; ou condenação total quando apresentarem lesões difusas (BRASIL, 1971; PRATA & FUKUDA, 2001; PINTO, 2014).

Entre as causas de condenação do fígado bovino, aquelas que são mais comumente encontradas durante a rotina de inspeção *post mortem* são: abscesso, cirrose hepática, fasciolose, hidatidose, perihepatite e telangiectasia (CASTRO & MOREIRA, 2010).

2.1 Abscessos Hepáticos

Os abscessos, tidos como a principal causa de condenação de fígados bovinos no Triângulo Mineiro – MG entre os anos de 2005 e 2009, consistem de inflamações com formação de pus envoltas por uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso (COELHO, 2002; CASTRO & MOREIRA, 2010).

As causas do aparecimento dos abscessos hepáticos estão intimamente ligadas à colonização bacteriana do fígado pelas mais diversas causas (CULLEN, 2007). No entanto, esse achado em Matadouros-Frigoríficos geralmente é consequência de casos de ruminites, devido a distúrbios digestivos vindos de quadros de acidose ruminal em consequência de dietas ricas em concentrados (LECHTENBERG *et al.*, 1998; NAGARAJA & CHENGAPPA, 1998; KRAUSE & OETZEL, 2006; MENDES & PILATI, 2007).

Depois que se insere o quadro de ruminite no animal, as suas defesas naturais ficam comprometidas devido a essa lesão, o que acaba facilitando a entrada de micro-organismos do rúmen, principalmente bactérias da espécie *Fusobacterium necrophorum*; podendo, também, ocorrer o envolvimento de *Corynebacterium pyogenes*, *Staphylococcus* sp. e *Streptococcus* sp. Após invadirem o epitélio ruminal, as bactérias caem na circulação sanguínea através do sistema circulatório porta, chegando assim ao fígado, levando a infecção e a formação dos abscessos hepáticos (NAGARAJA & LECHTENBERG, 2007).

O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) define, em seu artigo 157, que órgãos atingidos de abscessos ou de lesões supuradas devem ser julgados pelos seguintes critérios: em se tratando de lesões localizadas, estas podem ser removidas, condenando apenas os órgãos e partes atingidas; carcaças ou partes de carcaça que se contaminarem com pus também devem ser condenados; e serão ainda condenadas as carcaças com alterações gerais (emagrecimento, anemia, icterícia) decorrentes de processo purulento (BRASIL, 1997).

2.2 Cirrose Hepática

Na cirrose hepática, a arquitetura do fígado fica totalmente alterada, reflexo de uma agressão crônica e generalizada do parênquima e que se agrava pela fibrose. É possível observar, ainda, muitas alterações nas quais se destacam, principalmente, a deposição de tecido fibroso, substituindo múltiplos lóbulos hepáticos. Esses septos fibrosos possuem canais vasculares, originados pelos capilares sinusóides ou por angiogênese, permitindo, assim, a chegada de algum sangue aos hepatócitos (STALKER & HAYES, 2007).

A progressão da lesão e a reorganização constante do tecido hepático, contudo, pode levar a compressão de vasos importantes, provocando isquemia na zona portal (STALKER & HAYES, 2007). Estudos referentes a esta doença em bovinos abatidos em estabelecimentos com inspeção, citam taxas de condenações hepáticas que variam desde 3,4% (BAPTISTA, 2008) a 21,7% (LOCATTELI *et al.*, 2008).

Considerando as indicações do artigo 175 do RIISPOA, os fígados com cirrose atrófica ou hipertrófica devem ser condenados, exigindo-se, ainda, rigoroso exame de toda a carcaça e demais vísceras do animal, no intuito de se eliminar a hipótese de doenças infectocontagiosas. Além disso, também devem ser condenados os fígados com cirrose decorrente de localização parasitária (BRASIL, 1997).

2.3 Fasciolose

A fasciolose, ou distomatose hepática, é uma doença que acomete animais de produção, como os ruminantes, mas, também, o homem, constituindo-se, portanto, uma zoonose (ALEIXO *et al.*, 2015). É causada pelo trematódeo *Fasciola hepatica*, que parasita o fígado de seus hospedeiros, levando a inflamação e ao fibrosamento dos ductos biliares (MAURE *et al.*, 1998; SILVA *et al.*, 2016). O homem se infecta pela ingestão de plantas aquáticas ou água contaminada com metacercárias (FERREIRA, 1991).

A fasciolose bovina normalmente é assintomática, no entanto, é um achado comum na rotina de inspeção de carnes (SANCHEZ-VAZQUEZ & LEWIS, 2013). Portanto, é essencial o estudo dessa doença não só a campo, mas, principalmente, em frigoríficos (BORAY, 1999; TORGERSON *et al.*, 1999).

Trata-se de uma doença de grande importância médico veterinária, pelo seu impacto na saúde pública e em decorrência das perdas econômicas, resultantes da condenação de grande número de fígados de bovinos parasitados, além, também, de provocar queda na produção e na qualidade do leite e da carne destes animais (QUEIROZ *et al.*, 2002; MAS-COMA, 2005).

Dados referentes a quatro Matadouros-Frigoríficos sob Serviço de Inspeção Municipal (SIM), situados em Santa Maria – RS, revelaram que o fígado foi a víscera que mais sofreu condenação total, no período de 2010 a 2011, sendo que a principal

doença responsável pelos prejuízos econômicos foi a fasciolose, causando um déficit de R\$ 36.361,63 (FRUET *et al.*, 2013).

Para que se consiga minimizar as perdas econômicas em consequência desta parasitose, uma vez que os fígados infestados sempre serão condenados (artigo 179 do RIISPOA), torna-se necessário fazer uso do relatório de abate como um instrumento de diagnóstico da saúde do rebanho, para que assim seja possível realizar o rastreamento e o controle do parasito na propriedade rural (BRASIL, 1997; SILVA *et al.*, 2008; FRUET *et al.*, 2013).

2.4 Hidatidose

A hidatidose é uma zoonose, causada pelo *Echinococcus granulosus*, que representa um grande problema de saúde pública em locais de exploração pecuária, sendo a região Sul do Brasil o local onde a doença é tida como endêmica (OPS, 2005).

A fase larval do parasita (hidátide ou cisto hidático) é a responsável por parasitar vísceras (fígado, pulmão, rins, baço e coração) de bovinos, coelhos, equinos, ovinos, primatas e do homem, que funcionam como hospedeiro intermediário (MORO *et al.*, 1999; OPS, 2006). Os cistos frequentemente são encontrados nas vísceras de animais abatidos (MORO *et al.*, 1997).

O prejuízo econômico sobre a perda de vísceras devido a hidatidose é importante, uma vez que uma das formas de prevenir que essa doença atinja o homem, é com a condenação das vísceras acometidas, retirando-as, assim, do comércio (MENDES, 1990). Segundo Palma (2013), a hidatidose apresentou uma prevalência de 0,50%, no período de março a maio de 2012, em quatro estabelecimentos, sendo três sob SIF localizados no Estados de Goiás e um sob Serviço de Inspeção Estadual (SIE), no Distrito Federal.

De acordo com o artigo 180 do RIISPOA, órgãos com lesões periféricas calcificadas podem ser aproveitados dentro de certas condições a juízo da Inspeção Federal, logo após as partes atingidas serem retiradas. Porém, em casos de infecções graves o órgão deve ser obrigatoriamente condenado (BRASIL, 1997).

2.5 Perihepatite

A perihepatite é o processo inflamatório do fígado mais comumente encontrado nas espécies de açougue durante o seu abate, se manifestando por espessamento da cápsula hepática e mudança de coloração, tendendo a esverdeada; e pode ter relação com infecção parasitária (PINTO, 2014) e bacteriana, uma vez que Freitas e colaboradores (1995) ao estudarem esta patologia em bubalinos, isolaram como agente etiológico, a *Chlamydia psittaci*. Ainda, o espessamento desta cápsula também pode causar aderência às outras vísceras (COELHO, 2002).

Esta patologia foi relatada por Castro & Moreira (2010), em um Matadouro-Frigorífico sob SIF no Triângulo Mineiro – MG, com uma frequência de 6,91% no período de janeiro de 2005 a dezembro de 2009, sendo responsável por um considerável prejuízo econômico; uma vez que órgãos que apresentarem coloração anormal ou que apresentarem aderência, devem ser sempre condenados de acordo com o artigo 191 do RIISPOA (BRASIL, 1997).

2.6 Telangiectasia

A telangiectasia é uma alteração circunscrita ao parênquima hepático, em consequência da dilatação de grupos capilares sinusóides, principalmente em bovinos de idade mais avançada (PINTO, 2014).

Foi apontada como a segunda maior causa de condenação de fígados na linha de inspeção, apresentando frequência de 19,18% em 2011 em um estabelecimento sob SIF no município de Uberlândia- MG (SILVA *et al.*, 2013). A condenação total de fígados devido a esta alteração também é habitual em estabelecimentos de abate sob o SIE, devido ao aspecto repugnante do órgão, apesar de não apresentar significado clínico (MENDES & PILATI, 2007).

Nos casos desta afecção, deve-se seguir os seguintes critérios de julgamento e destinação do órgão: condenação total, quando a lesão atingir metade ou mais do órgão; ou rejeição parcial, no caso de lesões discretas, após a condenação das partes atingidas (BRASIL, 1997).

3. METODOLOGIA

O presente estudo foi desenvolvido em colaboração com um Matadouro-Frigorífico sob SIF situado na região da Zona da Mata mineira, o qual aprovou o mesmo e disponibilizou os dados utilizados. Trata-se de um estudo retrospectivo, realizado por um levantamento epidemiológico de dados no referido estabelecimento.

3.1 Base de dados

Foram utilizadas, como fonte de informação, fichas relativas ao movimento mensal de abate de bovinos, no período compreendido entre janeiro de 2007 e dezembro de 2013, em um Matadouro-Frigorífico localizado na Zona da Mata mineira, sob regime do SIF. Estas fichas forneceram os registros das atividades de abate realizadas durante a rotina de inspeção *post mortem*, proporcionando informações como data do abate, número de animais abatidos, parte animal, diagnóstico e destinação das peças. Foram considerados os dados relativos às doenças diagnosticadas no fígado na linha de inspeção “E”, em exame *post mortem*, responsáveis por condenação.

Os animais foram abatidos e inspecionados seguindo as normas dispostas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL,1971; BRASIL, 1997). Os fígados nos quais foram detectadas alterações ou lesões durante a sua linha de inspeção foram condenados pelo agente de inspeção e encaminhados à graxaria, para elaboração de subprodutos não comestíveis. Os achados foram anotados em papeleta específica de condenação do Departamento de Inspeção Final e, em seguida, transferidos para o sistema online de notificação do MAPA, o Sistema de Informações Gerenciais do Serviço de Inspeção Federal.

3.2 Análise dos Resultados

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

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

No período de janeiro 2007 a dezembro de 2013 foram abatidos 150.752 bovinos no referido Matadouro-Frigorífico. Deste total, foram condenados 16.832 fígados por apresentarem algum tipo de lesão ou alteração hepática, registrando-se uma prevalência total de 11,17% na região da Zona da Mata mineira (TABELA 1). Ainda, como pode ser observado, também na Tabela 1, a frequência de condenações hepáticas apresentou discreto aumento de 11,33% em 2007 para 11,69%, em 2013.

Os resultados observados foram demasiadamente baixos em comparação aos obtidos por Vieira e colaboradores (2011), que encontraram um percentual de condenação de fígados bovinos variando de 40,2% a 48,5%, no município de Atílio Vivacqua no sul do estado do Espírito Santo, em um Matadouro-Frigorífico sob SIE, entre os anos de 2008 a 2010. Entretanto, mostraram-se equivalentes em relação aos relatados por Silva e colaboradores (2013), com 12,36% de condenações hepáticas em um Matadouro-Frigorífico sob SIF em Uberlândia – MG, no ano de 2011. Valores semelhantes também foram obtidos por Baptista (2008), com 12,7% de condenação hepática para todo o estado do Espírito Santo.

TABELA 1. Número de bovinos abatidos e frequência das condenações de fígados, em um Matadouro-Frigorífico da região da Zona da Mata mineira, nos anos de 2007 a 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal

Ano	Número de bovinos abatidos	Fígados condenados	
		n	%
2007	17.820	2.019	11,33
2008	31.094	2.917	9,38
2009	21.413	2.380	11,11
2010	22.193	3.126	14,09
2011	19.424	2.294	11,81
2012	21.906	2.120	9,68
2013	16.902	1.976	11,69
Total	150.752	16.832	11,17

Estas condenações representaram perda econômica considerável ao longo do período estudado. Levando-se em consideração o total de fígados condenados (TABELA 1) e o valor pelo qual o referido estabelecimento repassa esse miúdo ao

comércio (R\$ 6,50), foram perdidos R\$ 109.408,00, o que daria em média R\$ 15.629,71 por ano. Já um estudo realizado por Fruet e colaboradores (2013) em quatro matadouros sob SIM do município de Santa Maria – RS, constatou-se que o fígado obteve atuação de maior relevância nas perdas por condenação no período de outubro de 2010 a setembro de 2011, resultando em um prejuízo de R\$ 50.943,27 para os estabelecimentos pesquisados.

Portanto, tendo em vista que o fígado é um dos miúdos mais valorizados comercialmente, fica evidente a importância de se evitar tais condenações por meio de planos de ações, estimulando o produtor a realizar um manejo sanitário adequado do rebanho, baseado em medidas profiláticas, a fim de otimizar a cadeia produtiva da carne (SILVA *et al.*, 2013; SANCHEZ-VAZQUEZ & LEWIS, 2013).

Entre as causas de condenações hepáticas ilustradas na Figura 1, o abscesso apresentou a maior prevalência (3,56%), seguido da telangiectasia (3,29%) e fasciolose (2,44%). Porém, também foram diagnosticadas, embora em menor proporção, condenações por cirrose (0,27%), perihepatite (0,23%), hidatidose (0,14%), e outras causas (1,22%), como contaminação e congestão, que não foram contabilizadas individualmente (FIGURA 1).

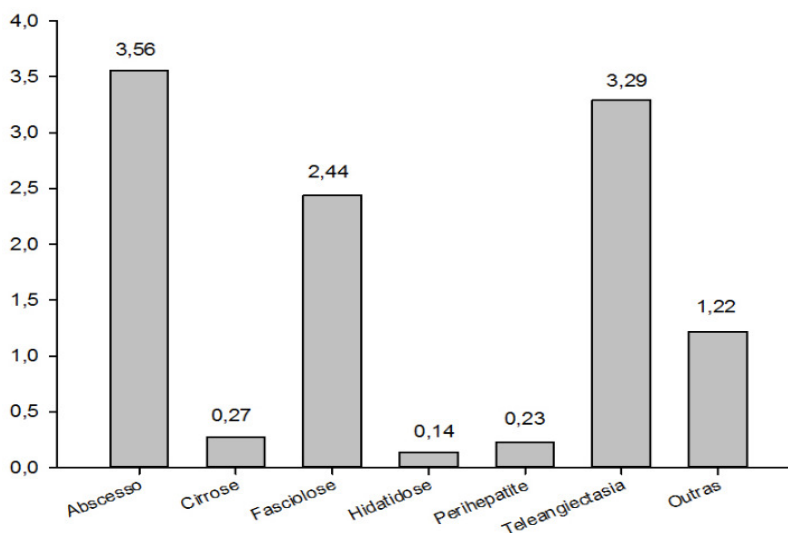


FIGURA 1. Prevalência (%) das causas de condenações hepáticas diagnosticadas em um Matadouro-Frigorífico da Zona da Mata Mineira, entre os anos de 2007 a 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal.

Concordando com os resultados obtidos no presente trabalho, Castro e Moreira (2010), também identificaram o abscesso como a principal causa de condenação hepática, com prevalência de 2,40% em um Matadouro-Frigorífico sob SIF, no período de janeiro de 2005 a dezembro de 2009, no Triângulo Mineiro,

Minas Gerais. Entretanto, segundo Vieira e colaboradores (2011), essa foi a quarta maior causa de condenação na região Sul do Espírito Santo, com 2,26%, de 2008 a 2010.

Com relação às condenações por telangiectasia, Vieira e colaboradores (2011) também a encontraram como a segunda principal causa, apesar de terem observado uma prevalência superior à deste estudo (5,30%). Já segundo Castro e Moreira (2010), a telangiectasia foi a quarta maior causa de condenação hepática, mostrando-se com prevalência inferior, de apenas 0,59%.

A prevalência encontrada para fasciolose neste trabalho, foi consideravelmente superior a relatada por Aleixo e colaboradores (2015), que encontraram uma prevalência de 0,01% em todo estado de Minas Gerais; contudo, mostrou-se extremamente inferior a encontrada por Vieira e colaboradores (2011), de 27,04%, e por Gomes e colaboradores (2002), que encontraram uma taxa de infecção de 15,38% em bovinos abatidos em Campos dos Goytacases – RJ. As grandes variações observadas quanto às condenações por fasciolose nos diferentes estados citados, se dão, principalmente, devido ao fato do estado do Espírito Santo ser emergente para essa parasitose (FRAGA, 2008).

Além disso, a ocorrência de fasciolose bovina é fortemente influenciada por uma associação de condições climáticas, como nível de precipitação e o número de dias chuvosos, com alguns parâmetros ambientais, como o tipo de solo e a presença de áreas alagadiças, sendo estes considerados fatores de risco para a fasciolose e responsáveis pela distribuição espacial desigual da doença (MAS-COMA *et al.*, 2009; SELEMETAS & WAAL, 2015).

Em relação as demais doenças diagnosticadas (cirrose, perihepatite, hidatidose e outras), essas também se mostraram relevantes nos prejuízos por condenação, uma vez que juntas apresentam uma prevalência de 1,86% (FIGURA 1). Palma (2013) também encontrou prevalências semelhantes para cirrose (0,35%), perihepatite (0,64%), hidatidose (0,50%) e outras (2,69%), que somadas apresentaram total de 4,18%, mostrando que, apesar de pouco prevalentes, quando somadas acarretam grandes prejuízos ao Matadouro-Frigorífico, fazendo-se importante a prevenção de fatores que acarretam tais lesões.

Segundo a Tabela 2, o percentual de condenações hepáticas por abscessos variou de 17,86% a 38,77% durante os 7 anos estudados. Concordando com os

resultados deste trabalho, Castro e Moreira (2010), verificaram que os abscessos foram responsáveis por 37,27% das condenações hepáticas, na região do Triângulo Mineiro, entre janeiro de 2005 a dezembro de 2009.

Contudo, Silva e colaboradores (2013), reportaram uma frequência bastante superior a estas, também no estado de Minas Gerais, onde os abscessos foram responsáveis por 63,64% das condenações de fígados de bovinos abatidos em um Matadouro-Frigorífico sob SIF, no período de janeiro a dezembro de 2011, em Uberlândia. Já Vieira e colaboradores (2011) demonstraram uma frequência inferior à deste trabalho, variando de 4,44% a 5,84% na região sul do Espírito Santo, no período de 2008 a 2010.

Tais achados podem ser explicados pelos diferentes manejos de criação adotados em cada região descrita, uma vez que maiores índices de abscessos hepáticos podem ser ocasionados devido ao sistema de confinamento (VECHIATO *et al.*, 2011).

A telangiectasia foi responsável por 18,15% a 48,83% das condenações hepáticas de 2007 a 2013 na região da Zona da Mata mineira (TABELA 2), aproximando-se com os achados de Mendes e Pilati (2007), onde 32,30% dos fígados bovinos condenados em dois frigoríficos sob SIE, na região do Planalto Serrano e do Alto Vale do Itajaí, em Santa Catarina, foram em decorrência de telangiectasia; e de Silva e colaboradores (2013), com uma frequência de 19,18% de condenações em Uberlândia – MG, no ano de 2011.

Corroborando com os resultados apresentados, Pinto (2014) relata que, juntamente com os abscessos, a telangiectasia tem alcançado as mais altas frequências em fígado de bovinos abatidos, o que pode ser justificado, principalmente, pelo abate de animais mais velhos.

Ainda, pode ser observado também na Tabela 2, que o percentual de condenação por fasciolose variou de 11,00% a 32,36% entre os anos estudados. Resultados semelhantes foram encontrados por Baptista (2008) e Mendes e Pilati (2007), onde a fasciolose foi responsável por 38,60% das condenações hepáticas no Espírito Santo e por 18,50% em Santa Catarina, respectivamente. Por outro lado, o percentual encontrado por Vieira e colaboradores (2011), foi consideravelmente superior, variando de 58,51% a 64,70%.

Como dito anteriormente, estas variações nos achados de fasciolose podem estar relacionadas com o manejo dado em cada região, sendo o sistema extensivo o de maior risco para a manutenção do parasita (ANDREWS, 1999; MENDES & PILATI, 2007). Além disso, pode ser influenciada pela temperatura e umidade (climas temperados) e por condições ambientais (baixa altitude e hidrografia com presença de áreas alagadiças), já que estes fatores contribuem para a manutenção dos moluscos, hospedeiros intermediários, e, conseqüentemente, com a disseminação do agente etiológico (BORAY, 1991; ROBERTS & SUHARDONO, 1996; ANDREWS, 1999).

Por fim, com base ainda nos dados fornecidos pela Tabela 2, foram realizadas análises de regressão linear das três principais causas de condenação hepática na Zona da Mata mineira, podendo observar que a frequência de condenações por abscesso e telangiectasia decresceram, enquanto a ocorrência de fasciolose aumentou ao longo dos sete anos pesquisados, como mostra a Figura 2.

TABELA 2. Quantitativo e percentual das causas de condenações de fígados bovinos na linha de inspeção "E", em um Matadouro-Frigorífico da Zona da Mata Mineira, nos anos de 2007 a 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal

Causa	2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013	
	n	%	n	%	n	%	n	%	N	%	n	%	n	%
Abscesso	764	37,84	1.131	38,77	846	35,55	1.032	33,01	708	30,86	540	25,47	353	17,86
Cirrose	8	0,40	4	0,14	124	5,21	173	5,53	62	2,70	34	1,60	0	0
Fasciolose	222	11,00	519	17,79	454	19,08	587	18,78	614	26,77	684	32,36	602	30,47
Hidatidose	9	0,45	3	0,10	62	2,61	65	2,08	35	1,53	36	1,70	8	0,40
Perihepatite	0	0	0	0	116	4,87	144	4,61	33	1,44	46	2,17	14	0,71
Telangiectasia	986	48,83	871	29,86	432	18,15	692	22,14	555	24,19	594	28,02	824	41,70
Outras	30	1,48	389	13,34	346	14,53	433	13,85	287	12,51	186	8,77	175	8,86
Total	2.019	100	2.917	100	2.380	100	3.126	100	2.294	100	2.120	100	1.976	100

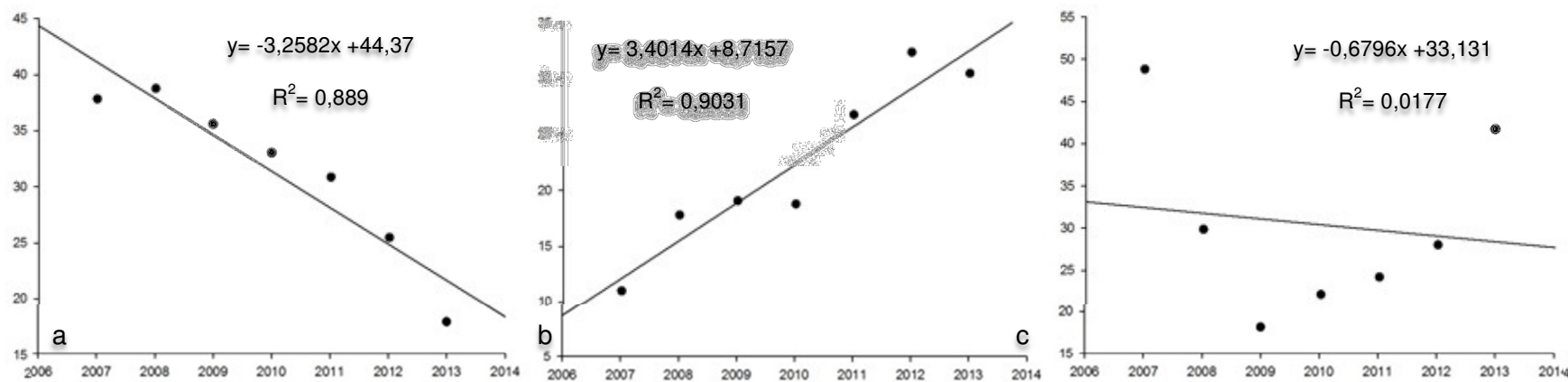


FIGURA 2. Análise de regressão linear da frequência (%) das três principais causas de condenações de fígados bovinos, em um Matadouro-Frigorífico da Zona da Mata mineira, entre 2007 e 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal: a) Abscesso; b) Fasciolose; c) Telangiectasia.

Segundo a Figura 2a, observa-se um decréscimo no percentual de condenações por abscesso entre os anos de 2007 a 2013, com redução da frequência de 3,26% ao ano, com 89% de confiança. Trata-se de um resultado positivo para a região da Zona da Mata mineira, pois as perdas decorrentes dos abscessos são as mais variadas, entre as quais destacam-se a redução no ganho de peso dos animais, que pode chegar a 11%, a eficiência alimentar desses animais sofre uma redução de até 9,7%, e ocorre, também, queda na taxa de crescimento de 5,8% a 12,7% naqueles animais que são acometidos, o que gera uma grande perda econômica para os pecuaristas e para os demais envolvidos neste processo (BRINK *et al.*, 1990; NAGARAJA & CHENGAPPA, 1998; NAGARAJA & LECHTENBERG, 2007).

Já com relação ao percentual de condenação por fasciolose, foi observado um aumento de 3,40% na frequência ao ano (90% de confiança), durante o período avaliado (FIGURA 2b). Bernardo e colaboradores (2011), ao avaliarem as condenações de fígados bovinos no sul do Espírito Santo, verificaram, para fasciolose, uma tendência histórica crescente entre os anos de 2006 a 2009, indo de acordo com o descrito no presente trabalho. Estes resultados vão de encontro com o descrito por Aleixo e colaboradores (2015), que afirmaram que a fasciolose está, no momento, se expandindo por todo o Brasil.

Trata-se de uma informação de grande importância, já que, além de aumentar as condenações hepáticas, a fasciolose também reflete negativamente no rendimento final da carcaça, uma vez que carcaças de bovinos parasitados por *F. hepatica* apresentam piores conformações, com menor espessura de gordura de cobertura e menor peso após a refrigeração, devido ao gotejamento excessivo (SANCHEZ-VAZQUEZ & LEWIS, 2013).

Sobre o perfil de condenações por telangiectasia, devido às variações anuais no período em questão, a análise de regressão não foi confiável (0,02% de confiança); no entanto, pode ser observada uma discreta tendência decrescente, com redução de 0,67% da frequência ao ano (FIGURA 2c). Apesar desse processo não apresentar reflexos sobre a saúde humana, este comportamento decrescente é de grande importância econômica, já que os fígados afetados por esta patologia são rejeitados para consumo pelo aspecto repugnante que apresenta; além disso, o fato de a etiologia ser desconhecida dificulta a aplicação de métodos de prevenção (BRASIL, 1997; MENDES & PILATI, 2007).

5. CONCLUSÃO

Durante o período estudado foram observadas várias afecções responsáveis por causar condenações de fígados bovinos na região estudada, dentre elas destacaram-se três como as mais prevalentes: abscesso, telangiectasia e fasciolose. Essas condenações resultaram em perdas econômicas de grande relevância tanto para o Matadouro-Frigorífico quanto para os produtores.

Deve-se ressaltar, ainda, a importância de algumas dessas afecções para a saúde pública, mostrando a utilidade da inspeção *post mortem* em Matadouros-Frigoríficos como uma ferramenta para monitorar a saúde e a produção animal e para preservar pela saúde pública.

REFERÊNCIAS

ALEIXO, M.; FREITAS, D.F.; DUTRA, L.H.; MALONE, J.; MARTINS, I.V.F.; MOLENTO, M.B. *Fasciola hepatica*: epidemiology, perspectives in the diagnostic and the use of geoprocessing systems for prevalence studies. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, 1451–1466, 2015.

ANDREWS, S.J. The life cycle of *Fasciola hepatica*. In: DALTON, J. *Fasciolosis*. **New York: CAB International**, Chapter 1. p. 1-20, 1999.

ABIEC. **Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne**. Exportações de carne bovina (período: jan/2015-ago/2015). Disponível em <http://www.abiec.com.br/download/Anual_jan_ago_2015.pdf>. Acesso em: 22 set. 2015.

BAPTISTA, A.T. **Quantificações das condenações em vísceras de bovinos em 2007 nos matadouros-frigoríficos do estado do Espírito Santo registrados no Serviço de Inspeção Estadual**. 2008. Monografia (Pós-Graduação em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) – Universidade Castelo Branco, Vitória - ES, 2008. 22p.

BERNARDO, C.C.; CARNEIRO, M.B.; AVELAR, B.R.; DONATELE, D.M.; MARTINS, I.V.F.; PEREIRA, M.J.S. Prevalência de condenação de fígados bovinos por fasciolose no Sul do Espírito Santo: distribuição temporal e perdas econômicas. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.20, n.1., p.49-53, 2011.

BORAY, J.C. Current status of the control of trematode infections in livestock in developing countries. Working Paper for Expert Consultation on Helminth Infections of Livestock in Developing Countries, **FAO**, p.1-33, Rome, 1991.

BORAY, J.C.; FAIRWEATHER, I. Fasciolicides: efficacy, actions, resistance and its management. **Veterinary Journal**, v.158, p.88-91, 1999.

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 1.812 de 08-02-96 e nº 2.244 de 04-06-97. Brasília, 1997. 174p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Inspeção de carnes. Padronização de técnicas, instalações e equipamentos. Tomo I: Bovinos.** Brasília, 1971, 168p.

BRINK, D.R.; LOWRY, S.R.; STOCK, R.A.; PARROTT, J.C. Severity of liver abscess and efficiency of feed utilization of feedlot cattle. **Journal Animal Science**, v.68, n.5, p.1201-1207, 1990.

CASTRO, R.V.; MOREIRA, M.D. **Ocorrências patológicas encontradas de rins e fígados bovinos em matadouro frigorífico do Triângulo Mineiro.** 2010. Disponível em: <<http://www.fazu.br/ojs/index.php/posfazu/article/viewFile/343/249>>. Acesso em: 26 set. 2015.

CHIBA, L.I. By-product feeds: animal origin. In: **Encyclopedia of Animal Science.** 2.ed. Alabama: Taylor & Francis, 2005. p.169-174.

COELHO, H.E. **Patologia Veterinária**, Barueri: MANOLE, 2002. 234p.

CULLEN, J.M. Liver, biliary system, and exocrine pancreas. In: McGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. **Pathologic Basis of Veterinary Disease.** 4.ed. St. Louis: MosbyElsevier, 2007.p.393-461.

DUTRA, L.H.; MOLENTO, M.B.; NAUMANN, C.R.C.; BIONDO, A.W.; FORTES, F.S.; SAVIO, D.; MALONE, J.B. Mapping risk of bovine fasciolosis in the south of Brazil using geographic information systems. **Veterinary Parasitology**, v.169, p.76-81, 2010.

FERREIRA, B. Parasitoses em produção animal e saúde pública. **Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas**, v.3, p.183-190, 1991.

FRAGA, J.C.L. **Incidência da Fasciolose Hepática Bovina no Sul do Espírito Santo.** Trabalho de conclusão de curso (Especialização) - Instituto Brasileiro de Pós-Graduação Qualittas, Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro, 2008. 29p.

FREITAS, J.A.; MACHADO, R.D.; NAKAUTH, C.; NORONHA, S.L.B; RAMOS, O.S. Caracterização da cepa *Clamidia psittaci* oriunda de polisserosite de bubalinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.62, p.53-58, 1995.

FRUET, A.P.B.; FABRÍCIO, E.A.; KIRINUS, J.K.; SCORTEGAGNA, A.; DÖRR, A.C.; NÖMBERG, J.L. Perdas econômicas oriundas das condenações de vísceras bovinas em matadouros de Santa Maria, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.20, p.99-103, 2013.

GOMES, F.F.; OLIVEIRA, F.C.R.; PILE, E.A.; LOPES, C.W.G. Estabelecimento de foco de fasciolose hepática em propriedade do município de Campos dos

Goytacazes no estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v.22, n.2, p.53-56, 2002.

HERENDA, D.P.G.; CHAMBERS; A.; ETTRIQUI, P.; SENEVIRATNA, T.J.P.S. **Manual on meat inspection for developing countries**. Roma, Itália: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1994. p.234-236.

KALE, M.C.; ARAL, Y.; AYDIN, E.; CEVGER, Y.; SAKARYA, E.; GÜLOGLU, S.C. Determination of by-product economic values for slaughtered cattle and sheep. **Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi**, v.17, n.4, p.551-556, 2011.

KRAUSE, K.M.; OETZEL, G.R. Understanding and preventing subcuteruminal acidosis in dairy herds: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.126, n.3/4, p.215- 236, 2006.

LECHTENBERG, K.F.; NAGARAJA, T.G.; CHENGAPPA, M.M. Antimicrobial susceptibility of *Fusobacterium necrophorum* isolated from bovine hepatic abscess. **America Journal Veterinary Research**, v.59, n.1, p.44-47, 1998.

LOCATELLI, J.; DOS REIS, I.D.; VIAN, V.S.; SCHNS, S.V.; Estudo retrospectivo de condenações de fígados em frigorífico com S. I. E., no município de Jarú-RO no período de 2004 a 2006. **Revista ULBRA JP**, v.2, 2008.

MAS-COMA, S. Epidemiology of fascioliasis in human endemic areas. **Journal of Helminthology**, v.79, p.207-216, 2005.

MAS-COMA, S.; VALERO, M.A.; BARGUES, M.D. Climate change effects on trematodiasis, with emphasis on zoonotic fascioliasis and schistosomiasis. **Veterinary Parasitology**, v.163, p.264-280, 2009.

MAURE, E.A.P.; BUSTAMANTE, M.; SERRA-FREIRE, N.M.; GOMES, D.C. Dinâmica de *Lymnaea columella* (Say, 1817), hospedeiro intermediário de *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) em municípios do Estado de São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.35, p.151-155, 1998.

MENDES, A.; CALDEIRA, F.M.C.; BRESSAN, M.C.; RABELO, A.M.G.; FARIA, P.B. **Hidatidose: Riscos à saúde pública e causa de prejuízo aos frigoríficos**. Lavras: Editora UFLA, 1990. 23p. Disponível em: <<http://www.editora.ufla.br/index.php/component/phocadownload/category/56-boletins-de-extensao?download=1131.boletinsextensao>>. Acesso em: 3 dez. 2015.

MENDES, R.E.; PILATI, C. Estudo morfológico de fígado de bovinos abatidos em frigorífico industriais sob inspeção estadual no Oeste e no Planalto de Santa Catarina, Brasil. **Ciência Rural**, v.37, n.6, p.1728-1734, 2007.

MORO, P.L.; BONIFACIO, N.; GILMAN, R.H.; LOPERA, L.; SILVA, B.; TAKUMOTO, R.; VERASTEGUI, M.; CABRERA, L. Field diagnosis of *Echinococcus granulosus* infection among intermediate and definitive hosts in an endemic focus of human cystic echinococcosis. **Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.93, p.611-615, 1999.

MORO, P.; VERASTEGUI, M.; GILMAN, R.H.; FALCON, N.; BERNAL, T.; GAVIDIA, C.; GONZALEZ, A.; MALQUI, V.; MORO, M.H.; DUEGER, E. Enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay for diagnosis of hydatidosis (*Echinococcus granulosus*) in sheep. **The Veterinary Record**, v.140, p.605-606, 1997.

NAGARAJA, T.G.; CHENGAPPA, M.M. Liver abscess in feedlot: a review. **Journal Animal Science**, v.76, p.287-298, 1998.

NAGARAJA, T.G.; LECHTENBERG, K.F. Liver abscess in feedlot cattle. **Veterinary Clinics Food Animal**, v.23, n.2, p.351-369, 2007.

OPS - ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE. **Informe de la 2ª Reunion del Proyecto Subregional Cono Sur de Control y Vigilancia de la Hidatidosis: Argentina, Brasil, Chile y Uruguay**. Montevideo: OPS, 2005.

OPS - ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE. Hidatidosis. **3ª Reunion del Proyecto Subregional Cono Sur de Control y Vigilancia de la Hidatidosis**. 2006. Disponível em: <http://www.panaftosa.org.br/inst/zoonosis/hidatidosis/informe_final_hid.doc.2006>. Acesso em: 3 dez. 2015.

PALMA, J.M. **Principais lesões em carcaças e órgãos de bovinos oriundos de frigoríficos no Distrito Federal e Goiás**. Monografia apresentada para a conclusão do Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília. 2013. 28p.

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 do serviço de inspeção federal (SIF- RJ), no período de 1997 a 2003. **Arquivo do Instituto Biológico de São Paulo**, v.73, n.1, p.83-87, 2006.

PINTO, P.S.A. **Inspeção e Higiene de Carnes**. 2.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2014. 389p.

PRATA, L.F.; FUKUDA, R.T. **Fundamentos de higiene e inspeção de carnes**. Jaboticabal: UNESP, 2001. 349p.

QUEIROZ, V.S.; LUZ, E.; LEITE, L.C. CÍRIO, S.M. *Fasciola hepatica* (Trematoda, Fasciolidae): estudo epidemiológico nos municípios de Bocaiúva do Sul e Tunas do Paraná (Brasil). **Acta Biológica Paranaense**, Curitiba, v.31, p.99-111, 2002.

ROBERTS J.A., SUHARDONO. Approaches to the control of fasciolosis in ruminants. **International Journal for Parasitology**, v.26, 971–981, 1996.

SANCHEZ-VAZQUEZ, M.J.; LEWIS, F.I. Investigating the impact of fasciolosis on cattle carcass performance. **Veterinary Parasitology**. v.193, p.307-311, 2013.

SELEMETAS, N., WAAL, T. Detection of major climatic and environmental predictors of livers fluke exposure risk in Ireland using spatial cluster analysis. **Veterinary Parasitology**, v.209, p.242–253, 2015.

SILVA, A.E.P.; FREITAS, C.C.; DUTRA, L.V.; MOLENTO, M.B. Assessing the risk of bovine fasciolosis using linear regression analysis for the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.217, p 7-13, 2016.

SILVA, E.R.V; CAPOANI, R.Q.; RITZ, R.; SURIAN, C.R.S.; NEVES, M.F. Fasciolose hepática. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n.11, 2008. Disponível em: <<http://www.revista.inf.br/veterinaria11/revisao/edic-vi-n11-RL47.pdf>>. Acesso em: 3 Dez 2015.

SILVA, M.C.A.; MENDONÇA, G.A.; SOARES, D.B.; BUENO, J.P.R. Alterações anatomopatológicas identificadas na inspeção *post mortem* em bovinos no abatedouro frigorífico no município de Uberlândia- MG. **Enciclopédia Biosfera**, v.9, n.17; 82p. 2013.

SOUZA, V.K.; PESSÔA-SILVA, M.C.; KOWALCZUK, M.; MARTY, S.; THOMAZ-SOCCOL, V. 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, p.92-96, 2007.

STALKER, M.J.; HAYES, M.A. Liver and biliary system. In M.G. Maxie (Ed.). **Pathology of domestic animals: II volume**. 5th ed., Philadelphia: Saunders Elsevier. 297-388p, 2007.

TORGERSON, P.; CLAXTON, J. Epidemiology and Control, In: DALTON J.P. **Fasciolosis**. Londres. Cab international. 1999.

VECHIATO, T.A.F.; MASCHIO, W.; BOM, L.C.; LOPES, P.D.; ORTOLANI, E.L. Estudo retrospectivo de abscessos hepáticos em bovinos abatidos em um frigorífico paulista. Brazilian. **Journal Veterinary Research Animal Science**, v.48, n.5, p.384-391, 2011.

VIEIRA, N.P.; FARIA P.B.; MATTOS, M.R.; PEREIRA, A.A. Condenação de fígados bovinos na região sul do estado do Espírito Santo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.6, p.1605-1608, 2011.

PRINCIPAIS AFECÇÕES ODONTOLÓGICAS EM EQUINOS REFERENCIADOS AO HOSPITAL ESCOLA VETERINÁRIO GARDINGO LTDA.

Acadêmicos: Altamir Pedro de Oliveira Neto e Luana Calil de Oliveira

Orientador: Bruno Santos Cândido de Andrade

RESUMO

Afecções odontológicas, estão entre os principais problemas encontrados em equinos, conseqüentemente se associam a perda de peso, dificuldade para deglutir e redução do desempenho podendo até mesmo levá-los a morte. Sendo assim este trabalho tem por objetivo realizar um levantamento sobre as principais afecções odontológicas que acometem os equinos encaminhados por diferentes razões ao Hospital Escola Veterinário Gardingo LTDA. Foram analisados seis equídeos entre os meses de fevereiro a abril do ano 2016, animais estes de ambos os Sexos e idades diferentes. Todos os animais analisados apresentaram alguma afecção odontológica, tais como: Pontas de esmalte dentário, dente de lobo, fratura, doença periodontal, doença periapical e diastemas. Tendo em vista os resultados obtidos, conclui-se que um exame periódico da cavidade oral dos equinos por um médico veterinário é de grande valor, para diagnosticar e tratar tais afecções.

PALAVRAS CHAVES: Afecções odontológicas, equino, odontologia.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui a quarta maior população de equinos no mundo, animais estes usados para lazer, trabalho ou em competições esportivas (GUERRA JUNIOR, 2010). A saúde bucal é essencial para estabelecer e manter a higidez dos animais, propiciando-os bem estar e melhora na fisiologia mastigatória (CUNNINGHAM & KLEIN, 2008).

A mecânica bucal tem a finalidade de reduzir o tamanho das partículas apreendidas pelos lábios e dentes, umedece-las e pré digeri-las, para melhor digestão gástrica e intestinal (THOMASSIAN, 2005). Contudo somente uma pequena parte da população equina passa por uma avaliação odontológica periódica. A outra parcela da população, é negligenciada devido a falta de informação, limitações econômicas, e indisponibilidade de profissionais especializados em realizar o serviço (ROSCOE, 2007).

Nos animais afetados por afecções dentárias, podem surgir dificuldade na apreensão e deglutição dos alimentos, emagrecimento e queda na performance que pode ser vista principalmente nos animais de alto desempenho, tornando-se imprescindível a presença do médico veterinário na execução de exames periódicos, diagnóstico, monitoramento odontológico e tratamento clínico ou cirúrgico adequado,

que resultará em um equino saudável, com melhor desempenho e maior vida útil (BOTELHO *et al.*, 2007). Este trabalho tem por objetivo realizar um levantamento sobre as principais afecções odontológicas que acometem os equinos atendidos no Hospital Escola Veterinário Gardingo LTDA entre os meses de fevereiro a abril de 2016.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.

As características dentárias são diferentes em cada espécie havendo particularidades inerentes à cada uma. Os equinos possuem alguns grupos de dentes tais como incisivos, caninos, pré-molares e molares que são classificados quanto à forma, tamanho e número, função e fisiologia. Sendo assim titulados de difiodontes por possuírem uma dentição decídua, hipsodontes por possuírem os dentes de coroas largas, anisognata por possuir a largura do arco dentário maxilar 30% maior que a largura do arco dentário mandibular, gnathostomatas por possuírem a mandíbula móvel e ainda classificados como anelodontes, por terem dentes de desenvolvimento limitado, mas de erupção contínua durante a vida (DIXON, 2002; BAKE & EASLEY, 2005; EASLEY, 1996; LOWDER & MUELLER, 1998).

Os equinos realizam movimentos mastigatórios diferentes das demais espécies. Sua mordida possui força no sentido transversal, que fortifica a sua musculatura massetéica, como também faz movimentos caudo rostrais e laterais que auxiliam em uma melhor trituração do alimento. Apesar do movimento vertical não ser o predominante na mastigação dos equinos, ele o executa com maior intensidade quando se encontra estabulado se alimentando de rações industrializadas. (DIXON, 2002).

Os alimentos concentrados e as forragens oferecidas ao animal agem de maneira direta em seu ciclo mastigatório visto que o animal realiza diferentes movimentos mastigatórios para cada tipo de alimento ingerido (PAIVA NETO, 2010).

O número total dos dentes nos equinos é variável em função do sexo e idade dos animais. Diante disso as fêmeas adultas possuem em sua totalidade 36 dentes, sendo que os machos adultos podem atingir de 40 a 44 dentes, podendo variar de acordo com a presença dos caninos e dos dentes primeiros pré-molares (dentes de lobo). Os equinos possuem três incisivos superiores denominados canto, médio e pinça e três inferiores com a mesma denominação, possuindo também dois caninos superiores e dois inferiores quando estão presentes, pois, em fêmeas geralmente estes dentes não são observados. Três pré-molares superiores no entanto, quando

o primeiro pré-molar (dente de lobo) esta presente o animal fica com um total de quatro pré-molares, possuindo também três molares superiores e três molares inferiores (BACKER & EASLEY 2002; TOWNSEND, DIXON & BARAKZAI, 2008).

Os dentes incisivos totalizam 6 em cada arcada, sendo denominados canto, médio e pinça. Estes dentes sofrem desgaste ao longo da vida revelando seu anel central denominado copo ou marca, sendo que, os dentes da arcada superior são mais largos e convexos, o incisivo do canto superior é mais largo que todos os demais. Cada dente afunila-se uniformemente desde sua coroa até o seu ápice, a parte apical destes dentes representa a raiz. Entretanto uma parte deste dente é chamada de coroa de reserva. Esses dentes se inrompem mais ou menos na mesma época e estão sobre total desgaste quando o animal atinge 5 anos de idade. Os dentes incisivos formam um arco, que a princípio é convexo mas torna se angular tornando se tangente para os dentes opostos (GETTY *et al.*, 2007).

Os dentes caninos são geralmente ausentes nas fêmeas. O canino superior encontrasse mais próximo dos incisivos do que dos pré molares criando assim um espaço desigual entre esses dentes. O canino inferior e mais rostral ainda do que o superior. Quando o animal fecha a boca raramente esses dentes entram em contato. Este dente é simples, pontiagudo e relativamente pequeno. Tanto os caninos superiores e inferiores são semelhantes em sua forma (GETTY *et al.*, 2007).

O primeiro pré molar muitas vezes é ausente. Quando presente, é vestigial sendo relativamente pequeno podendo também não vir a se irromper. Os demais dentes pré molares e molares se assemelham muito em tamanho largura e comprimento. São grandes, largos e de formato prismático com exceção do primeiro e do último que apresenta três lados. Seu comprimento é de 8 cm antes de iniciar seu desgaste. Os dentes inferiores são mais estreitos e retos diferenciando-se da arcada superior, porém suas curvaturas são semelhantes. Já suas raízes, encontram se direcionadas rostral e caudalmente (GETTY *et al.*, 2007).

Os dentes possuem uma grande importância nos equinos para que possam triturar os alimento com eficiência, refletindo então a necessidade e a importância da avaliação odontológica periódica desses animais. O principal ponto para se iniciar um bom exame odontológico é efetuar uma anamnese completa. Após a anamnese inspeciona se a parte externa e interna da cavidade oral do animal. A primeira observação a ser feita é a avaliação da existência ou não de assimetria facial, que pode ser um indicativo de alguma afecção. Em seguida deve-se examinar os lábios

e por fim realizar a inspeção interna avaliando mucosas e dentes (GIECHE, 2013; GIECHE, 2007; EASLEY, 2008).

2.1 Principais afecções dentárias.

Segundo (JOHNSON & PORTER, 2006; TOWNSEND, DIXON & BARAKZAI, 2008), as afecções odontológicas mais frequentes encontradas em equinos são pontas excessivas de esmalte dentário, ondas, degraus, fraturas ou erupção defeituosa, diastemas, ganchos rostrais e caudais, rampas, cristas transversais acentuadas e doença periodontal.

Os principais sinais clínicos de afecções dentárias são a dificuldade em apreender, cortar e triturar o alimento. Muitas das vezes, os sinais clínicos se manifestam quando os problemas dentários estão em grau avançado, e com prognóstico desfavorável (JOHNSON & PORTER, 2006).

2.1.1 Ondas

As ondas são irregularidades em formato de ondas nas arcadas. Acredita-se que a sua existência esteja ligada a diferente velocidade de erupção e desgaste dos dentes, e são classificados como congênitas ou adquiridas. Essas ondulações podem também ser encontradas na arcada oposta em resposta ao problema primário. (DIXON *et al.*, 1999; JOHNSON & PORTER, 2006). Com isso, alterações na mecânica da boca fica comprometida, propiciando o aparecimento de afecções dentárias secundárias. Torna-se imprescindível a correção dessas ondulações para que os movimentos mastigatórios do animal voltem a exercer sua função com eficácia. (JOHNSON & PORTER, 2006).

2.1.2 Degraus.

Os degraus são resultados da variação de altura dos dentes opostos, como consequência do crescimento excessivo ou defeituoso de um dente. Podem também ser provenientes de fraturas ou extrações dentárias, permitindo assim o crescimento exagerado do dente da arcada oposta por falta de contato e desgaste com o seu opositor. Essa afecção compromete de forma intensa os movimentos mastigatórios do animal e pode vir a lhe causar dor. (DIXON *et al.*, 2000).

2.1.3 Diastemas.

Os diastemas são os intervalos encontrados entre dois dentes adjacentes podendo ser encontrados entre os dentes incisivos, embora menos comum, e entre os dentes pré-molares e molares. Eles são classificados como abertos ou fechados, abertos que permitem o trânsito livre de alimentos e fechados quando o alimento

penetra e se aloja. Os dentes mais acometidos são os dentes mais caudais. Eles ainda podem ser classificados como primários ou secundários congênitos ou adquiridos. Eles também podem predispor a afecções odontológicas secundárias como infecções periapicais e fistulas (OMURA, 2003).

2.1.4 Presença do primeiro pré molar.

O primeiro pré-molar é um dente vestigial nos equinos conhecido como dente de lobo, podendo ter formas e tamanhos variáveis, ser uni ou bilateral e pode vir ou não a irromper. Sua incidência é maior na maxila. Quando ele não se irrompe pode causar muita dor quando em contato com freios e bridões (FERNANDES FILHO *et al.*, 2014).

2.1.5 Fraturas.

Os cavalos em geral adquirem fraturas de varias maneiras e formas como por exemplo por meio de traumas externos, que podem ser causados por coices, brigas entre eles ou pelo simples hábito de morder objetos inanimados, que acontece devido a alguma deficiência de minerais, por stress, ou distúrbios comportamentais (Dixon *et al.*, 2006)

2.1.6 Pontas excessivas de esmalte dentário.

Considerada a afecção mais comum entre os equinos, as pontas excessivas de esmalte dentário se dão devido ao desenvolvimento agudo dos dentes, contudo , quando se tornam muito grandes , podem acabar acometendo tecidos como o cimento e a dentina do dente oposto a ele. Esta afecção se desenvolve nas bordas laterais da maxila e medial da mandíbula, vindo a causar lacerações na bochecha e língua durante a mastigação, causando desconforto ao animal impedindo-o de realizar seu ciclo mastigatório completo (DIXON *et al.*, 2007).

Animais com dor podem vir a mastigar de forma unilateral, que pode causar um posicionamento anormal da cabeça, uma má digestão de alimentos, um certo desgaste do incisivo, e desenvolvendo assim uma superfície oclusa diagonal e uma sobremordida. Em certos casos essa sobremordida se torna tão intensa que os incisivos superiores acabam crescendo ate abaixo dos incisivos inferiores, gerando um aprisionamento mecânico que acaba delimitando o desenvolvimento mandibular (DIXON & DACRE, 2005). O raspado ou moagem das coroas é o procedimento mais utilizado em medicina veterinária para o tratamento de pontas excessivas de esmalte dentário, ele restaura a superfície oclusal dos dentes, mais deve ser feito de forma

cuidadosa pra não nivelar as superfícies oclusais dos arcos de lado a lado (BRIGHAM & DUNCANSON, 2000).

2.1.7 Doença periodontal

O periodonto desempenha importantes funções na cavidade oral, visto que é formado por estruturas como a gengiva que é responsável por proteção, osso alveolar e ligamento periodontal que possui função de sustentação do dente. A doença periodontal, acomete frequentemente pacientes geriátras. No entanto também podem ser encontradas em animais jovens (PAULO, 2010). Esta afecção ocorre por uma infecção, presença de alimento em diastemas (OMURA, 2003), alimento compactado em locais de fraturas (DIXON *et al.*, 2000), levando a alterações no periodonto quadros estes que se progressivos levam a inflamação do periodonto, caracterizando esta afecção (PAULO, 2010).

3. METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado no Hospital Escola Veterinário Gardingo LTDA da Faculdade Vértice - Univértix, entre os meses de fevereiro a abril de 2016. Seus resultados foram analisados através de um estudo seccional (transversal) (FILHO & ROUQUARYOL, 2014).

Foram obedecidos alguns critérios para seleção dos animais internados no Hospital Veterinário que consistiu na autorização do proprietário, utilização de animais hemodinamicamente estáveis, após exame clínico geral que atestou a segurança do procedimento de sedação, a realização de uma entrevista com o proprietário, animais com idade superior a 2 anos, que não fossem portadores de afecções cirúrgicas e não tivessem sido submetidos a procedimentos odontológicos nos últimos 6 meses, eram de ambos os sexos.

Após a seleção dos animais aptos a serem submetidos ao exame odontológico foi realizada uma anamnese que consistiu em um questionário com as seguintes perguntas feitas ao proprietário: Se houve ou não alterações de manejo alimentar nos últimos tempos, dieta atual do animal, frequência diária de alimentação e oportunidades de acesso ao pasto pelo animal.

Os animais aptos a análise, foram contidos adequadamente com cabrestos em troncos apropriados, e logo em seguida submetidos à sedação com Cloridrato de

Detomidina na dose de 0,01 mg/kg de peso vivo, para a colocação do abre boca, analisando assim com lanterna e espelho odontológico toda a cavidade oral destes animais. Os resultados obtidos foram analisados e separados de acordo com as respostas coletadas nos questionários, realizados previamente.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na avaliação das afecções encontradas, observou-se algumas alterações em comum entre todos os animais, como também algumas alterações distintas que foram menos frequentes. A principal afecção encontrada foi a ponta excessiva de esmalte dentário (fig.1), que estava presente em 100% dos animais avaliados (TABELA 2). Dados que se assemelham aos resultados de Hole e Dixon (2008), que demonstraram 100% dos animais com Pontas de esmalte dentários. No entanto resultados diferentes foram constatados por Berbari Neto (2014), que revelou 83,9% dos animais com pontas de esmalte dentários, e 96% em estudos realizados por Rizzo *et al.*, (2011).

O maior fator relacionado com a presença de pontas de esmalte dentário é a domesticação e principalmente o confinamento dos equinos como também pode ser visto na Tabela 1, visto que no sistema intensivo de criação ocorre drasticamente a mudança alimentar destes animais quando comparado com os hábitos na natureza. A utilização de alimentos concentrados tende a reduzir o volume de alimento ingerido e assim conseqüentemente reduz os movimentos mastigatórios, como também estimula maiores movimentos verticais e não os laterais que são os que desempenham a função de desgaste da mesa dentária corretamente (PAGLIOSA *et al.*, 2006).

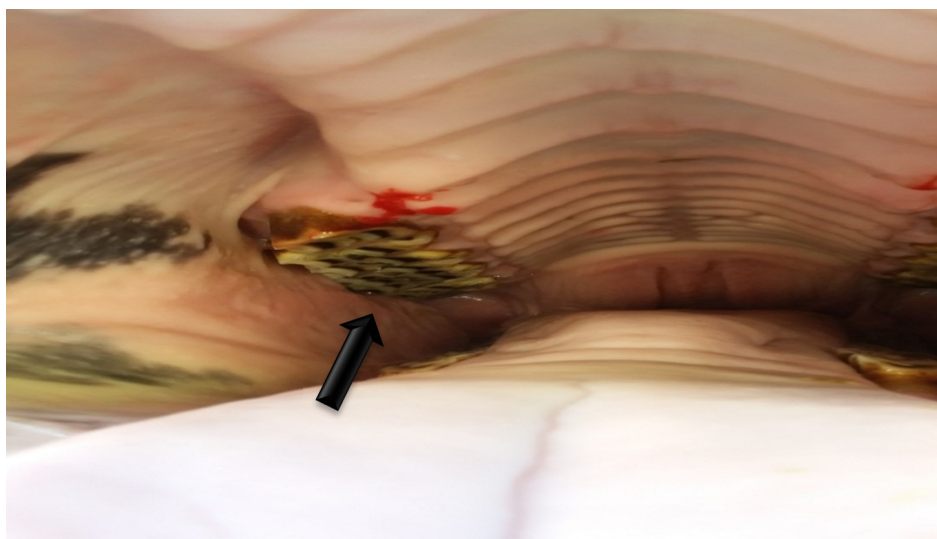


FIGURA 1: Seta evidenciando pontas excessivas de Esmalte Dentário em todos os dentes pre molares e molares. Fonte: arquivo pessoal.

Tabela 1: Resultado das afecções odontológicas encontradas nos animais avaliados no Hospital Veterinário Gardingo LTDA, de acordo com alimentação e o ambiente. (intensivo/Baia); (Extensivo/Pasto; (semi-intensivo/Baia e piquete).

ANIMAIS	AFECCÕES	Tipo de Alimentação	Ambiente que Vive
1	Pontas; Dente de lobo	Capim; Ração	Intensivo
2	Pontas	Capim	Extensivo
3	Pontas	Capim	Extensivo
4	Fratura; Pontas	Capim; Ração	Semi-intensivo
5	Ponta; Fratura em slab; Doença periodontal; Doença peri apical; Diastema	Capim; Ração	Semi-intensivo
6	Pontas	Feno	Intensivo

A presença do dente-de-lobo (fig.2) é uma característica genética hereditária nos equinos, dente este que em seus ancestrais era conservado devido à necessidade na trituração de alimentos grosseiros. Devido a evolução do modo de alimentação e criação destes animais torna-se dispensável sua presença. (PAULO, 2010). No presente estudo foi constatado a presença em 16,66% (TABELA 2) dos animais analisados. No entanto resultados mais relevantes foram encontrados por Fernandes Filho *et al.*, (2014), que constatou a incidência de 57,4%, esta variação pode estar relacionada com o número de animais em estudo, espécie e sexo. A presença deste dente conhecido como dente de lobo (primeiro-pré-molar), nos equinos acarreta diversos problemas principalmente os relacionados ao comportamento do animal quando são utilizados instrumentos de comandos bucais

como os bridões e freis, diante destes fatores o tratamento recomendado é a extração.

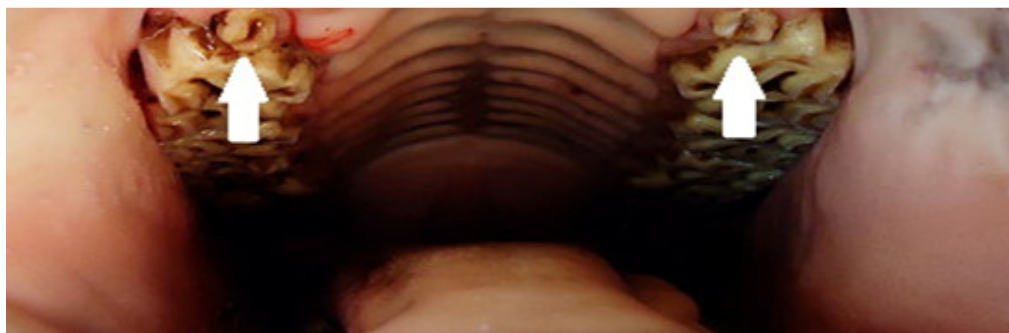


FIGURA 2: Seta evidenciando dentes de lobo na cavidade oral de um equino. Fonte: arquivo pessoal.

Alterações Patológicas Odontológicas	Valores Absoluto de animais	Incidência em %	Tabela 2:
Pontas Excessivas de Esmalte Dentário	6	100	Alterações odontológicas
Fratura	2	33,33	as
Diastema	1	16,66	ológicas
Doença Periodontal	1	16,66	as
Doença Periapical	1	16,66	identificadas e
Dente de Lobo	1	16,66	

expostas em porcentagem de acordo com cada patologia, em equinos atendidos em um Hospital Veterinário, no interior de Minas Gerais.

As fraturas (fig.3) são lesões que acometem os dentes e os tecidos moles. Os dentes incisivos, geralmente são mais afetados por morderem em objetos como réguas, cochos, feneiros ou por traumas (DIXON *et al.*, 2006). As fraturas referidas neste trabalho, totalizaram 33,33% (TABELA 2) dos animais analisados, com fratura dos dentes incisivos e fratura em *slab* dos dentes 110 e 210 do equino 5 como visto na Tabela 1. Resultados semelhantes foram encontrados por Farias *et al.*, (2010), que observou uma incidência em 30% dos animais em estudo. Resultados estes que justificam-se de acordo com o manejo em que o animal é submetido, que podem gerar distúrbios comportamentais como estereotípias e o hábito de morder madeira por deficiência de minerais (VIEIRA, 2006).

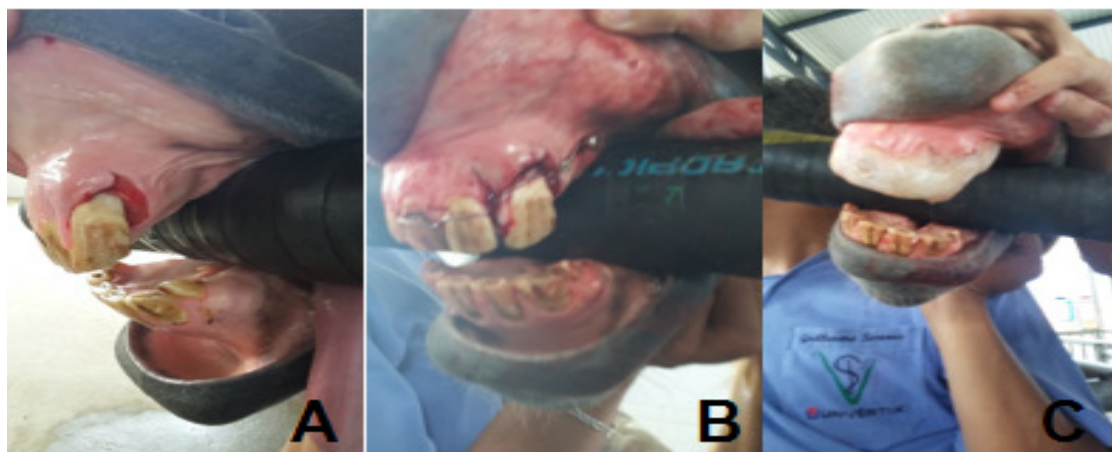


FIGURA 3: Foto A demonstrando fratura no segundo incisivo; B representando o reparo e foto C representando a cerclagem. Fonte: arquivo pessoal.

A doença periodontal é toda lesão que acomete o periodonto, que é composto por gengiva, que possui função de proteção, ligamento periodontal e o osso alveolar desempenhando função de sustentação (PAULO, 2010). No presente trabalho obtive um resultado de 16,66% de acometimento como apresentado na Tabela 2. No entanto resultados diferentes foram encontrados por Paulo, (2010), que observou uma incidência de 60% dos animais examinados. A doença periodontal é basicamente de origem infecto-inflamatória progressiva e crônica, que acomete geralmente animais mais velhos acima de 14 anos, afirmação que contradiz resultados demonstrados neste trabalho, onde foi constatada esta patologia em animais com idade média de nove anos. (PAULO, 2010).

As doenças periapicais (fig.4) são alterações que estão na região do ápice dentário devido a infecção da polpa dental causada por trauma, caries (menos comum em equinos), agentes irritantes como cistos e abscesso periapical. (PAGLIOSA *et al.*, 2004). Neste estudo observou-se que 16,66% (TABELA 2) dos animais analisados foram positivos. Resultados diferentes foram constatados por Rapp & Zoppa, (2010) que observou nos casos atendidos um valor de 26,66%. Nas causas das doenças periapicais em equinos existem algumas ainda a serem definidas, sendo uma doença de difícil tratamento em alguns casos por complicações secundárias (PAGLIOSA *et al.*, 2004).



FIGURA 4: Seta evidenciando uma fistula causada por doença periapical. Fonte: arquivo pessoal.

Os espaçamentos existentes entre os dentes são denominados de diastemas (fig.5), que podem ser de origem congênita ou adquirida. Os diastemas adquiridos podem ocorrer principalmente por fraturas ou deslocamentos dentários. As formas congênitas estão relacionadas com um distanciamento anormal das gemas dentárias, ou até mesmo a própria ausência (Robert *et al.*, 2010). Na pesquisa realizada foi constatado a presença de diastema em 16,66% dos animais avaliados (TABELA 2). Resultados semelhantes foram constatados por Berbari Neto (2014), que observou 18% desta afecção nos animais avaliados. Dixon et al (2011) também revela resultados semelhantes em seus animais pesquisados constatando em 20 %. Os restos de alimentos que se alojam nesses espaços interdentários decompõem-se, inflamando a gengiva e originando acumulações profundas de material pútrido, favorecendo o crescimento de microrganismos anaeróbios, formando um processo degenerativo e inflamatório crônico, que afeta drasticamente o ligamento periodontal e posteriormente o osso alveolar, o qual acaba por sofrer lise óssea, tornando o dente frágil e doloroso devido à doença periodontal avançada nessa situação. (Collins & Dixon, 2005).

5. CONCLUSÃO

Diante dos resultados expostos neste estudo, verificou-se que todos os animais examinados apresentavam alguma alteração dentária, mesmo não apresentando sinais clínicos evidentes de afecções dentárias. Sendo assim indispensável o exame da cavidade oral dos equinos periodicamente pelos médicos veterinários, pois são afecções que podem causar desconforto e assim reduzir o desempenho do animal, seja este para trabalho, esporte ou lazer.

REFERÊNCIAS

BACKER, G. J.; EASLEY, K. J. **Odontologia Equina**. Buenos Aires: Intermédica, cap. 1, p. 3-31. 2002.

BERBARI NETO, F.; REIBOLT, P. R. C.; DIAS, D. C. R.; NEVES, C. D.; EDUARDO MITKE BRANDÃO REIS, E. M. R.; PEREIRA, G. F. Estudo da prevalência de afecções de cavidade oral em equídeos de matadouro. **Rev. Bras. Ciên. Vet.**, v.20, n.4, p. 194-197. 2014.

BOTELHO, D. L. M.; CEZAR, J. A. W.; FILADELPHO, A. L. Odontologia equina. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária** - ISSN 1679-7353, 08 janeiro de 2007.

BRIGHAM EJ, DUNCANSON G. Case study of 100 horses presented to an equine dental technician in the UK. **Equine Vet Educ.** v.12 p.63-67. 2000.

COLLINS, N. M.; DIXON, P. Diagnosis and Management of Equine Diastemata. **Clinical Techniques in Equine Practice.** p.148-154. 2005.

CUNNINGHAM, J.G.; KLEIN, B.G. **Tratado De Fisiologia Veterinaria.** Rio de janeiro: Elsevier, 2008.

DIXON PM, BARAKZAI SZ, COLLINS NM, YATES J. Equine idiopathic cheek teeth fractures: part 3: a hospital-based survey of 68 referred horses (1999-2005). **Equine Vet J.** v.32, p.39:327. 2007.

DIXON, P. M., DACRE I. A review of equine dental disorders. **Vet J.** v.87 p.169-165. 2005.

DIXON, P. M., TREMAINE, W. H., PICKLES, K., KUHNS, L., HAWE, C., MCCANN, J., RAILTON, D. I. Equine dental disease Part 3: a long-term study of 400 cases: disorders of wear, traumatic damage and idiopathic fractures, tumours and miscellaneous disorders of the cheek teeth. **Equine Veterinary Journal**, 32, p.9-17. 2000.

DIXON, P. M.; TREMAINE, W. H.; PICKLES, H.; KUHNS, L.; HAWE, C.; McCANN, J.; McGORM, C.; RAILTON, D. I.; BRAMMER. Equine dental disease part 4 : a long-term study of 400 cases: apical infections of cheek teeth. **Equine Veterinary journal.** v.32. p.182-194. 2000.

DIXON, P.M.; DACRE, I.; KEMPSON, S. Idiopathic Cheek Teeth Fractures, Including Practice-based and Hospital-based Surveys. **Proceedings of the American Association of Equine Practitioners.** v. 52, 2006.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. **Tratado de Anatomia Veterinária** 3 ed. Elsevier. 2004.

EASLEY, K. J. Equine dental development and anatomy. In: **ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS**. 42, 1996, Phoenix, Arizona. Proceeding. p.1-10, 1996.

EASLEY, K. J.; BAKER, G. J. **Equine Dentistry**. 2.ed. London. Saunders, p. 50-53. 2005.

FARIAS, S. K.; COUTINHO, G. M.; DONNER, A. C. Ocorrência de fraturas dentárias. **Anais da Conferência Anual da Associação Brasileira dos Veterinários de Equídeos**. v. 11. 2010.

FILHO, N. A.; ROUQUARYOL, M. Z. Introdução a Epidemiologia. - 4. ed.,. Versão ampliada- Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**. 2014.

GETTY,R.; ROSRNBAUM,C.E.; GHOSHAL,N.G.; HILLMANN,D. **Anatomia dos animais domésticos**.5 edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A. P. 428-432, 2007.

GUERRA JUNIOR. P; Material didático: A Equinocultura Brasileira Industrial no Agronegocio. In: **Confederação Nacional da Agricultura- CNA**. Webmaster Pio Guerra Junior, 2010. Disponível em: <HTTP://www.canaldoprodutor.com.br/home/equinocultura>. Acessado em:15/10/2015.

HOLE, S.L.; DIXON, P.M. Equine dental disorders and occlusal pattern: Preliminary findings of a retrospective study (1999–2006). **Proceedings of the British Equine Veterinary Association Congress**, v.47, p.350. 2008.

JOHNSON, T. & PORTER, C. Dental overgrowths and acquired displacement of cheek 423 teeth. Focus meeting, Indianapolis, USA. 2006. Acesso em 10 Jun 2013, disponível em: 424 www.ivis.org/proceedings/aaepfocus/2006/johnson2.pdf

LOWDER, Q. M.; MULLER, P. O. E. Dental embryology, anatomy, development and aging. *Veterinary Clinics of North America – Equine practice*. v.14, n.2, p.227-246, 1998.

OMURA, C. M. **Mensuração da Sobressaliências incisal e dos diastemas de potros (equus caballus)**. 2003. p.67. Dissertação/Mestrado. Escola de Veterinária, Universidade de São Paulo- USP.

PAGLIOSA, G. M.; ALVES, G. E. S.; ROSCOE, M. P. *et al.* Odontologia Equina: alterações dentárias frequentes que podem prejudicar a sanidade e performance do cavalo. **Rev. Bras. Med. Equina**. p. 6, v.12. 2006.

PAGLIOSA, G.M.; ALVES, G.E.S.; OLIVEIRA, H.P.; GHELLER, V.A.; BRAGA, C.E. Doença periapical em eqüinos: estudo de quatro casos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**. v.56, n.1, p.32-35, 2004.

PAIVA NETO, Álvaro de Oliveira. **Análise biomecânica do movimento mastigatório antes e após o ajuste da oclusão dentária em equino**. 2010. p.48, Dissertação/Mestrado - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010. Disponível em: > Acesso em: 31/05/2016.

PAULO, D. L. O. M. **A Importância da Odontologia na Prática Clínica Equina.** 2010. p.92. Dissertação/Mestrado. UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA.

PETERS, J., DE BOER, B., VOORDE, G., BROEZE, J., WIEMER, P., & STERK, T. Survey of common dental abnormalities in 783 horses in the Netherlands. **Focus meeting**, 2006. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/aaepfocus/2006/peters1.pdf> . Acessado em: 22/10/2015.

Rapp, L.; Zoppa, A.L.V. Estudo retrospectivo de casos de odontopatias em equinos atendidos no período de janeiro de 2009 a julho de 2010. Anais **CONGRESSO BRASILEIRO DE CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA – CBCAV. Búzios-RJ. 2010.**

RIZZO, D.A.; LUCAS, F. A.; BARROS, R. J. S. Prevalência e diagnóstico das principais afecções dentárias de equinos da mesorregião sul do Espírito Santo. Pubvet. **Association of Equine Practitioners Annual Convention.** v.5, n.28. 2011.

ROBERT, M.P.; GANGL, M.C.; LEPAGE, O.M. A case of facial deformity due to bilateral developmental maxillary cheek teeth displacement in an adult horse. **The Canadian Veterinary Journal.** v.51, p.1152–1156. 2010.

ROSCOE, M. P. **Avaliação de seis protocolos de sedação para procedimentos odontológicos em equinos.** Tese/Mestrado. Clínica e cirurgia veterinária. Curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais, p.59, 2007.

THOMASSIAN, A. **Enfermidade dos cavalos**, 4ªed, São Paulo: Varela, p. 265 – 276, 2005.

TOWNSEND, N.; DIXON, P. M.; BARAKZAI, S. Evaluation of the long term consequences of equine exodontia in 50 horses. **Vet J.** v.176, p.419-424. 2008.

VIEIRA, A. R. A. **Distúrbios de comportamento, desgaste anormal dos dentes incisivos e cólica em equinos estabulados no 1º Regimento de Cavalaria de Guardas - Exército Brasileiro, Brasília - DF.** 2006. 47 p. Dissertação/Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, 2006.

RELATO DE CASO – DERMATOFITOSE SECUNDÁRIA A DERMATITE ATÓPICA CANINA EM ANIMAL JOVEM

Acadêmica: Rayssa Campos Martins

Orientadora: Mayara Cristine Ferreira de Aguiar

RESUMO

Um animal da espécie canina, da raça Chow Chow, de três meses de idade, com presença de lesões dérmicas como, áreas alopecicas eritematosas, por vezes hiperpigmentadas com liqueinificação e escoriações, desenvolveu dermatofitose secundária a presença da dermatite atópica canina primária (DAC). A DAC tem caráter genético, inflamatório, pruriginoso, crônico recorrente, e decorrente de mecanismos imunopatológicos e alterações epidérmicas. Animais acometidos pela DAC se tornam sensibilizados a antígenos ambientais. A dermatofitose é uma dermatopatia infectocontagiosa, de origem fúngica, causada por dermatófitos, que possuem biotropismo característico por tecidos como pêlos, unhas e pele, raramente parasitando células vivas.

Palavras-chave: dermatite atópica canina; dermatofitose; Chow Chow; cães.

1. INTRODUÇÃO

Os problemas dermatológicos em cães estão dentre as principais queixas de proprietários de animais que buscam as clínicas veterinárias. Os agentes causadores de doença de pele diagnosticadas em cães são diversos e podem ter origem bacteriana, imunopáticas, fúngicas, endócrinas e parasitárias (MACHADO, 2004).

A dermatite atópica canina (DAC) é uma dermatopatia de origem genética e está dentre os distúrbios alérgicos cutâneos de origem imunopáticas (ZANON *et al.*, 2008). Animais que adquirem DAC frequentemente apresentam infecções cutâneas secundárias por *Staphylococcus* spp. e/ou *Malassezia* spp. (VIEIRA, 2008). A doença se manifesta em estações quentes do ano, e concomitante a prevalência da doença, a raça está dentre os fatores predisponentes (PEREIRA *et al.*, 2012; ZANON, 2008).

A abordagem terapêutica da DAC pode ser dividida em tratamento etiológico, sistêmico e tópico, devendo ser avaliados fatores como sazonalidade, distribuição e quantidade da pele agredida, além da disponibilidade do proprietário em realizar o tratamento e explicação dos possíveis riscos (SCOTT *et al.*, 2001).

Cães com DAC apresentam doenças concomitantes/secundárias e a dermatofitose está dentre as doenças secundárias frequentemente encontradas (JOAQUIM *et al.*, 2014).

A dermatofitose é uma enfermidade infectocontagiosa, causada por invasão de fungos queratinofílicos, denominados dermatófitos, que possuem biotropismo característico por tecidos como pêlos, unhas e pele, raramente parasitando células vivas na qual a reação granulomatosa envolve hifas dermatofíticas, denominada pseudomicetoma (CARVALHO, 2010; GUAGUÈRE *et al.*, 2005; MEDEIROS *et al.*, 2009).

O presente trabalho teve por objetivo relatar o caso de um paciente canino jovem referenciado ao Hospital Veterinário-Univértix, que desenvolveu dermatofitose secundária a dermatite atópica canina.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Dermatite atópica canina

De acordo com Lucas *et al.*, (2007) e Scott *et al.*, (2001), a dermatite atópica canina (DAC) é uma dermatopatia comum na clínica de pequenos animais, que acomete aproximadamente 10% da população canina e é avaliada como a segunda maior causa de prurido em cães. Esta alteração tem caráter genético, inflamatório, pruriginoso, crônico recorrente, e decorrente de mecanismos imunopatológicos e alterações epidérmicas.

Animais acometidos pela DAC se tornam sensibilizados a antígenos ambientais absorvido por via percutânea, inalatória, ou até mesmo pela via gastrointestinal e está associada mais comumente com anticorpos IgE e IgG específicos para alérgenos ambientais, como ácaros, poeira doméstica, esporos de fungos, pólen de gramíneas, escamas de animais e humanos, além de restos de insetos (FRANCO *et al.*, 2011; LUCAS *et al.*, 2007).

A etiopatogenia da DAC está associada a mutações genéticas que geram deficiências na função da barreira tegumentar, a defeitos na resposta imune da pele e a hipersensibilidade cutânea tipo I com produção de anticorpos reagentes e granulação de mastócitos, o que causa maior disposição para infecções secundárias de origem bacteriana e fúngica, que são encontradas com maior frequência em áreas seborréicas e eritematosas da pele, o que aumenta a resposta inflamatória tegumentar (NUTTALL 2008; CORK *et al.*, 2006).

A reação dos anticorpos IgE e IgG, fixados nas superfícies dos mastócitos com os alérgenos específicos, leva a liberação de mediadores responsáveis pela

reação inflamatória e pelo prurido. Esses mediadores ligam-se diretamente a receptores específicos para coceira (plurireceptores) que estão ligadas a áreas específicas do cérebro. Os mediadores da coceira incluem prostaglandinas, neuropeptídeos, histamina e leucotrienos, que quando liberados na pele causa o prurido (WILLEMSE, 1998).

Além das raças mais predispostas como Sharpei, Chow Chow, Cairn Terrier, Lhasa Apso, Shih Tzu, Dálmata, Pug, Golden Retriever, Boxer, Labrador e Schnauzer, a DAC pode acometer animais de várias raças e diferentes idades (GASPARETTO, *et al.*, 2013; MACHADO, 2008; SOARES, 2008).

2.2 Sinais clínicos

As características clínico-epidemiológicas compatíveis com DAC incluem a manifestação de sinais clínicos antes dos três anos de idade, habitação em ambientes fechados, prurido responsivo aos glicocorticóides que surge antes das lesões de pele (FAVROT *et al.*, 2010).

A idade em que os sinais clínicos se iniciam varia de seis meses a sete anos. Cerca de 70% dos cães desenvolvem a doença entre um e três anos de idade (SCOTT *et al.*, 2001).

O sinal clínico frequentemente observado é o prurido crônico localizado ou generalizado, o que leva o animal a coçar, a lambar, a morder ou a arranhar a sua própria pele (FRANCO *et al.*, 2011).

De acordo com Olivry *et al.*, (2010), lesões de pele primárias consistem em eritema, máculas e pequenas pápulas. Contudo, a maioria dos pacientes apresenta lesões que ocorrem secundariamente ao auto traumatismo, como por exemplo, escoriações, alopecia, liquenificação e hiperpigmentação. As regiões do corpo geralmente acometidas são as extremidades, assim como, a face, pavilhões auriculares, cervical ventral, axilas, virilha, abdômen, períneo, região ventral da cauda, regiões ventrais e dorsais das patas.

2.3 Diagnóstico

O diagnóstico é feito levando em consideração a anamnese, sinais clínicos, exames complementares para exclusão das demais dermatopatias. Estão incluídas como diagnóstico diferencial a hipersensibilidade alimentar, dermatite a picada de pulgas, sarna sarcóptica, piodermite secundária e dermatite por contato. No entanto,

o diagnóstico e a manifestação dos alérgenos envolvidos só poderão ser obtidos mediante a testes cutâneos (MACHADO; SOARES 2008; SCOTT *et al.*, 2001; MOTTA *et al.*, 2005).

De acordo com MOTTA *et al.*, (2005); DETHIOUX, (2006); DEBOER, (2001); HILLIER, (2001) e SCOTT *et al.*, (2001) o teste intradérmico é considerado o único método *in vivo* aceito para verificações a respeito de medicamentos antialérgicos, sendo o escolhido na detecção dos alérgenos causadores de sinais nos cães. Este teste pode ser usado para detectar IgEs ligadas aos mastócitos na pele, medindo o grau de degranulação deles e a resposta da pele aos mediadores inflamatórios, da hipersensibilidade mediada por anticorpos IgG (reação por imunocomplexos, reação tipo III de Gell-Coombs ou reação de Arthus), ou por células (reação tardia ou Tipo IV de Gell-Coombs) a determinado antígeno, que é injetado na derme superior com seringa e agulha apropriadas.

A biópsia de pele é um método que permite obter fragmentos de derme de diâmetro variável, necessitando o uso de tricotomia ampla e anestesia local. A biópsia é fundamental para um diagnóstico preciso e para a escolha do tratamento mais adequado a cada caso. O material utilizado para a realização da biópsia de pele é o bisturi, que é introduzido com movimentos firmes e sempre na mesma direção, até atingir o tecido subcutâneo. O fragmento obtido é recolhido cuidadosamente com ajuda de pinças e tesouras de ponta fina. Para evitar danos as estruturas, os fragmentos recolhidos são colocados no fixador de formalina a 10%, a uma temperatura ambiente, por um tempo superior a 12 horas. Após o término da colheita de material, é necessário proceder a sutura, com um ou dois pontos separados de fio de nylon (SCOTT *et al.*, 1995).

Os achados histopatológicos de cães com DAC são predominantemente, acantose hiperqueratose, espongiose associado a infiltrado inflamatório perivascular composto por células mononucleares e raros eosinófilos presentes na derme contendo áreas de edema. Nos cães atópicos pode-se observar, além da ocorrência de células mononucleares, a presença de infiltrado polimorfonuclear em alguns casos. Isto pode estar diretamente relacionado à ocorrência de infecção bacteriana secundária, comumente descrita em casos de DAC (OLIVRY *et al.*, 2001).

2.4 Tratamento

A DAC possui três tipos de tratamento: sistêmico, tópico e etiológico, onde devem ser considerados fatores como sazonalidade, distribuição e quantidade da pele acometida (SCOTT *et al.*, 2001).

O tratamento etiológico é feito baseado no diagnóstico e na identificação de fatores sensibilizantes, evitando o contato com alérgenos específicos (SCOTT *et al.*, 2001). A imunoterapia específica, que levam o desenvolvimento de anticorpos tipo IgG e promovem a reação antígeno anticorpo (ODAGUIRI; LUCAS, 2011). É possível que a combinação destes tratamentos mude o curso natural da DAC, obtendo 50 a 70% de sucesso. Porém, pode haver efeitos colaterais como edema localizado, prurido no local da injeção, eritema e dor (MARSELLA, 2006; GRIFFIN; HILLIER, 2001).

O tratamento sistêmico baseia-se na administração de glicocorticóides orais, anti-histamínicos, ciclosporinas e ácidos graxos essenciais, que devem ter suas doses ajustadas de acordo com cada animal, de acordo com o problema, o temperamento do animal e as condições financeiras do proprietário (NOBREGA, 2010).

Os glicocorticóides são usados na dose de 0,5 a 1,0 mg/kg, por possuírem ação anti-inflamatória e imunossupressora (HILLIER, 2002). Os glicocorticóides, também atuam bloqueando a formação do ácido araquidônico e de eicosanóides, além de inibirem a transição de citocinas, quimiocinas, moléculas de adesão, fator de proliferação celular, fatores de crescimento, diminuem a ativação das células de Langerhans e linfócitos T e estabilizam a membrana dos mastócitos (FARIAS, 2007).

O uso prolongado desses medicamentos pode causar efeitos colaterais indesejáveis como, hematopatia esteróide, aumento de incidência de infecções cutâneas, demodicose, hiperadrenocorticismos iatrogênicos, polidipsia, poliúria, polifagia e ganho de peso (REES, 2001).

Os anti-histamínicos são administrados em conjunto com os corticóides, visando diminuir a dose do segundo. São utilizadas a clorfeniramina na dose de 0,4mg/kg de 8/8 horas e hidroxizina na dosagem de 2,2 mg/kg de 8/8 horas, para o controle de eritemas e prurido moderados (MACHADO, 2008; SCOTT *et al.*, 2001).

Os ácidos graxos essenciais estão sendo utilizados no controle de prurido em cães. O uso destes produtos em combinação com ácido linoléico e ácido

icosapentanóico, ajudou no controle do prurido em 20 a 50 % dos casos, em três a quatro semanas após o início do tratamento (MACHADO, 2008).

A ciclosporina é eficaz contra o prurido e lesões cutâneas (NÓBREGA, 2010). É um medicamento imunossupressor que quando administrada na dose de 5mg/kg, uma vez ao dia, inibe a ativação dos linfócitos T e suas citocinas proinflamatórias e impede a liberação de histamina pelos mastócitos, além de produzir poucos efeitos colaterais (LUCAS *et al.*, 2007).

2.5 Dermatofitose

A dermatofitose é uma enfermidade infectocontagiosa, causada por invasão de fungos queratinofílicos, denominados dermatófitos, que possuem biotropismo característico por tecidos como pêlos, unhas e pele, raramente parasitando células vivas na qual a reação granulomatosa envolve hifas dermatofíticas, denominada pseudomicetoma (CARVALHO, 2010; GUAGUÈRE *et al.*, 2005; MEDEIROS *et al.*, 2009).

Considerada uma enfermidade de elevado potencial zoonótico, a dermatofitose é relatada em gatos, cães, suínos, bovinos, equinos, coelhos e seres humanos (PATEL *et al.*, 2010).

Os fungos podem permanecer no ambiente por até dezoito meses, resultando em alto contágio e difícil cura. A doença é mais comum em climas tropicais e temperados, particularmente, em países com áreas de condições climáticas quentes e úmidas (PATEL *et al.*, 2010; CAVALCANTI *et al.*, 2003).

Os fungos são onipresentes na natureza, podendo sobreviver na água, no solo e na vegetação, adaptam-se com facilidade ao meio onde habitam, por isso tem alta capacidade de infecção e contaminação (SCOTT *et al.*, 2001; GOMES *et al.*, 2012).

Os gêneros *Trichophyton* (*T. tonsurans*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* e *T. schoenleinii*), *Epidermophyton* (*E. floccosum*) e *Microsporum* (*M. audouinii*, *M. canis*, *M. gypseum*), são membros da família Arthrodermataceae, ascomicetos. Esta família contém as espécies patogênicas, que causam várias infecções cutâneas superficiais em animais (OLIVEIRA, 2014).

Os dermatófitos podem ser divididos em três grupos com base no seu habitat natural em: geofílicos, geralmente habitando o solo, zoofílicos, sendo mais

adaptados aos animais e antropofílicos, mais adaptados aos seres humanos (MEDEIROS *et al.*, 2009).

As alterações das barreiras da pele como mudanças no pH, microbiota e atividade mecânica da pele devido a fatores intrínsecos e extrínsecos, são imprescindíveis para o desenvolvimento da dermatofitose. Elas facilitam a invasão das estruturas fúngicas através do folículo piloso e multiplicação dos artroconídios e esporos nas camadas superficiais da pele. Conseqüentemente acontece à liberação de enzimas queratinolíticas e proteolíticas como alastase, colagenase e ceratinase e substâncias alergênicas ou tóxicas, causando a ruptura da camada de queratina da pele, proliferação do estrato córneo, seguido de uma reação inflamatória do folículo piloso, derme e epiderme (CARVALHO, 2010).

Animais de todas as idades, raças e sexo são susceptíveis a infecção por dermatófitos, ainda que a doença ocorra com mais frequência em animais imunodeprimidos. Outros fatores como doenças sistêmicas, prenhes, desnutrição e lactação podem tornar os animais mais susceptíveis à infecção (RIBEIRO, 2005).

A transmissão dos dermatófitos acontece pelo contato com pêlos e escamas infectados por artrósporos fúngicos do animal, fômites e ambiente. Camas, pentes, escovas, caixas de transporte e equipamentos relacionados à tosa, movimentação e manutenção do animal em casa, são fontes para infecção e reinfecção (PATEL *et al.*, 2010; MACIEL *et al.*, 2005).

2.6 Sinais clínicos

O dermatófito acomete o tecido queratinizado, resultando em descamação da superfície epitelial e quebra do pêlo. Seus metabólitos se disseminam pelas células da epiderme gerando reação inflamatória e de hipersensibilidade, responsáveis pelo desenvolvimento das lesões como, eritema, alopecia, escamas, prurido e crostas (RIBEIRO, 2005; BOND, 2010).

A enfermidade varia desde infecções agudas auto-limitantes, até quadros crônicos que perduram por meses ou anos. Uma grande variabilidade de lesões pode ocorrer, podendo mimetizar inúmeras outras dermatoses. (MACIEL, VIANA, 2005).

Em cães, as lesões dermatofíticas podem incidir em combinações de pústulas, pápulas, com alopecia focal ou dispersa, apresentando zonas eritematosas, descamação e crostas (WALLER *et al.*, 2014).

A apresentação do tipo quérion, também chamada de dermatofitose nodular, é a manifestação clínica de uma micose cutânea marcada por uma dermatite intensa que varia de uma reação granulomatosa até piogranulomatosa, com aspecto de nódulo edematoso, circular e alopecico (CUCÉ & FIESTA 2001; KOUTINAS *et al.*, 2003; MIDGLEY *et al.*, 1998). Este quadro é reflexo de uma reação inflamatória aguda, resultante de uma reação de hipersensibilidade do hospedeiro, instigada pelos produtos metabólicos do dermatófito. Em animais, os principais dermatófitos causadores de quérion são as espécies *M. canis*, *M. gypseum* e *T. mentagrophytes*.

2.7 Diagnóstico

O diagnóstico e tratamento das dermatofitoses nunca devem ser afastados dos devidos exames laboratoriais. O diagnóstico feito com base somente nos sinais clínicos pode ser calunioso, o que leva a superestimar da incidência das dermatofitoses. (CAVALCANTE *et al.*, 2006).

O exame microscópico direto é um método rápido e simples para detectar se o animal tem alguma infecção fúngica. As amostras são analisadas ao microscópio óptico para examinar a presença de hifas e antropófitos (CAVALCANTE *et al.*, 2006).

A lâmpada de Wood é um método diagnóstico para infecção dermatofítica, por meio da emissão ondas de luz ultravioleta, e é empregada no exame de pêlos ou tecidos suspeitos de dermatofitose, que tem capacidade de fluorescer em presença direta dessa luz no escuro (BIN *et al.*, 2010).

A cultura de ágar Sabouraud é outro método de diagnóstico, onde amostras de pêlos e escamas são depositadas sobre a placa contendo o meio de cultura. Após a incubação, é feita a coleta de amostras da colônia, que é depositada em uma lâmina de vidro contendo 1 a 2 gotas de azul de metileno e observada ao microscópio. Por meio deste método será provável identificar o tipo de dermatófito responsável pela infecção (NOGUEIRA *et al.*, 2013).

De acordo com Bin *et al.*, (2010), aconselha-se a combinação entre os testes disponíveis para resultados mais precisos, pois ao serem realizados isoladamente ocorre o risco de apresentarem falso-negativos ou falso-positivos.

2.8 Tratamento

Os animais com dermatofitose devem ser tratados de forma tópica e sistêmica, empregando também medidas para diminuir a contaminação ambiental (PATEL & FORSYTHE 2010).

A medicação sistêmica é aconselhada a todos os casos de dermatofitose. Vários fármacos como o itraconazol e o cetaconazol, são empregados no tratamento, porém sua utilização implica em administrações diárias, por via oral e por longos períodos de 60 a 90 dias. Os efeitos colaterais, o alto custo dos fármacos e a dificuldade da maioria dos proprietários em administrar medicamentos por via oral são fatores que tem tornado o tratamento e a erradicação da dermatofitose um desafio (RAMADINHA, 2010).

O itraconazol, um agente antifúngico triazólico, é o antifúngico oral mais utilizado e considerado o fármaco de primeira escolha, devido a sua maior segurança, causando poucos efeitos colaterais, como anorexia e vômito. A dose recomendada é 10mg/kg a cada 24 horas (BOTTEOM, 2015; PAPICH, 2012).

O cetaconazol é um imidazol eficaz contra as infecções por dermatófitos. Seu mecanismo de ação é parecido aos outros antifúngicos azólicos (itraconazol e fluconazol). Ele bloqueia a enzima P-450 do fungo e bloqueia também a síntese de ergosterol na membrana celular do fungo (PAPICH, 2012).

Para uso tópico, o cetaconazol shampoo possui indicação a cada 3 dias na concentração de 2%, auxiliando o tratamento sistêmico (SCOTT *et al.*, 1996; BEALE, 1998).

3. RELATO DE CASO

Foi referenciado ao Hospital Veterinário Univértix (HV-Univértix) em Matipó, um canino, de 8 meses de idade, fêmea, da raça Chow Chow, pesando 18 kilos, com histórico de prurido intenso e lesões cutâneas como eritema, áreas alopecicas e escoriações na região da cabeça, pescoço e na região ventral e dorsal dos membros pélvicos, há 1 mês. Aos 3 meses de idade o paciente foi diagnosticado com dermatofitose e tratado com medicação antifúngica (griseofulvina) na dose 75 mg, SID, durante 30 dias. No entanto, aos 4 meses de idade o paciente apresentou novamente prurido intenso e lesões dérmicas, deste modo, foi realizado raspado de pele e o resultado foi negativo para dermatofitose e sarnas. Foi realizado o protocolo de dieta de eliminação, visando o diagnóstico de alergia alimentar, o que também

não obteve sucesso. Então o animal passou a ser tratado com prednisona e banhos com clorexidina semanalmente, obtendo melhora clínica, no entanto, as lesões retornavam quando a terapia instituída era interrompida.

Ao exame físico foram observadas áreas alopecicas eritematosas, por vezes hiperpigmentadas com liquenificação, escoriações na cabeça e região ventral e dorsal dos membros pélvicos.

Para confirmação diagnóstica da DAC e dermatofitose foi realizada biópsia cutânea. Foi obtido fragmento de derme de 1,5 x 0,5 cm de diâmetro, necessitando o uso de tricotomia ampla e anestesia local. O material utilizado foi bisturi. Após o término da colheita de material, foi necessário proceder a sutura, com um ou dois pontos separados de fio de nylon (SCOTT *et al.*, 1995).

À análise histopatológica do fragmento de tecido coletado para biópsia de pele, observou-se epiderme em processo de acantose difusa com hiperqueratose ortoqueratótica moderada. A derme demonstrou infiltrado inflamatório mononuclear difuso, além da formação de lesões piogranulomatosas e de granulomas ao redor de restos de pêlos intensamente parasitados por micélio. Pêlos com astroconídeos foram raramente vistos, assim chegando à conclusão da análise histopatológica, como dermatofitose com formação de quérion.

Foi novamente instituído o tratamento a base de prednisona (20 mg, SID), em forma decrescente até a mínima dose possível, visando o controle da DAC. No quadro clínico relatado de dermatofitose, optou-se por instituir o tratamento tópico de shampoo cetozonazol a 2,5% em banhos semanais e para o tratamento sistêmico optou-se por Itraconazol oral 15 mg/kg a cada 24 horas. Foi recomendado também, realizar a descontaminação ambiental, como por exemplo, não utilizar os mesmos fômites para todos os animais da casa, evitar o contato do animal infectado com os demais e realizar a desinfecção das camas e do ambiente, no intuito de impedir a propagação da infecção para outros animais e a reinfecção do animal. Após 30 dias de tratamento, pode-se observar melhora clínica do paciente.

4. DISCUSSÃO

O paciente é um animal da espécie canina, fato que é compatível com a afirmação de Lucas *et al.*, (2011); Scott *et al.*, (2001) e Jaeger *et al.*, (2010), de que a DAC é uma dermatopatia comum na clínica de pequenos animais, que acomete aproximadamente 10% da população canina e é avaliada como a segunda maior

causa de prurido em cães, menos frequente somente que a dermatite alérgica à picada de pulgas (DAPP).

O animal apresentou manifestação clínica aos 3 meses de idade, entretanto, na literatura pesquisada não foram encontrados relatos de casos, de pacientes que apresentem manifestação clínica antes dos seis meses de vida. Inclusive Scott *et al.*, (2001) relataram que a idade em que os sinais clínicos se manifestam varia de seis meses a sete anos e cerca de 70% dos cães desenvolvem a doença entre um e três anos de idade. Favrot *et al.*, (2010) citaram que as características clínico-epidemiológicas compatíveis com DAC incluem o aparecimento de sinais com menos de três anos de idade.

O animal é da raça Chow Chow (GASPARETTO *et al.*, 2013; MACHADO, 2008; SOARES, 2008; JAEGER *et al.*, 2010) estado entre as raças predispostas a desenvolver a dermatite atópica canina (DAC). De acordo Farias (2007), a DAC é mais frequente em cães de raça pura e não há predisposição sexual.

Durante o exame físico foram avaliadas áreas alopécicas eritematosas, por vez hiperpigmentadas com liquenificação, escoriações na cabeça e na região ventral e dorsal dos membros pélvicos, sendo esta apresentação clínica compatível com a afirmativa de Olivry *et al.*, (2010), de que lesões de pele primárias consistem em eritema, máculas e pequenas pápulas. Há de se considerar também que a maioria dos pacientes apresenta lesões que ocorrem secundariamente ao alto traumatismo, como por exemplo, escoriações, alopecia, lignificação e hiperpigmentação. Ainda de acordo com Olivry *et al.*, (2010), as regiões do corpo geralmente acometidas são as extremidades, assim como as regiões ventrais e dorsais dos membros, como as observadas durante o exame físico do paciente. Já Favrot *et al.*, (2010) citaram que as lesões de pele são mais observadas nos membros torácicos e superfície côncava dos pavilhões auriculares.

O paciente apresentou histórico clínico de prurido intenso e de acordo com Franco *et al.*, (2011), o sinal clínico frequentemente observado é o prurido crônico localizado ou generalizado, o que leva o animal a coçar, a lambear, a morder ou a arranhar a sua própria pele.

Foi realizado o tratamento a base do corticóide prednisona, obtendo-se melhora clínica, estando de acordo com o que é preconizado por Nobrega, (2010); Nuttal, (2008); Miller & Griffin; Campbell, (2013) que o tratamento sistêmico para

DAC baseia-se na administração de glicocorticóides orais, que devem ter suas doses ajustadas de acordo com cada animal.

À análise histopatológica do fragmento de tecido coletado para biópsia de pele demonstrou resultados de acordo com Cucé & Fiesta (2001); Koutinas *et al.*, (2003); Midgley *et al.*, (1998), para quem a apresentação do tipo quérion, é marcada por uma dermatite intensa que varia de uma reação granulomatosa até piogranulomatosa, com aspecto de nódulo edematoso, circular e alopecico. Segundo um estudo feito por Joaquim *et al.*, (2014) os achados microscópicos nos cães com dermatofitose, incluem epiderme delgada, hiperqueratose folicular e edema na epiderme, atrofia de glândulas sebáceas, infiltrado polimorfonuclear, dilatação de glândulas dermais, hiperpigmentação, infiltrado mononuclear, eosinófilos degranulados, folículo em fase telógena, áreas de degeneração pilosa, comedões, músculo eretor do pêlo hipertrofiado contendo vacúolos.

Associando os dados clínicos, o diagnóstico terapêutico e o resultado do exame histopatológico, concluiu-se que o paciente apresentou um quadro de associação entre DAC e dermatofitose. Ainda no estudo realizado por Joaquim *et al.*, (2014) cães com DAC apresentaram doenças concomitantes/secundárias e a dermatofitose foi citada dentre as doenças secundárias frequentemente encontradas. Nuttall *et al.*, (2013) & Jaeger *et al.*, (2010) citaram também que as lesões crônicas estão frequentemente associadas a infecções secundárias por *Malassezia sp.*, decorrentes das desordens na barreira epidérmica, o que difere dos achados histopatológicos encontrados.

Carvalho, (2010) afirmou que as alterações das barreiras da pele como mudanças no pH, microbiota e atividade mecânica da pele devido a fatores intrínsecos e extrínsecos, são imprescindíveis para o desenvolvimento da dermatofitose. Elas facilitam a invasão das estruturas fúngicas através do folículo piloso e multiplicação dos artroconídios e esporos nas camadas superficiais da pele. E Nuttall (2008); Cork *et al.*, (2006) citaram que a etiopatogenia da DAC está associada a mutações genéticas que geram deficiências na função da barreira tegumentar, a defeitos na resposta imune da pele e a hipersensibilidade cutânea tipo I com produção de anticorpos reagentes e granulação de mastócitos. Animais de todas as idades, raças e sexo são susceptíveis a infecção por dermatófitos, ainda que a doença ocorra com mais frequência em animais imunodeprimidos (RIBEIRO, 2005).

No quadro clínico relatado, optou-se por instituir o tratamento tópico de shampoo cetoconazol em banhos semanais e Itraconazol oral 15 mg/kg a cada 24 horas. De acordo com Patel *et al.*, (2010) os animais com dermatofitose devem ser tratados de forma tópica e sistêmica, utilizando também medidas para reduzir a contaminação ambiental. A medicação sistêmica é recomendada em todos os casos de dermatofitose segundo Ramandinha *et al.*, (2010). O itraconazol, um agente antifúngico triazólico, é o antifúngico oral frequentemente mais utilizado e considerado o fármaco de primeira escolha, devido a sua maior segurança, causando poucos efeitos colaterais, como anorexia e vômito (BOTTEON, 2015; PAPICH, 2012). Ainda segundo Papich, (2012) o cetaconazol é um imidazol eficaz contra as infecções por dermatófitos. Seu mecanismo de ação é parecido aos outros antifúngicos azólicos (itraconazol e fluconazol). Ele bloqueia a enzima P-450 do fungo e bloqueia também a síntese de ergosterol na membrana celular do fungo.

O cetaconazol shampoo possui indicação a cada três dias na concentração de 2%, auxiliando o tratamento sistêmico (SCOTT *et al.*, 1995). Para Carlotti, (2001), a formulação de shampoo humano (Nizoral[®] shampoo, Janssen; contendo 2% de cetaconazol) não está licenciado para utilização em cães, apesar de ser bastante utilizado e ser altamente eficaz para tratamento das dermatofitoses ou infecções por *Malassezia*. e o cetaconazol em pomada e creme, (Nizoral[®]; Janssen) são ocasionalmente usados para aplicação tópica em pequenas lesões de dermatofitose.

O tratamento das dermatofitoses em cães devem sempre incluir estratégias de descontaminação ambiental, que impede a propagação da infecção para outros animais ou seres humanos e a reinfecção após o fim do tratamento do animal. A tosa da pelagem pode ser recomendada, especialmente em raças de pêlos longos. Um dos erros clássicos feito no tratamento de infecções fúngicas é de interromper o tratamento no momento quando a cura clínica é observada (ROCHETTE *et al.*, 2003).

5. CONCLUSÃO

Após a análise do caso em comento, conclui-se que, apesar de pacientes atópicos apresentarem manifestação clínica frequentemente após os sete meses de idade, apesar de pacientes mais jovens poderem apresentar manifestação clínica aos três meses de vida, o que pode ser confirmado por meio do diagnóstico histopatológico e da dermatopatia secundária, dermatofitose.

REFERÊNCIAS

- BEALE, K. M. Dermatofitose. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Clínica de pequenos animais**. São Paulo: Roca. cap 3, p.321-328, 1998.
- BIN, L. L. C.; GOMES, J.; BRÁZ, A. S.; GIUFFRIDA, R. Comparação de métodos diagnósticos para dermatofitose em animais de companhia. **Colloquium Agrariae**, v. 6, n.2, p. 46-51, 2010.
- BOND, R. **Superficial veterinary mycoses. Clinics in Dermatology**. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science>. Acesso em: 10 Jun, v.28, p.226-236, 2010.
- BOTTEOM, K, D. Dermatofitose, Desafio ao clínico e ao proprietário. Agner União Saúde Animal. **Boletim Pet**. v.1, 2015.
- CARLOTTI, D. Malassezia dermatitis in the dog. **Proceedings of the 26th World Congress of the WSAVA**, p. 279–281, 2001.
- CARVALHO, A. M. T. M. **Dermatofitose por Microsporum Canis**. Monografia apresentada para conclusão de curso de Pós-graduação *Latu sensu* em Clínica Médica e Cirúrgica em Pequenos, 2010.
- CAVALCANTE, C. S. P. **Caracterização das dermatofitoses canina e felina e a manutenção de cepas *in vitro***. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)- Universidade Estadual do Ceará, 2006.
- CAVALCANTI, M.D.P. et al. Frequência de dermatófitos e fungos saprófitas em caninos e felinos com sintomatologia sugestiva de dermatopatia micótica atendidos no Hospital Veterinário da UFRPE. **Revista clínica Veterinária**, v.56, p.24-28, 2003.
- CORK, M. J. et al. New perspectives on epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis: gene-environment interactions. **Journal of Allergy Clinical and Immunology**, 118(1): 3-21, 2006.
- CUCÉ L. C. & FIESTA NETO, C. **Manual de Dermatologia**. 2 ed. São Paulo: Ateneu, 182, 2001.
- DETHIOUX, F. A dermatite atópica canina, um desafio para o clínico. **Focus, edição especial**, p. 7 - 56, 2006.
- FARIAS, M. R. **Dermatite atópica canina: da fisiopatologia ao tratamento**. Clínica Veterinária, ano XII, n 69, p48-62, 2007.
- FAVROT, C. et al. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. **Veterinary Dermatology**. 21(1): 23-31, 2010.
- FRANCO, M. F.; SILVA, A. S. A.; FRANCO, A. J. Atualidades no tratamento da dermatite atópica canina. **Anais III SIMPAC**. v.3, n.1, p. 52-57, janeiro/dezembro. 2011.

GASPARETTO, N. D. et al. Prevalência das doenças de pele não neoplásicas em cães no município de Cuiabá, Mato Grosso. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 33(3): 359-362, 2013.

GOMES, A. R.; MADR0049D, I. M.; MATOS, C. B.; TELLES, A. J.; WALLER, S. B.; NOBRE, M. O.; MEIRELES, M. C. A. Dermatopatias fúngicas: aspectos clínicos, diagnósticos e terapêuticos. *Fungal dermatopathy: Clinical, diagnosis and therapeutic aspects*. **Acta veterinária Brasilica**, v. 6, n.4, p. 274-282, 2012.

GRIFFIN, C. E.; HILLIER, A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV); allergens-specific immunotherapy. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 81, n. 3, p. 363-383, 2001.

GUAGUÈRE, E.; BENSIGNOR, E. **Terapêutica dermatológica do cão**. São Paulo: Rocca, 2005.

HILLIER, A. & DEBOER, D. J. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVII): intradermal testing. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, n.81, p.289-304. 2001.

HILLIER, A. Allergy testing and treatment for canine atopic dermatitis. **Veterinary Medicine**, v. 97, n. 3, p. 210-224. 2002.

JAEGER, K. et al. Breed and site predisposition of dog with atopic dermatitis: a comparison of five location in three continents. **Veterinary Dermatology**, 21(1): 119-123, 2010.

JOAQUIM E. D.; SAMARA, R. L.; NAIANI, D. G.; ARLEANA, B. P. F. A.; CAROLINE, A. P.; VALERIA, R. F. S. Estudo retrospectivo de biópsias de pele: um comparativo da dermatite atópica canina com as demais dermatofitoses. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, n. 4, p. 286-289, 2014.

KATOH, T.; NISHIOKA, K.; SANO, T. A mycological study of pets as the source of human infection due to *Microsporum canis*. **Japanese Journal of Medical Mycology**, v. 34, n. 3, p. 325-330, 1993.

KOUTINAS, A. F.; SARIDOMICHELAKIS, S. & KOUTINAS. Clinical and histopathological aspects of dermatophyte kerion in the dog: a retrospective study of 20 spontaneous cases. In: ESVD and ECVD 2002 (Nice France). **Veterinary Dermatology**. 14: p. 243, 2003.

LUCAS, L.; CANTAGALHO, K.; BEVIANI, D. Diagnóstico Diferencial das Principais Dermatopatias Alérgicas Parte II – Atopia: Diagnóstico e Estratégias Terapêuticas. **Nosso Clínico**, n 56, p.06-14, mar-abr. 2007.

MACHADO, C. D.; SOARES, P. **Atopia canina – revisão de literatura**. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Clínica Médica de Pequenos Animais). Instituto Qualittas de Pós-Graduação, Universidade de Castelo Branco, Rio de Janeiro, 2008.

MACHADO, M. L. S. Dermatofitos e leveduras isoladas da pele de cães com dermatopatias diversas. **Acta Scientiae Veterinariae**, p. 225-232, 2004.

MACIEL, A. S., VIANA, J. A. Dermatofitose em cães e gatos - primeira parte. **Revista Clínica Veterinária**, v.56, p.48-56, 2005.

MARSELLA, R. Atopy: new targets and new therapies. **Veterinary Clinics Small Clinics Animal Practice**, Philadelphia, v. 36, n. 1, p. 161-174, 2006.

MEDEIROS, F.; CREPALDI, N.; TOGNOLI, L. Dermatofitos –Revisão de literatura. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, n 12, ano VII, 2009.

MIDGLEY G.; CLAYTON, Y. M.; HAY, R. J. **Micologia Médica**. São Paulo: Manole, p. 38, 1998.

MILLER, W. H.; GRIFFIN, C. E.; CAMPBELL, K. L.; **Muller & Kirk's Small Dermatology**, 7th ed. St. Louis: Elsevier/Saunders, p. 363-431, 2013.

MOTTA A. A.; KALIL J.; BARROS M. T.; Testes cutâneos. **Revista brasileira de alergia e imunopatologia**.– v. 28, n. 2, 2005.

NOBREGA, D. R. F. **Abordagem proativa à terapêutica da dermatite atópica canina**. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2010.

NOGUEIRA, M. A. A.; SANTOS, A. S.; LEAL, C. A. S.; LIMA, D. C. V.; OLIVEIRA, E. A. A.; SILVA, L. T. R.; SILVA, L. B. G. Diagnóstico das dermatites fúngicas em cães e gatos. **Anais do XII Jornada De Ensino, Pesquisa E Extensão – JEPEX2013 – UFRPE**: Recife, Dezembro, 2013.

NUTTALL T. et al. Canine atopic dermatitis – what have we learned. **Veterinary Record**.172: 201-207, 2013.

NUTTALL, T. Abordagem da dermatite atópica. **Veterinary focus: dermatologia canina e felina**, n. 18, p.32-39, 2008.

ODAGUIRI, J.; LUCAS R. Teste alérgico intradérmico e imunoterapia alérgeno específica no controle da dermatite atópica canina – revisão. **Clínica veterinária**, ano XVI, n.9, p. 94-100, 2011.

OLIVEIRA, J. C. **Tópicos em Micologia Médica**- Rio de Janeiro: 4 ed., 230 págs., Il. Col, 2014.

OLIVRY, T. et. al. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from international Task Force on Canine Atopic Dermatitis. **Journal compilation and ACVD, Veterinary Dermatology**, 2010.

OLIVRY, T.; DEBOER, D. J.; GRIFFIN, C. E.; HALLIWELL, R. E.; HILL, P. B.; HILLIER, A., et al. The ACVD task force on canine atopic dermatitis: forewords and lexicon. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.81, n. 3-4, p. 143-146, 2001.

PAPICH, M. G. **Manual Saunders de terapia veterinária: pequenos e grandes animais**. Rio de Janeiro: 3 ed. Elsevier, 2012.

PATEL, A.; FORSYTHE, P. **Dermatologia em pequenos animais**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

PEREIRA, T. D.; SCHMITD, C.; CENTENARO, V. B.; **Imunoterapia no tratamento de dermatite atópica canina**. Disponível em: www.unicruz.edu.br/seminario. Acesso em: 16. set. 2012.

RAMANDINHA, R. R.; REIS, R. K.; CAMPOS, S. G.; RIBERO, S. S.; PEIXOTO, P. V. Lufenuron no tratamento de dermatofitoses em gatos. **Pesq. Vet. Bras**, v. 2, p. 132-138, 2010.

REES, C. A. Canine and feline atopic dermatitis: a review of the diagnostic options. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 16, n 4, p 230-232, 2001.

RIBEIRO, E. A. **Frequência de fungos dermatófitos em gatos (*Felis catus*) Infectados e não infectados pelo vírus da imunodeficiência felina**. Dissertação (Mestrados), Botucatu, 2005.

ROCHETTE, F.; ENGELEN, M.; VANDER, B. H. Antifungal agents of use in animal health – practical applications. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 26, 31-53, 2003.

SCOTT, D. W.; MILLER, W. H.; GRIFFIN, C. E. **Small animal dermatology**. 6.ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, p. 667-779. 2001.

SCOTT, D. W.; MILLER, W. H.; GRIFFIN, C. E. **Small animal dermatology**. 5.ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, p. 25-26. 1995.

SCOTT, D.W. et al. Muller & Kirk - Dermatologia de pequenos animais. 5.ed. Rio de Janeiro: **Interlivros**, p. 1130, 1996.

VIEIRA, D.B. **Infecção cutânea no doente atópico canino**. Tese de mestrado, Clínica Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa – Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa, 2008.

WALLER, S. B.; GOMES, A. R.; CABANA, A. L.; FARIA, R. O.; MEIRELES, M. C. A.; MELLO, J. R. B. Microsporose canina e humana – um relato de caso zoonótico. **Science and animal health**, v. 2, p. 137-146, 2014.

WILLEMSE, T. **Dermatologia Clínica de Cães e Gatos**. 2 ed. Barueri: Manole, p. 44– 47, 1998.

ZANON, J. P.; GOMES, L. A.; CURY, G. M. M.; TELES, T. C. T.; BICALHO, A. P. C. Dermatite atópica canina. **Ciências agrárias**. V. 29, n.4, p. 905-920, out./dez. 2008.