



FACULDADE VÉRTICE – UNIVÉRTIX

SOCIEDADE EDUCACIONAL GARDINGO LTDA. – SOEGAR

TRABALHOS DE CONCLUSÃO DE CURSO

MEDICINA VETERINÁRIA – 2017/1



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

MATIPÓ, 2017.

SUMÁRIO

ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE CRU REFRIGERADO DA CIDADE DE SÃO JOÃO DO ORIENTE, MINAS GERAIS.....	4
ANÁLISE TÉCNICA, FÍSICO-QUÍMICA E BIOLÓGICA DE UM BIODIGESTOR NO TRATAMENTO DE DEJETOS EM UMA GRANJA DE SUÍNOS NA ZONA DA MATA MINEIRA.....	21
AVALIAÇÃO ANDROLÓGICA EM TOUROS HOLANDESES	40
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE <i>Punica granatum Linnaeus</i> CONTRA <i>Staphylococcus</i> COAGULASE POSITIVA ISOLADOS DE LEITE DE VACAS COM MASTITE SUBCLÍNICA.....	57
AVALIAÇÃO DA DOR PÓS-OPERATÓRIA DE CADELAS SUBMETIDAS À OVARIOSSALPINGOHISTERECTOMIA (OSH) PELA LINHA MEDIANA E PELO FLANCO.....	73
AVALIAÇÃO DE BETA-HIDROXIBUTIRATO SANGUÍNEO PARA O DIAGNÓSTICO DE CETOSE SUBCLÍNICA EM VACAS DE ALTA PRODUÇÃO.....	89
AVALIAÇÃO DE MASTITE SUBCLÍNICA EM DUAS PROPRIEDADES LEITEIRAS UTILIZANDO O MÉTODO CMT.....	102
AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS REPRODUTIVOS EM FÊMEAS DA RAÇA TABAPUÃ EM RESPOSTA A REALIZAÇÃO DE UM PROTOCOLO DE IATF.....	114
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE RECUPERAÇÃO OVOCITÁRIA E PRODUÇÃO DE EMBRIÕES EM DOADORAS DAS RAÇAS GIR E GIROLANDO SUBMETIDAS A ASPIRAÇÃO FOLICULAR GUIADA POR ULTRASSOM.....	130
AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE LEITE CRU REFRIGERADO DA REGIÃO DE SÃO JOÃO DO ORIENTE, MG.....	147
AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE IOGURTES COMERCIALIZADOS EM MATIPÓ.....	162
COMPARAÇÃO DA DOR PÓS-OPERATÓRIA DE GATAS SUBMETIDAS À OVARIOSSALPINGOHISTERECTOMIA (OSH) PELA LINHA MEDIANA E PELO FLANCO.....	177

COMPARAÇÃO DAS TÉCNICAS DE OVARIOSSALPINGOHISTERECTOMIA PELO FLANCO E PELA LINHA MEDIANA VENTRAL EM CADELAS NO HOSPITAL VETERINÁRIO GARDINGO LTDA.....	194
CONDUTA ANESTÉSICA EM CÃO SUBMETIDO À ADRENALECTOMIA UNILATERAL – RELATO DE CASO.....	211
DETECÇÃO DE LINFONODOS SENTINELAS EM CADELA COM NEOPLASIA MAMÁRIA COM A UTILIZAÇÃO DE CORANTE AZUL PATENTE – RELATO DE CASO.....	226
ESTABELECIMENTO DE PROTOCOLO BASE IATF EM NOVILHAS GUZERÁ.....	242
ESTUDO RETROSPECTIVO DE CASOS DE PARVOVIROSE E GASTROENTERITES REFERENCIADOS NO HOSPITAL ESCOLA VETERINÁRIO GARDINGO LTDA, MATIPÓ – MG (JANEIRO DE 2015 A JANEIRO DE 2017).....	259
HISTOGRAMA DE CÓRTEX RENAL EM CADELAS COM PIOMETRA, COMO AUXÍLIO DIAGNÓSTICO.....	273
INTUSSUSCEPÇÃO JEJUNOJEJUNAL SECUNDÁRIA À INFECÇÃO POR <i>Parascaris equorum</i> EM POTRA – RELATO DE CASO.....	287
OCORRÊNCIA DE <i>Staphylococcus coagulase</i> POSITIVA E <i>Listeria</i> spp. EM QUEIJOS MINAS COMERCIALIZADOS NA ZONA DA MATA MINEIRA.....	302
PESQUISA DE <i>Salmonella</i> spp. EM CARCAÇAS BOVINAS DURANTE DIFERENTES ETAPAS DO ABATE.....	319
PREVALÊNCIA DE TUBERCULOSE BOVINA EM ESTABELECIMENTO SOB SERVIÇO DE INSPEÇÃO FEDERAL NA ZONA DA MATA MINEIRA.....	334
RUPTURA DO LIGAMENTO CRUZADO CRANIAL EM CÃES – RELATO DE CASOS	350
TRATAMENTO DE RECEPTORAS EQUINAS COM PROGESTERONA PARA UTILIZAÇÃO NO DIA DA OVULAÇÃO E NO SEGUNDO DIA PÓS-OVULAÇÃO.....	369
USO DA FOLHA DE GRAVIOLA (<i>Annona muricata</i>) NO CONTROLE DO	

<i>Rhipicephalos (Boophilus) microplus</i>	387
USO DE DINITRATO DE ISOSSORBIDA COMO ADJUVANTE AO TRATAMENTO CIRÚRGICO DA DE FÍSTULAS RETROVAGINAIS EM ÉGUAS – RELATO DE TRÊS CASOS.....	400
UTILIZAÇÃO DE SAPONINAS ASSOCIADA À VACINA COMO MÉTODO TERAPÊUTICO DA PAPILOMATOSE CUTÂNEA BOVINA.....	418
UTILIZAÇÃO DE <i>Solanum lycocarpum</i> NO COMBATE DO <i>Rhabditis</i> spp. CAUSADOR DE OTITE EM GIR LEITEIRO.....	432
TRATAMENTO CIRÚRGICO DA HÉRNIA INGUINO-ESCROTAL ESTRANGULATIVA EM EQUINO – RELATO DE CASO.....	446

ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE CRU REFRIGERADO DA CIDADE DE SÃO JOÃO DO ORIENTE, MINAS GERAIS

Acadêmicas: Bruna de Jesus Pires Mol e Débora Rocha de Andrade

Orientadora: Letícia Ferreira da Silva

RESUMO

O leite, por ser um alimento de alto valor nutricional, é consumido por grande parte da população. Contudo, essas mesmas características o tornam um alimento altamente perecível, requisitando assim atenção nos procedimentos tecnológicos necessários ao seu processamento. Dessa forma, este estudo teve como objetivo verificar a adequação do leite cru refrigerado produzido em propriedades localizadas em São João do Oriente, Minas Gerais, quanto aos requisitos físico-químicos, além de examinar a possível existência de irregularidades no armazenamento ou de ações fraudulentas. Para isso, foram coletadas amostras de leite cru refrigerado dos tanques de expansão de dez propriedades localizadas no referido município. As análises físico-químicas foram realizadas conforme exigido pela Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011, do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Das dez amostras analisadas, duas apresentaram resultados fora do padrão. A amostra 1 com teor de gordura, extrato seco total e desengordurado abaixo do limite; enquanto a amostra 3 apresentou acidez e contaminação elevadas. Esses resultados apontam para falhas no armazenamento, e não à existência de fraudes. Com a adoção das Boas Práticas de Fabricação, é possível obter um produto final de qualidade, tanto nutricional quanto sanitária, assegurando a saúde e os direitos do consumidor.

Palavras-chave: Armazenamento; fraude; qualidade do leite.

1. INTRODUÇÃO

Entre os produtos de origem animal, o leite é consumido cotidianamente por grande parte da população. Essa grande aceitabilidade está associada aos fatores sociais, culturais e regionais, sendo o leite visto como um alimento rico em nutrientes e de fácil absorção, aproximando-se da perfeita alimentação (BRANDÃO, 1999). Contudo, essas mesmas características o tornam um alimento altamente perecível, susceptível a alterações físico-químicas e deterioração bacteriana, fato este que exige atenção nos procedimentos tecnológicos necessários ao seu processamento, visando garantir a inocuidade e preservação das características nutricionais do alimento (ROSA & QUEIROZ, 2007; SANTIAGO *et al.*, 2011).

Do ponto de vista físico-químico, o leite é uma mistura homogênea de um grande número de componentes sólidos (12 a 13%) em água (próximo a 87%); sendo que alguns desses componentes encontram-se em emulsão (gordura), alguns em suspensão (caseínas) e outros em solução verdadeira (lactose, vitaminas

hidrossolúveis, sais e proteínas do soro) (ORDOÑEZ, 2005; FERNANDES & MARICATO, 2010). Esses componentes permanecem em equilíbrio, tornando-se a base para as análises de rotina e precisão que são realizadas em laticínios com a intenção de identificar problemas que afetem a composição normal do leite (BRITO & BRITO, 2000).

As fraudes mais comuns no leite cru refrigerado são realizadas no intuito tanto de mascarar condições deficientes de higiene e armazenamento, a partir da adição de neutralizantes de acidez e conservantes, quanto de aumentar o rendimento do produto, adicionando água ou realizando o desnate do mesmo (POLEGATO & RUDGE, 2003; BRITO & BRITO, 2000; MENDES *et al.*, 2010). A esse respeito, são empregadas as análises físico-químicas, que têm a finalidade de, além de detectar essas possíveis fraudes, analisar também o valor nutricional do leite (SOUSA, 2011).

A comercialização do leite cru é proibida no país (BRASIL, 2011), porém, para a obtenção de leite pasteurizado, UHT ou de derivados de qualidade, é essencial partir de uma boa matéria-prima. Sendo assim, objetivou-se nessa pesquisa verificar a adequação à legislação vigente do leite cru refrigerado de dez propriedades, localizadas na cidade de São João do Oriente, Minas Gerais, quanto aos requisitos físico-químicos e examinar a possível existência de irregularidades no armazenamento ou de ações fraudulentas na comercialização desse leite, uma vez que, ao ser manipulado em condições inadequadas, torna-se um risco à saúde de quem o consome.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO LEITE CRU REFRIGERADO

De acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal, entende-se por leite o produto obtido de uma ordenha completa e sem interrupção, em condições higiênicas, de vacas sadias, bem nutridas e descansadas (BRASIL, 2017).

Sob o ponto de vista nutricional, o leite é o alimento mais completo, podendo assim ser consumido por todas as faixas etárias. Composto majoritariamente por água, o leite é uma solução homogênea que possui nesta porção os sólidos totais, que nada mais são do que gorduras, proteínas, sais e lactoses, que se encontram

em emulsão, solução coloidal ou solução verdadeira (ORDOÑEZ, 2005; VENTURINI, SARCINELLI & SILVA, 2007). A sua composição centesimal corresponde a, aproximadamente, 87% de água, 12 a 13% de elementos sólidos, sendo os principais lipídios 3,5 a 5,3%, proteínas 3 a 4%, carboidratos 4,7 a 5,2% e sais minerais e vitaminas, correspondendo a 1% (FERNANDES & MARICATO, 2010). Sabe-se que os carboidratos são fontes de energia necessárias para a dieta do ser humano e a lactose é um tipo de carboidrato constituído pela junção de galactose e glicose que somente o leite possui (PAULA, CARDOSO & RANGEL, 2010).

O leite cru refrigerado é produzido e refrigerado nas propriedades rurais e transportado às usinas de beneficiamento somente após avaliação da sua estabilidade (BRASIL, 2017). A refrigeração, a uma temperatura máxima de 4°C, deve ser alcançada em no máximo três horas após a ordenha; sendo que o leite deve permanecer na propriedade por, no máximo, 48 horas (BRASIL, 2011). O tempo de armazenamento sob refrigeração é de grande importância na qualidade do leite, uma vez que o frio apenas retarda a proliferação de micro-organismos, não exercendo influência sobre os psicrotróficos (ORDOÑEZ, 2005). E, para o seu correto transporte devem-se observar algumas determinações, como ser realizado em caminhões com tanguês isotérmicos, revestidos de aço inoxidável, capazes de manter a sua temperatura (BRASIL, 2011).

Ainda de acordo com a legislação vigente, Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o leite cru refrigerado deve atender aos seguintes requisitos físico-químicos: para matéria gorda, deve conter no mínimo 3,0%; quanto à densidade relativa a 15° C, os valores devem situar-se entre 1,028 a 1,034 g/mL; apresentar acidez titulável entre os limites de 0,14 a 0,18 g ácido láctico/100 mL (ou 14 a 18°D); no que se refere ao extrato seco total (EST) e desengordurado (ESD), seus limites devem ser de, no mínimo, 11,4 e 8,4%, respectivamente; o índice crioscópico deve acompanhar os limites de - 0,530°H a -0,550°H (equivalentes a -0,512°C e a -0,531°C); e o teor de proteína total de, no mínimo, 2,9% (BRASIL, 2011).

2.2 DETERIORAÇÃO DO LEITE

O leite, exatamente pelo fato de conter nutrientes imprescindíveis para a alimentação, é bastante favorável ao crescimento rápido de micro-organismos. Para garantir a qualidade de suas características nutricionais, físicas e químicas, o leite deve ser adquirido, portanto, em condições de higiene, sob baixa temperatura, da ordenha até o seu beneficiamento. Pelo fato de ser um produto de fácil contaminação, na ausência da devida higienização, o leite pode apresentar índice elevado de bactérias totais, o que constitui um risco para o consumidor, especialmente, quando ingerido sem o devido tratamento térmico (SANDA *et al.*, 2013).

O leite, quando nos alvéolos da glândula mamária, é estéril; porém, após o seu manuseio pode se contaminar com micro-organismos advindos da própria glândula mamária, do ambiente e dos equipamentos. Essa contaminação prejudica a qualidade, reduzindo o tempo de prateleira, além de poder colocar em risco a saúde de quem o consome. Alguns fatores são importantes para que não ocorra a contaminação microbiana, como o estado de saúde do animal e a limpeza e a desinfecção de ambientes, equipamentos e tanques de refrigeração. Além disso, após a obtenção do leite, a temperatura de armazenamento é de extrema importância para que não ocorra crescimento bacteriano, que pode causar a sua deterioração (BRITO & BRITO, 2000).

Entre os micro-organismos que podem estar presentes no leite cru, destacam-se os mesófilos, que multiplicam rapidamente quando o leite não é armazenado sob refrigeração; os termodúricos, resistentes à pasteurização; e os psicotróficos, que são capazes de multiplicar em baixas temperaturas, produzindo enzimas termoestáveis que degradam as proteínas e a gordura do leite, alterando o sabor e odor do mesmo (BRITO & BRITO, 2000).

Além da proteólise e lipólise, um dos principais sinais de deterioração do leite cru surge em decorrência da transformação da lactose em ácido láctico, aumentando a acidez do leite. Essa alteração torna-se visível em casos de contaminações geradas pela ausência de higiene, animais mal cuidados, bem como no caso de transporte e armazenamento inadequados do leite (leite refrigerado de forma indevida). Assim, o crescimento de micro-organismos pode ser adiado se houver a manutenção da cadeia do frio (CASTRO & LUZ, 2015).

2.3 FRAUDES EM LEITE

As fraudes realizadas no leite cru refrigerado visam, sobretudo, à lucratividade, seja pela adição de substâncias para aumentar o seu volume ou para adiar a sua deterioração. Tratam-se de práticas que devem ser avaliadas cuidadosamente, pois, quando adulterado, o leite causa prejuízos, não só industrial como também ao consumidor (MORAIS, 2013).

Entre essas fraudes, a adição de água é uma das mais comuns, sendo realizada em diversas partes do mundo (ROBIM *et al.*, 2012), e tem como principal objetivo aumentar o volume do mesmo, ocasionando assim maior lucratividade (PINHEIRO, 2015). Para mascarar essa aguagem do leite, outra fraude comumente praticada é a adição de reconstituintes de densidade, como sal, açúcar, leite em pó, amiláceos hidrolisados, urina e outros componentes que recompõem a densidade do leite (MORAIS, 2013). Essa ação fraudulenta causa riscos à saúde do consumidor e, também, danos nutricionais (PINHEIRO, 2015).

A adição de soro do leite também tem como intuito o aumento de volume. No entanto, como o soro do leite possui, além da água, sais e lactose, isso dificulta a sua detecção nos laboratórios, por possuir densidade e índice crioscópico semelhante ao do leite (SILVA, 2013).

O uso de soluções alcalinas para a higienização e sanitização de equipamentos, aparelhos ou na própria estrutura física para remoção de gordura, são comuns de serem utilizadas nos ambientes de ordenha, porém, a adição dessas substâncias alcalinas no leite provoca o que pode ser analisada como uma fraude proposital. Tal procedimento tem como objetivo aumentar seu tempo de prateleira ou até mesmo atenuar a acidez do leite, decorrente do armazenamento em temperaturas inadequadas ou da contaminação no momento da ordenha (ABRANTES, CAMPÊLO & SILVA, 2014).

Já a prática do desnate ocorre uma vez que o creme (nata) possui um valor de mercado maior que o do leite fluido (SILVA *et al.*, 2015). Desta forma, o desnate, na propriedade rural, que afeta a porcentagem de gordura, é um ato proibido, porém muito comum (ABRANTES, CAMPÊLO & SILVA, 2014).

Com o intuito de inibir a atividade microbiana no leite e aumentar a sua vida de prateleira, uma fraude bastante comum é a adição de cloro, hipoclorito, peróxido

de hidrogênio e formaldeídos, evitando, assim, as alterações decorrentes de sua multiplicação (SILVA, 2013). Também, o leite não deve apresentar resíduos de antibióticos, portanto durante o uso destes medicamentos deverá ser respeitado o período de carência necessário para que a substância aplicada alcance valores iguais ou inferiores aos limites de resíduos estabelecidos por legislação específica (SILVA, 2013).

2.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E QUALIDADE DO LEITE CRU REFRIGERADO

As características físico-químicas do leite também são de extrema importância, uma vez que sua composição original (porcentagem de água, gordura, lactose, proteína, sais e vitaminas) serve de embasamento para testes e detecção de fraudes (FERREIRA, 2007).

Com base nisso, devem ser realizadas análises físico-químicas para o controle diário do leite cru refrigerado no estabelecimento industrial, como a medição da temperatura, teste do álcool/alizarol na concentração mínima de 72%, acidez titulável, índice crioscópico, densidade relativa a 15°C, teor de gordura, pesquisa de fosfatase alcalina e peroxidase (quando a amostra for proveniente de usina ou fábrica), porcentagem de EST e ESD, pesquisa de neutralizantes de acidez e reconstituintes de densidade, entre outras que se façam necessárias (BRASIL, 2011).

3. METODOLOGIA

Foram coletadas dez amostras de leite cru refrigerado, armazenados em tanques de expansão, de diferentes propriedades da cidade de São João do Oriente, Minas Gerais. As amostras foram mantidas em caixas isotérmicas com gelo até o momento das análises laboratoriais.

Para determinação dos requisitos físico-químicos das amostras de leite foram realizados os seguintes métodos de referência estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento por meio da Instrução Normativa 62, de 29 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011): temperatura, matéria gorda, densidade relativa a 15°C, acidez titulável, estabilidade ao alizarol 72%, extrato seco total e desengordurado e redutase. Todas as análises foram realizadas no Laboratório de

Tecnologia de Alimentos do Hospital-Escola Gardingo da Faculdade Vértice, campus Matipó.

3.1 TEMPERATURA

A temperatura de cada amostra foi mensurada no momento da coleta dos tanques de expansão.

3.2 MATÉRIA GORDA

A determinação da matéria gorda do leite foi realizada pelo método de Gerber, com o auxílio de vidraria específica (butirômetro). Para isso, foram adicionados em cada butirômetro 10 mL de ácido sulfúrico, seguido da adição lenta de 11 mL da amostra de leite homogeneizada (evitando sua mistura imediata com o ácido), e, por fim, foi acrescentado 1 mL de álcool isoamílico. O conjunto foi homogeneizado lentamente e, após a completa dissolução da caseína, os butirômetros já fechados foram acondicionados em centrifuga apropriada para centrifugação a 1.200 rpm por 5 minutos. Após a centrifugação, foi realizada a leitura visual da coluna de gordura na porção graduada do butirômetro.

3.3 DENSIDADE RELATIVA A 15°C

A densidade de cada amostra de leite foi verificada com aparelho específico, denominado termolactodensímetro. Esse aparelho permitiu a leitura da densidade da amostra associada à sua temperatura. A leitura foi realizada entre as faixas de temperatura de 10 a 20°C. Para cada grau acima de 15°, foi realizada a adição de 0,0002 g/mL; já para cada grau abaixo de 15°C, foram reduzidos 0,0002 g/mL.

3.4 ACIDEZ TITULÁVEL

De cada amostra de leite homogeneizada foram retiradas 10 mL para realização da prova de acidez pelo acidímetro Dornic. A essas amostras foram adicionadas três gotas do indicador de neutralidade, fenolftaleína a 1%. O leite foi titulado com a solução Dornic (NaOH N/9) até se verificar alteração da cor do mesmo para róseo. A partir desse ponto foi verificada a quantidade de solução necessária para a alteração da cor, sendo considerado que 0,1 mL de solução Dornic corresponde a 1° Dornic.

3.5 ESTABILIDADE AO ALIZAROL A 72%

Foram retirados 2 mL de cada amostra de leite previamente homogeneizada e adicionados a uma placa de Petri juntamente com 2 mL de alizarol a 72%. Foi realizada a leitura imediata dos resultados, com base na coloração e presença ou ausência de flocculação da amostra.

3.6 EXTRATO SECO TOTAL E DESENGORDURADO

Com os resultados obtidos nas provas de densidade relativa a 15°C e da matéria gorda, foram realizados os cálculos para determinação do EST e ESD considerando, respectivamente, as seguintes fórmulas:

$$EST = 1,2G + \frac{D}{4} + 0,26$$

$$ESD = EST - G$$

Onde D corresponde á densidade e G corresponde ao teor de gordura de cada amostra de leite.

3.7 REDUTASE

Para realização dessa prova, foram pipetados assepticamente 10 mL de cada amostra de leite, após homogeneização, em tubos de rosca estéreis. A cada tubo foi adicionado 1 mL da solução azul de metileno. As amostras foram homogeneizadas e incubadas a 37°C. Leituras periódicas, a cada 30 minutos, foram realizadas para verificar o momento em que houve alteração da coloração de azul para incolor, classificando-se a qualidade microbiológica das amostras de acordo com o tempo necessário para redução total do metileno: maior que 8 horas (classe 1, excelente), entre 6 e 8 horas (classe 2, boa), entre 2 e 6 horas (classe 3, razoável) e menor que 2 horas (classe 4, ruim).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises físico-químicas das amostras coletadas estão dispostos na Tabela 1. Como pode ser observado, das dez amostras de leite cru refrigerado coletadas, somente duas (20%), 1 e 3, estavam fora dos parâmetros estabelecidos pela IN nº62 de 2011 do MAPA (BRASIL, 2011). Discordando do presente trabalho, Pereira *et al.*, (2010), encontraram anormalidades em 90% das

dez amostras de leite cru analisadas. Montanhinie (2013), por sua vez, encontraram pelo menos um parâmetro fora do exigido em todas as 23 amostras analisadas, apresentando, portanto, 100% de amostras alteradas. Ambos os resultados bastante discrepantes do exposto na Tabela 1.

O teor de gordura apresentou-se abaixo do padrão exigido pela legislação apenas na amostra 1, não alcançando o valor mínimo de 3% para o leite cru refrigerado. A gordura é um importante parâmetro para avaliar fraudes no leite (PAULA, 2010). O desnate é considerado fraude, uma vez que altera a composição original da matéria-prima (BRASIL, 2017). O método do desnate ocorre, pois a nata tem um valor no comércio superior ao do leite fluido (SILVA *et al.*, 2015).

No caso, o baixo teor de gordura na amostra 1, de apenas 1,1% (FIGURA 1), pode ser atribuído a falha no armazenamento do leite e não a um desnate intencional (fraude). Uma vez que foi observado, no momento da coleta do leite na propriedade que o sistema de agitação do tanque de expansão estava desligado este fato pode ter favorecido a suspensão da gordura do leite. Como o leite é uma emulsão de gordura em água, quando o mesmo é mantido em temperaturas de refrigeração sem agitação, verifica-se a separação da nata (ORDOÑEZ, 2005).



Figura 1. Resultado do teor de gordura obtido pelo método de Gerber para a amostra 1 de 1,1%.

Tabela 1. Resultados das análises físico-químicas de dez amostras de leite cru refrigerado coletadas de tanques de expansão de diferentes propriedades localizadas em São João do Oriente, Minas Gerais

Análise	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Padrão (IN 62)
Temperatura	≤4°C	≤4°C	≤4°C	≤4°C	≤4°C	≤4°C	≤4°C	≤4°C	≤4°C	≤4°C	≤4°C
Matéria gorda	1,1%	4,8%	3,4%	4,4%	3,5%	3,7%	4,6%	4,3%	4,2%	4,0%	≥3%
Densidade relativa a 15°C	1,030	1,030	1,032	1,032	1,033	1,034	1,030	1,033	1,033	1,032	1,028 a 1,034
Acidez titulável	17°D	16°D	20°D	14°D	17°D	15°D	18°D	17°D	17°D	17°D	14 a 18°D
Estabilidade ao alizarol a 72%	Estável	Estável	Instável (amarelo com floculação)	Estável	Estável	Estável	Estável	Estável	Estável	Estável	Estável
EST	9,08%	13,76%	12,34%	13,54%	12,71%	13,20%	13,28%	13,67%	13,55%	13,06%	≥11,4%
ESD	7,98%	8,96%	8,94%	9,14%	9,21%	9,50%	8,68%	9,37%	9,35%	9,06%	≥8,4%
Redutase	>8h	>8h	<30 min.	>8h	>8h	>8h	>8h	>8h	>8h	>8h	>8h

Em uma pesquisa realizada por Rombi *et al.*, (2012), todas as amostras de leite cru refrigerado apresentaram-se dentro do parâmetro normativo estabelecido para gordura. Já Lima *et al.*, (2016), ao avaliarem oito amostras de leite cru refrigerado, observaram que duas estavam abaixo do valor mínimo exigido de 3%, concordando com os resultados do presente trabalho.

Pereira *et al.*, (2010), corroborando os resultados deste trabalho, também verificaram alteração no teor de gordura, estando 20% das amostras (n=10) com menos de 3% de gordura. Esses autores atribuíram o baixo teor de gordura a fatores como genética, procedência e alimentação dos animais; contudo essas variáveis apresentam maior influência em leite individual, não afetando tanto o leite de conjunto (PEREIRA *et al.*, 2010).

Como consequência do desnate observado na amostra 1, os seus valores de EST e ESD também estavam abaixo do padrão normativo que são no mínimo 11,4 e 8,4 respectivamente (TABELA 1). O que já era esperado, pois a gordura é um dos componentes do leite e a sua ausência ocasiona redução dos sólidos totais (ORDOÑEZ, 2005). Em um estudo realizado por Amaral e Santos (2011), tanto o EST quanto o ESD também estavam abaixo dos valores estabelecidos pela legislação em todas as três amostras coletadas. No entanto, diferente do descrito anteriormente, as associações desses dados com os resultados da prova de densidade indicaram como causa a adição de água nesses leites (AMARAL & SANTOS, 2011).

Já para a amostra 3, foram observadas alterações nos resultados de três provas físico-químicas: acidez titulável, estabilidade ao alizarol 72% e redutase (TABELA 1). A acidez titulável apresentou resultado de 20ºD, acima do intervalo permitido (entre 14 e 18ºD), indicando que o leite estava ácido; no alizarol, apresentou-se amarelo com floculação, confirmando a acidez; e na prova da redutase, foi observada a completa redução do azul de metileno em menos de 30 minutos de incubação (FIGURA 2).

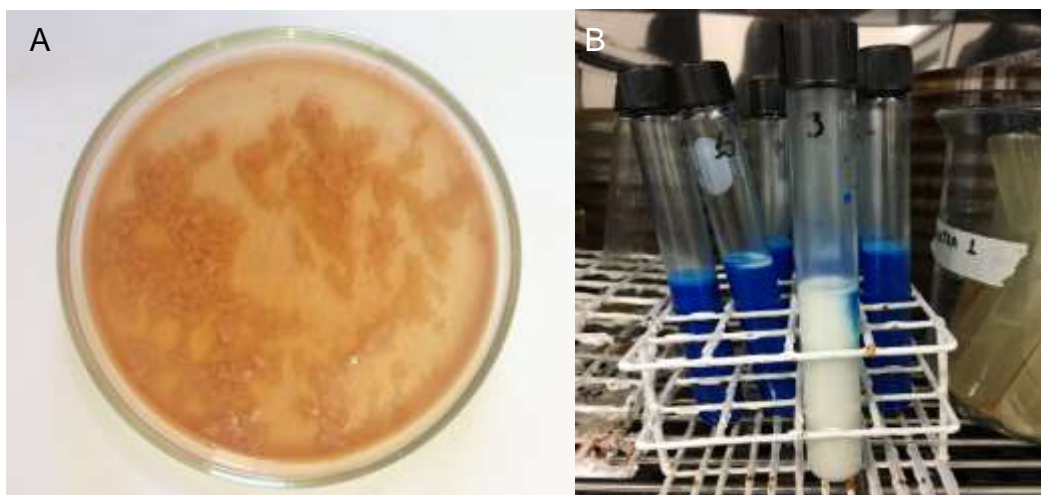


Figura 2. Resultados fora dos padrões da amostra 3: a) Estabilidade ao Alizarol a 72% (amarelo com floculação); b) Prova da redutase (única amostra com redução completa em menos de 30 minutos).

A análise conjunta desses resultados indica que a amostra 3 se trata de um leite com alta concentração bacteriana, uma vez que o aumento da acidez no leite indica a fermentação da lactose em decorrência da multiplicação de bactérias lácticas que a utilizam como substrato, gerando como metabólito o ácido láctico, o que culmina com a coagulação da caseína e a restrição do uso do leite (SILVA *et al.*, 2015). Essa contaminação excessiva é consequência da higienização e/ou conservação deficientes, pois a temperatura elevada propicia a proliferação das bactérias naturalmente presentes no leite (SANTOS *et al.*, 2011).

Segundo Menezes (2014), a falta de sanitização dos equipamentos e higiene do ordenhador, durante a ordenha pode ser indicador de leite ácido e coagulado, o que são recusados pelas indústrias. Podendo essa também ser a causa das alterações observadas na amostra 3, uma vez que a temperatura de armazenamento estava adequada.

Ainda, ao ser realizada a prova do Alizarol, é possível se constatar a estabilidade térmica da caseína e verificar se o leite cru é capaz ou não de ser submetido ao tratamento térmico; já que o leite que se apresentar instável (com floculação), como no caso da amostra 3, irá coagular totalmente durante a sua pasteurização, inviabilizando o emprego dessa prática (FANCHINELLI, 2010).

Já a rápida redução observada na prova da redutase confirma a multiplicação bacteriana, pois o azul de metileno é um corante que, de acordo com a proporção de bactérias redutoras presentes no leite, perde a sua tonalidade. Assim, quanto mais rápido ocorre essa redução, maior quantidade de bactérias presentes na amostra analisada (FERNANDES & MARICATO, 2010).

Diversos outros estudos também encontraram valores elevados de acidez titulável, concordando com os resultados deste trabalho. Pereira *et al.*, (2010) encontraram valores acima do fixado pelo MAPA em 30% das amostras coletadas; indicando, segundo esses autores, uma possível contaminação por bactérias. Nas amostras analisadas por Montanhini e Hein (2013), quatro amostras (17%) também estavam com a acidez acima do permitido. Mendes *et al.*, (2011) encontraram valor superior ao recomendado em duas de suas 18 amostras de leite cru refrigerado. E, confirmando novamente a frequência dessa alteração, Silveira e Bertagnolli (2014) encontraram 80% das amostras (n=10) fora do limite dos padrões estabelecidos.

Por outro lado, Ataíde *et al.*, (2008), apesar de também terem encontrado valores fora do padrão de acidez titulável em três das suas amostras, esses valores estavam abaixo do estabelecido por legislação, com 13^oD. Para reduzir a acidez do leite, uma fraude comum por parte dos produtores é a adição de substâncias neutralizantes (ATAÍDE *et al.*, 2008).

Ainda, Brito *et al.*, (2003), observaram que 45 das 335 amostras de leite cru refrigerado, coletadas em um período de 12 meses, apresentaram instabilidade na prova do alizarol. Montanhini e Hein (2013) também observou que 9% das amostras foram instáveis ao alizarol. Já nas análises realizadas por Fernandes e Maricato (2010), não foi observada nenhum tipo de alteração nas amostras em relação ao teste de estabilidade ao alizarol a 72%, discordando deste trabalho; assim como 100% das amostras avaliadas por Paula *et al.*, (2010) também apresentaram estabilidade no teste.

Com relação à prova da redutase, Pereira *et al.*, (2012) verificaram que em seis amostras (2,7%), coletadas na plataforma de recepção do laticínio, a redução do azul de metileno ocorreu em menos de 1 hora e 30 minutos, constatando um leite de má qualidade microbiológica. Contudo, essas amostras apresentaram resultado satisfatório quando analisadas anteriormente nos tanques das propriedades, indicando falha durante o transporte do leite: elevação da temperatura, favorecendo a multiplicação bacteriana (PEREIRA *et al.*, 2012).

No que diz respeito ao restante das amostras e das análises, todas se encontravam dentro do padrão normativo. Portanto, dentre as amostras coletadas não foi verificada a realização de nenhuma fraude.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após as análises físico-químicas realizadas com as amostras de leite cru refrigerado coletadas no município de São João do Oriente – MG, pode-se concluir que das dez amostras, apenas duas apresentaram algum tipo de não conformidade. Essas alterações são indicativas de falhas no armazenamento do leite nessas propriedades e/ou higiene inadequada no momento da ordenha, sendo, ainda que na amostra 1 ocorreu fraude, podendo ser não intencional. Com a adoção das Boas Práticas de Fabricação, é possível obter um produto final de qualidade, tanto nutricional quanto sanitária, assegurando a saúde do consumidor.

6. REFERÊNCIAS

ABRANTES, M.R, CAMPÊLO, C.S, SILVA, J.B.A. Fraude em leite: Métodos de detecção e implicações para o consumidor. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 73, n. 3, p. 244-251, 2014.

AMARAL, C.R.S; SANTOS, E.P. Leite cru comercializado na cidade de Solânea, PB: caracterização físico-química e microbiológica. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.13, n.1, p.7-13, 2011.

ATAIDE, W.S; MACIEL, J.F; LIMA, P.L.A; LIMA, A.R.C; SILVA, F.V.G; SILVA, J.A. Avaliação microbiológica e físico-química durante o processamento do leite pasteurizado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 67, p. 73-77, 2008.

BRANDÃO, A.S.P. **Restrições econômicas e institucionais à produção de leite na Região Sul**. Anais. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite/MCT/CNPQ/PADCT, p. 27-34, 1999.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO. **Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. 2017. 108p.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº62, de 29 de dezembro de 2011**., 2011, 24p.

BRITO, M.A.V.P.; PORTUGAL, J.A.B.; DINIZ, F.H.; FONSECA, P.C.; ANGELO, F.F.; PORTO, M.A.C. Qualidade do leite armazenado em tanques de refrigeração comunitários. In: MARTINS, C.E.; FONSECA, P.C.; BERNARDO, W.F.; CÔSER, A.C.; FRANCO, P.R.V.; PORTUGAL, J.A.B.; CARVALHO, F.S. (Eds.). **Alternativas tecnológicas, processuais e de políticas públicas para produção de leite em bases sustentáveis**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2003. p. 21-43

BRITO, M.A.V.P; BRITO, J.R.F. **Qualidade do leite**, 2000. Disponível em: <http://fernandomadalena.com/site_arquivos/903.pdf>. Acesso em: 13 setembro de 2016.

CASTRO, A.D; LUZ, R. **Avaliação da qualidade do leite *in natura* antes, após 30 e 60 dias de congelamento**, 2015. Disponível em: <<https://www.univates.br/tecnicos/media/artigos/alessandra.pdf>>. Acessado em: 25 mai. 2017.

FANCHINELLI, C. **Controle de qualidade do leite – análises físico-químicas e microbiológicas**. Bento Gonçalves, 2010. Disponível em: <<http://www.bento.ifrs.edu.br/site/midias/arquivos/2012429101512203camilafachinelli.pdf>>. Acessado em: 10 jun. 2017.

FERREIRA, M.A. **Dossiê Técnico. Controle de Qualidade Físico-Químico em leite fluido**. Centro de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico da Universidade de Brasília – CDT/UnB, 2007. Disponível em: <<http://files.leonardomaia1.webnode.com/200000075db4a5dc47b/Controle%20de%20Qualidade%20F%C3%ADsicoQu%C3%ADmico%20em%20Leite%20Flu%C3%ADdo.pdf>>. Acesso em: 26 de julho de 2017.

FERNANDES, V.G; MARICATO, E. Análise físico-químicas de amostras de leite cru de um laticínio em bicas – MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 375, n. 65, p. 3-10, 2010.

LIMA, A.S; LIMA, R.F; SILVA, E.V; TARGINO, A.N; TARGINO, M.V.P. Padrões físico-químico e microbiológicos do leite cru comercializado em município no interior da Paraíba. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n. 3, p. 80-85, 2016.

MENDES, C. G.; SAKAMOTO, S. M.; SILVA, J. B. A.; JÁCOME, C. G. M.; LEITE, A. I. Análises físico-químicas e pesquisa de fraude no leite informal comercializado no município de Mossoró, RN. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 2, p. 349-356, 2010.

MENDES, E.A.S.; PIRES, C.V.; SILVA, A.M.; SILVA, L.S. **Análises físico-químicas de amostras de leite cru refrigerado coletadas de produtores do município de Paracatu–MG**, 2011. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/sbctars-eventos/gerenciador/painel/trabalhosversaofinal/SHO464.pdf>>. Acessado em: 25 mai. 2017.

MENEZES, M.F.C; SIMEONI, C.P; ETCHEPARE, M.A; HUERTA, K; BORTOLUZZI, D.P; MENEZES, C.R. Microbiota e conservação do leite. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental – REGET**. v.18, p. 76-89, 2014

MONTANHINI, M.T.M; HEIN, K.K. Qualidade do leite cru comercializado informalmente no município de Piraí do Sul, estado do Paraná, Brasil. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 393, p. 10-14, 2013.

MORAIS, C.S. **Controle de qualidade do leite e derivados da empresa Coproleite**. Campo Mourão, 2013. Disponível em: <http://www.gerec.ct.utfpr.edu.br/estagioemprego/relatoriofinal/838101_278.pdf>. Acessado em: 11 mar. 2017.

ORDÓÑEZ, J.A. **Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal**. v.2. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PAULA, F.P; CARDOSO, C.E; RANGEL, M.A.C. Análise físico-química do leite cru refrigerado proveniente das propriedades leiteiras da Região Sul Fluminense. **Revista eletrônica TECCEN**, v. 3, n. 4, p. 7-18, 2010.

PEREIRA, C.G.; PINTO, S.M.; FOSNCECA, R.L.; CAMARGO, K.; OLIVEIRA; REZENDE, C.P.A; ABREU, L.R. Caracterização físico-química do leite cru comercializado no município de Lavras – MG. **Revista do Instituto de Laticínio “Cândido Tostes”**, v. 372, n. 65, p. 18-25. 2010.

PEREIRA, J.G.; MONTANHINI, M.T.M.; BARCELLOS, V.C.; PINTO, J.P.A.N.; BESORT, L.S. Testes de Redutase para a Avaliação da Qualidade de Leite Cru Refrigerado. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, n. 2 p. 77-80, 2012

PINHEIRO, L.A.F. **Detecção de fraude no leite com água pela capacidade térmica volumétrica**. Juiz de Fora, 2015. Disponível em: <<https://repositorio.ufjf.br/jspui/bitstream/ufjf/1454/1/lucianaaquinoferreirapinheiro.pdf>>. Acessado em: 27 de maio de 2017.

POLEGATO, E.P.S; RUDGE, A.C. Estudo das características físico-químicas e microbiológicas dos leites produzidos por mini usinas da Região de Marília, São Paulo. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 110, p. 56-63, 2003.

RIBEIRO JÚNIOR, J.C; BERLOT, V; SILVA, L.C.C; TAMANINI, R. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química do leite cru refrigerado produzido na região de Ivaiporã, Paraná. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 392, p. 5-11, 2013.

ROBIM, M.S.; CORTEZ, M.A.S.; SILVA, A.O., TORRES FILHO, R.A.; GEMAL, N.H.; NOGUEIRA, E.B. Pesquisa de fraude no leite UAT integral comercializado no estado do rio de janeiro e comparação entre os métodos de análises físico-químicas oficiais e o método de ultrassom. **Revista do Instituto de Laticínio “Cândido Tostes”**, v. 67, p. 43-50, 2012.

ROSA, L.S; QUEIROZ, M.I. Avaliação da qualidade do leite cru e resfriado mediante a aplicação de princípios do APPCC. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 422-430, 2007.

SANDA, A.C.M.M; SILVA, T.L; PIVA, K.P; SANDA, R.T; ORSINE, J.V.C. Característica do leite cru consumido pela população de Pires do Rio – GO. **Revista HCPA**, v. 33, n. 2, 2013

SANTIAGO, B. T.; PIRES, C. V.; COSTA SOBRINHO, P. S.; SANTOS, A. L.; SANTOS, J. M. Avaliação físico-química, microbiológica e de contagem de células somáticas de leites pasteurizados comercializados no município de Diamantina-MG. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n. 1, p. 39-44, 2011.

SANTOS, N.A.F.; LACERDA, L.M.; RIBEIRO, A.C.; LIMA, M.F.V.; GALVÃO, N.R.; VIEIRA, M.M.; SILVA, M.I.S; TENÓRIO, T.G.S. Avaliação da composição e qualidade físico-química do leite pasteurizado padronizado comercializado na cidade de São Luís, MA. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.78, n.1, p.109-113, 2011.

SILVA, L.C.C. **Capacidade de detecção de adulterações e suficiências das provas oficiais para assegurar a qualidade do leite pasteurizado**. Londrina, 2013. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/81561/000905445.pdf?sequence=1>>. Acessado em: 14 abr. 2017.

SILVA, T.O; SANDI, A.L.S.; OLIVEIRA, T.C.; TRANCHES T.A; CARDOSO P.F. **Qualidade do leite cru comercializado no município de Muzambinho/MG**. Poços de Caldas, 2015. Disponível em: <<https://jornada.ifsuldeminas.edu.br/index.php/jcpcs/jcpcs/paper/view/1476/720>>. Acessado em: 10 de janeiro de 2017.

SILVEIRA, M.L.R; BERTAGNOLLI, S.M.M. Avaliação da qualidade do leite cru comercializado informalmente em feiras livres no município de Santa Maria-RS. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 2, n. 2, p. 75-80, 2014.

SOUZA, F.C; CRUZ, C.S.A; SILVA, L.M.M; FEITOSA, M.K.S.B, SILVA, J.N. Qualidade físico-química de leites pasteurizado tipo C comercializados na Região do CaribeCearence. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.6, n.3, p. 258 – 262, 2011

VENTURINI, K.S; SARCINELLI, M.F; SILVA, L.C. **Característica do leite**. Boletim Técnico - PIE-UFES:01007. Editado em 26/08/2007. Disponível em: <http://www.agais.com/telomc/b01007_caracteristicas_leite.pdf>. Acessado em: 10 mar. 2017.

AVALIAÇÃO TÉCNICA, FÍSICO-QUÍMICA E BIOLÓGICA DE UM BIODIGESTOR NO TRATAMENTO DE DEJETOS EM UMA GRANJA DE SUÍNOS NA ZONA DA MATA MINEIRA: ESTUDO DE CASO

Acadêmicas: Ivana Norimã de Souza Nogueira e Lívia Ramalho dos Santos

Orientador: Alberto Yukio Chaya

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar a implantação de um biodigestor no tratamento de dejetos de suínos de uma granja de suínos localizada na Zona da Mata Mineira. A produção de suínos gera agentes poluidores, como metano, gás carbônico, ácido sulfídrico, entre outros que são eliminados no ambiente e em grandes quantidades podem ser prejudiciais à saúde animal e humana. Os impactos ambientais são no solo, na água e no ar da propriedade e adjacências. Os principais subprodutos dos resíduos são os biofertilizantes e o biogás. Tentando minimizar os impactos ambientais, medidos pelos testes de Demanda química de oxigênio (DQO) e Demanda bioquímica de oxigênio (DBO), causados pela geração de resíduos, que são fezes, urina, restos e água utilizada em uma granja, foi implantado um biodigestor de modelo tubular, visando melhoria ao subproduto e matéria prima, com isso reduzindo o impacto ambiental causado pelo lançamento dos mesmos sem tratamento no ambiente. Para DBO e DQO foram registradas reduções na concentração desses parâmetros, de 87% e 91%, respectivamente, através da biodigestão. Dessa forma, ficou constatado que o sistema de tratamento por biodigestor promove a remoção da carga orgânica dos dejetos suínos, diminuindo o impacto ambiental desse efluente ao ser lançado no solo, reduzindo o risco de contaminação de águas superficiais e subterrâneas.

PALAVRAS-CHAVE: Suinocultura, Controle ambiental, Tratamento dos dejetos, biodigestor.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o quarto maior exportador de carnes de suínos, possui o quarto maior plantel mundial, e é o quarto maior produtor de suínos do mundo. Devido a preocupação de se obter um sistema de produção animal com energia renovável - limpa, e a necessidade de criar formas para reduzir a poluição ambiental, o manejo correto dos dejetos produzidos por uma suinocultura se torna como uma possível solução para o excesso de produção de resíduos orgânicos despejados na natureza (COUTINHO *et al.*, 2013; SEBRAE, 2016).

Uma fêmea suína (matriz) de uma granja intensiva produz em torno de 100 litros de dejetos por dia. Os dejetos produzidos por uma suinocultura intensiva são constituídos principalmente por fezes, urina e água das instalações. Porém, outras parcelas destes dejetos são de agentes poluidores, tais como o fósforo, o

nitrogênio, microrganismos patogênicos, metais pesados, hormônios e antibióticos (KUNZ *et al.*, 2005; ALMEIDA, 2008; GENOVA *et al.*, 2015; MAPA, 2016).

A negligência, a imprudência e a imperícia de alguns suinocultores fazem com que os dejetos produzidos por este sistema sejam lançados ao solo e em rios sem um tratamento correto, tornando-se uma fonte de poluição ambiental, que se houver ingestão de água contaminada ou de alimento em solo contaminado, poderá causar danos a saúde pública. Podem também causar desertificação de vastas regiões, a morte e contaminação de rios, nascentes e lençóis subterrâneos (MOTA, 2013).

Para diminuir os impactos causados pela geração de resíduos sólidos orgânicos em uma granja, os biodigestores tornam-se uma opção à atividade suinícola. O tratamento destes resíduos ocorre por meio da biodigestão anaeróbia e resulta-se de biogás (metano) e biofertilizante. O primeiro pode ser convertido em energia elétrica, e o segundo, utilizado em plantações (LUCAS JÚNIOR, 1994; MAPA, 2016).

A decisão de contribuir com o meio ambiente e a escolha de se construir um biodigestor dependem de uma série de planos de negócios visando o tipo de tecnologia a adotar e cálculos econômicos para a implantação deste tratamento de dejetos (BONTURI & DJIK, 2012).

Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a implantação de um biodigestor e sua viabilidade físico-química e biológica no tratamento de dejetos em uma granja de suínos na Zona da Mata Mineira.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. PRODUÇÃO DE SUINOS NO MUNDO E NO BRASIL

O Brasil tem acompanhado o seu crescimento perante o mercado internacional na exportação de carne suína, sendo a Rússia o nosso comprador majoritário consumindo 50% da carne exportada pelo Brasil, esse país ajudou bastante no crescimento das exportações de carne suína brasileira, após conflitos com a União Européia e Estados Unidos (GONÇALVES & PALMEIRA, 2006) (CNA, 2015).

No ano de 2014 o Brasil estava em quarto lugar na exportação de carne suína, perdendo somente para os Estados Unidos, União Européia e Canadá. Com esse aumento das exportações mostrou a importância do setor para a economia do país (MELZ e GASTARDELO, 2014).

Os estados brasileiros que mais produzem suínos são Santa Catarina com 5,4%, Rio Grande do Sul com 5%, Paraná com 6,1% sendo assim esses três estados representam 66,7% da produção e Minas Gerais com 4,2% (MELZ e GASTARDELO, 2014). No entanto o Brasil possui o terceiro maior rebanho de suínos em média de 32 milhões de cabeças, ficando atrás dos Estados Unidos que tem um valor superior a 60 milhões de cabeças de suínos, e em destaque a China em primeiro lugar de maior rebanho com um total de 460 milhões de animais, e com consumo de 63,1% de carne suína (GONÇALVES e PALMEIRA, 2006) (MELZ e GASTARDELO, 2014).

2.2. SUINOCULTURA, MEIO AMBIENTE E TRATAMENTO DE DEJETOS

Mesmo com o crescimento e aumento das exportações, o Brasil ainda enfrenta barreiras que impedem o aceleração do seu crescimento, tais como: problemas sanitários, falta de rastreabilidade do produto desde o seu nascimento até o consumidor, meio ambiente e bem estar animal (COSTA *et al.*, 2005).

No entanto, com o crescimento no setor, gera também dejetos que são poluentes do meio ambiente sendo os mais atingidos a água e o solo. Causados pelo manejo incorreto dos dejetos das granjas, que não ocorre apenas no Brasil, mas em outros países também (SILVA *et al.*, 2010).

A suinocultura gera grande quantidade de contaminantes ambientais, que são matéria orgânica, nutrientes, bactérias fecais, nitratos e bactérias, que em excesso são prejudiciais a saúde humana e animal. (DURIGAN *et al.*, 2009).

Na Tabela 1, observa-se a estimativa de produção de dejetos produzidos por suínos em todas as fases de criação em um ciclo completo.

TABELA 1 - Produção média diária de dejetos nas diferentes fases produtivas dos suínos

CATEGORIA	ESTERCO (KG/DIA)	ESTERCO + URINA (KG/DIA)	DEJETOS LIQUIDOS (LITROS/DIA)
Suínos (25-100 kg)	2,3	4,9	7
Porca gestação	3,6	11	16
Porca lactação + leitões	6,4	18	27
Cachaço	3	6	9
Leitões na creche	0,35	0,95	1,4

Fonte: Genova *et al.*(2015).

Com o aumento da produção de suínos e dejetos, conseqüentemente teve o aumento dos impactos ambientais, como poluição das águas por coliformes fecais, destruição dos recursos renováveis e naturais. Os recursos hídricos são degradados pelo lançamento de dejetos sem tratamento em rios e lavouras, ocasionando a redução do teor de oxigênio, contaminação com substâncias tóxicas como a amônia e nitratos e pela disseminação de patógenos. Dessa forma a atividade suinícola considerada um potencial poluidor devido aos elevados valores dos mesmos (SILVA & BASSI 2012).

Segundo SILVA & BASSI (2012), a região oeste do estado de Santa Catarina, encontra-se com 85,5% dos seus recursos hídricos, tanto subterrâneos quanto superficiais e estão sendo constantemente contaminados, devido ao uso intensivo de agrotóxicos, assoreamento dos rios, poluição urbana industrial, mas o principal poluente provém da suinocultura (FERREIRA, *et. al.*, 2014).

Para minimizar os impactos ambientais da produção suína, os dejetos estão sendo tratados através de esterqueira, lagoas de estabilização, compostagem, e a biodigestão. A finalidade é o reaproveitamento dos dejetos no intuito de diminuir os riscos de poluir o meio ambiente e obter os nutrientes para adubação agrícola. A escolha dos mesmos dependerá da quantidade de dejetos e de nutrientes, da localidade, da tecnologia e de recursos financeiros. As principais técnicas do tratamento são a combinação entre os processos físicos e biológicos. No primeiro, há separação das partes sólidas e líquida. No biológico, há a degradação do dejetos por microrganismos aeróbios e anaeróbios, resultando na produção de fertilizantes. Um aspecto importante neste tratamento é a produção de biogás (DIESEL *et al.*, 2002).

2.3. BIODIGESTOR

A utilização do biogás e a construção dos biodigestores teve início em meados de 1940, no período da Segunda Guerra Mundial, principalmente para aquecer as casas e cozer os alimentos. No Brasil, iniciou em novembro de 1979, na crise do petróleo (SOARES e SILVA, 2010).

O biodigestor é formado por uma câmara completamente fechada onde as bactérias anaeróbicas fermentam a biomassa (combustível do biodigestor), que é formada por água, restos e fezes. A partir desta digestão, há liberação do biogás e do subproduto se produz os biofertilizantes (OLIVEIRA JÚNIOR, 2013).

Os biodigestores são classificados de acordo com o seu funcionamento e características: o Biodigestor anaeróbico tubular e o Biodigestor de batelada ou de fluxo não contínuo. No biodigestor Tubular, o fluxo e alimentação são sempre contínuos, ou seja, sempre que acabar o material, o mesmo é repostado automaticamente, sem necessidade de intervenção humana (FRIGO, *et. al.*, 2015).

O biodigestor de Batelada, sua alimentação não é contínua e é necessário a intervenção humana para o produção de gás, sendo indicado em propriedades que não produz resíduos orgânicos constantemente (FRIGO, *et. al.*, 2015). No Brasil, o tipo de biodigestor mais utilizado é o de operação contínua, se destacando os modelos de fabricação chinesa, indiana e canadense. Sendo a matéria orgânica diluída na proporção de 50% dejetos e 50% água (CASTANHO & ARRUDA, 2008).

2.3.1. MODELOS DOS BIODIGESTORES

O biodigestor indiano é caracterizado por possuir uma câmara submersa, com função de realizar a biodigestão da biomassa, composto por um depósito de gás móvel e uma campânula como gasômetro. A mesma flutua por cima da biomassa em digestão e há uma parede central que divide o tanque de fermentação em duas câmaras. Essa parede, permiti a circulação do material no interior da câmara para otimizar o processo de fermentação (SOUZA, 2010; MACHADO, 2013).

O biodigestor indiano tem seu funcionamento contínuo, ou seja a entrada de dejetos é constante e a medida que o gás produzido não é consumido, o gasômetro desloca-se verticalmente, para manter a pressão no interior (SOUZA, 2010).

Neste modelo, o processo de fermentação é mais rápido, por ele ser subterrâneo e a temperatura elevada no solo ajuda na fermentação das bactérias. É de fácil instalação e não ocupa tanto espaço. No entanto, tem custo elevado de instalação, e sua manutenção é cara. Ocorre frequentemente à deterioração da campânula e a mesma necessita de uma pintura periodicamente (WALKER, 2009; BARREIRA, 2011).

O modelo chinês é constituído por uma câmara cilíndrica em alvenaria onde ocorre fermentação, apresenta um teto impermeável que é destinado ao armazenamento do biogás. Este dispensa o uso de gasômetro, pois sua pressão é controlada a partir de prensa hidráulica, de modo que se aumentar a pressão por

acúmulo de gás o efluente se desloca da câmara de pressão para a caixa de saída, e vice e versa, quando acontece descompressão (SOUZA, 2010).

Este também é um modelo de fluxo contínuo, indicado para pequenas propriedades pois ocupa pouco espaço e é um modelo de peça única. A desvantagem do mesmo é que uma parcela do biogás formado na caixa de saída é liberada na atmosfera, com isso reduz uma parte da pressão interna do gás (WALKER, 2009; FRIGO *et al.* 2015).

O modelo canadense se diferencia, por ser disposto na horizontal, com largura maior que a profundidade, dessa forma a superfície de contato com os raios solares é aumentada. Assim, aumenta a produção de biogás e evita entupimentos (FRIGO, *et. al.*,2015).

Este biodigestor não é de fluxo contínuo, seu abastecimento é feito apenas uma vez, e quando completa o ciclo o ele deve ser reabastecido. É indicado para granjas avícolas onde a disponibilidade de resíduos ocorrem períodos mais longos. A vantagem deste, é que pode ser utilizado tanto em pequenas propriedades quanto em grandes propriedades (OLIVER, 2008; WALKER, 2009).

2.4. BIOGÁS

O biogás é uma fonte de energia podendo ser produzido artificialmente ou com equipamentos, como por exemplo, o biodigestor. É composto principalmente por gás metano (55-65%), o principal gás do aquecimento global. Este é um gás inflamável, incolor e com mau cheiro atribuído ao gás sulfídrico que é um componente de menor porcentagem, além disso, possui na sua composição o dióxido de carbono (33-38%) e vários outros gases. O biogás apresenta um elevado poder calorífico de 5.000 a 7.000 Kcal/m³, por isso é considerado um combustível gasoso, semelhante ao gás natural. É utilizado como energia renovável, e está relacionado com uma emissão muito pequena de gases poluentes, quando comparado aos combustíveis fósseis, como a gasolina (PERMINIO, 2013). Na Tabela 2, segundo Santos (2000), há a comparação entre a produção de biogás com outros combustíveis.

TABELA 2 - Comparação do biogás com outros combustíveis

Equivalência de 1m³ de BIOGÁS PARA DIFERENTES FONTES DE ENERGIA	
Fonte energética	1m ³ de biogás
Gasolina	0,6 litro
Diesel	0,6 litro
Gás de cozinha	0,5 litro
Lenha	1,5 kg
Eletricidade	6,5kw

Fonte: Santos (2000)

Atualmente o biogás é uma das opções para a produção de energia a baixo custo e uma das formas mais viáveis de se substituir o petróleo. Independente dos tipos e dos modelos dos biodigestores, todos possuem os mesmos objetivos, ou seja, um sistema que possa fornecer energia elétrica, calefação aos animais e iluminação à propriedade. Pode também produzir o biofertilizante e vendê-lo à agricultura. Além de contribuir ao meio ambiente, reciclando o biogás e evitando que se despeje nos rios e nascentes os resíduos orgânicos poluentes (CATAPAN *et. al.*, 2011).

2.5. BIOFERTILIZANTE

São adubos orgânicos líquidos que sofreram processo de fermentação anaeróbica e é produzido a partir de qualquer matéria orgânica fresca. Podem ser utilizados na recuperação de solos inférteis e torná-los mais resistente contra a erosão, proporcionando o restabelecimento de suas características físicas e biológicas (WALKER, 2009; PAES, 2015).

FRIGO *et al.*, (2015) afirmam que os componentes do biofertilizantes podem ter seus valores alterados, principalmente devido as fases de criação dos animais. Em matrizes em lactação obtém uma alimentação mais balanceada, possuindo mais carboidratos, proteínas e vitaminas, tornando o biofertilizante mais concentrado.

Tem como vantagem o baixo custo na agricultura, e por não haver problemas com na degradação e na acidez do solo, como ocorre em fertilizantes químicos (BARBOSA, 2011).

2.6. AVALIAÇÃO FÍSICO - QUÍMICA E BIOLÓGICA DO PROCESSO DE BIODIGESTÃO NO TRATAMENTO DE DEJETOS:

2.6.1 DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO (DBO) e DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO (DQO)

Para avaliar a poluição em uma suinocultura, realiza-se a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), ou seja, quanto de oxigênio que o rio ou o córrego deve possuir para que o dejetos não provoque problemas ao ambiente. A suinocultura produz um dejetos bruto em torno de 15.000 mg/L de DBO. Desta maneira, necessita-se aproximadamente de 7.000 litros de água de rio não poluída para descontaminar 1 litro de dejetos de suíno que não foi tratado (GRZYBOWSKI, 2007).

A Demanda Química de Oxigênio (DQO) consiste na quantidade de oxigênio necessário para oxidar a parte orgânica da amostra, que predispõe a oxidação por oxidante químico, no caso o permanganato ou dicromato de potássio em solução ácida (CAMMAROTA, 2011).

A contaminação excessiva pode ser prejudicial ao solo e água da propriedade e de seus vizinhos, podendo também causar problemas de saúde, com tudo isso, foram criadas regras para o bom manejo dos dejetos gerados, sendo necessário para o produtor, ter em mãos o licenciamento ambiental, para implantação de um biodigestor, que é emitido pelo órgão público competente (PALHARES, 2008).

3. RELATO DE CASO

O biodigestor está localizado em uma granja de suínos localizado na Zona da Mata Mineira, situada a 216 km da capital Belo Horizonte - MG. A propriedade possui um território equivalente a 76 equitares, destes, 2 equitares são ocupados para o tratamento de dejetos, com lagoas e o biodigestor.

O sistema de criação da granja é do tipo ciclo completo (CC), divididos em todas as fases de criação, desde a gestação, maternidade, creche, crescimento, até a terminação. A granja possui aproximadamente 1000 matrizes, todas alimentadas com ração balanceada composta basicamente por milho e farelo de soja. A ração é feita na própria granja. A produção de dejetos por matriz/dia é de 160 L, valor medido pelo produtor, com um total de 160 mil litros de dejetos gerados diariamente

e que é utilizado no biodigestor. Os dejetos são encaminhados através de tubulações até a usina de beneficiamento na forma líquida para a realização do processo de anaerobiose.

O biodigestor é do modelo Indiano de oito anos de uso, e é composto por três células cobertas com lona de gel de membrana (lona preta). A lona interna possui 1 mm de espessura, e a lona externa, 0,8 mm. As células possuem 4 m de profundidade no início e 5 m de profundidade no final. As três estão interligadas, isto permite o melhor controle dos resíduos, impedindo o desnível de cada célula e também, facilita a limpeza (por gravidade) das mesmas após o uso.

A capacidade de armazenamento de cada célula é de 2200 m³ de dejetos, totalizando as três células com 6600 m³ de dejetos. Há uma saída de gás constante, o período de retenção hidráulico adotado é de trinta dias. Há seis lagoas de retenção de dejetos provenientes do biodigestor, a primeira é facultativa e fica do lado das células, é de movimentação diária e nas outras cinco, o período de retenção é de sessenta dias. O tempo total de tratamento dos dejetos é de noventa dias, desde a entrada no biodigestor até a passagem por todas as lagoas.

As lagoas estão localizadas no ponto mais alto da propriedade como uma forma de utilizar a gravidade para facilitar a distribuição do biofertilizante. Após o tratamento, os resíduos já saem prontos como biofertilizantes para serem utilizados em pastagens, cana-de-açúcar e capineira, sem necessidade de aditivos.

Para medir o grau de poluição das águas das lagoas no tratamento de dejetos do biodigestor foram realizadas duas análises físico-química e biológica: DQO e DBO, respectivamente, de afluentes e efluentes oriundos do biodigestor anaeróbio. Foram analisadas também pH, avaliação dos nutrientes como o fósforo, potássio e nitrato. Todas as análises foram encaminhadas para o laboratório localizado em Ponte Nova - MG, ETA/ETE – (MICRA - Saneamento e Meio Ambiente). As amostras foram retiradas para todas as análises em 4 pontos do sistema de biodigestão, no ponto 1 - entrada dos resíduos do biodigestor, ponto 2 - no montante do lançamento, ponto 3 - na jusante do lançamento e no ponto 4 - no volume anterior ao lançamento no córrego.

Na granja ocorre uma simulação da quantidade de dejetos que a mesma está autorizada a produzir, levando em consideração o plantel autorizado que é de 1.050 matrizes, podendo totalizar em suas diferentes fases de criação 12.580 animais.

Sendo assim, em uma célula com capacidade para 2.200 m³, cada animal da granja, contribuirá em média com 0,018 m³ de dejetos/dia, valor obtido através da divisão da capacidade de cada célula pelo número total de animais.

A granja possui o licenciamento ambiental para suas operações e tem fiscalização constante pelo órgão responsável que faz a análise do solo irrigado com biofertilizantes e qualidade do efluente antes do seu lançamento no córrego, realizado de 6 em 6 meses.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Segundo GASPAR (2003), o modelo indiano oferece algumas vantagens em relação ao modelo chinês. O indiano pode ser adaptado ao clima local e ao tipo de solo do terreno, não obtendo a necessidade de se estabelecer medidas fixas para o diâmetro e a profundidade. Necessita-se apenas da relação da capacidade do tanque do digestor e da campânula. O modelo indiano do presente trabalho tem o custo de implantação e manutenção mais elevado, enquanto o chinês tem o menor custo. Porém, apresenta algumas desvantagens, o sistema de comunicação entre a caixa de carga e o digestor é feita de tubulações, com isto está sujeito a entupimentos; tem limitação ao tipo de solo, a construção em solos superficiais não é indicada e este biodigestor não há acúmulo de gás, devido a sua construção de cúpula fixa (a área de reserva de gás é menor). Desta forma, esse modelo é mais indicado na produção de biofertilizante.

O biodigestor do modelo canadense é horizontal e não subterrâneo, com isto há maior exposição do sol, o que aumenta a produção do biogás (CASTANHO & ARRUDA, 2008). Sendo assim, em regiões de baixas temperaturas, este modelo não é indicado, pois reduz sua capacidade de fermentação e, conseqüentemente a geração de biogás. Diante deste fato, pode-se supor que este modelo de biodigestor não atingiria sua capacidade máxima de produção de biogás na Zona da Mata Mineira. Apesar de estar localizada em uma região de clima tropical, em algumas regiões, há temperaturas baixas ao longo do ano. Devido a este fato, houve a predominância da escolha deste biodigestor de modelo indiano pelo proprietário. Neste, há a recomendação de implantação na parte subterrânea do solo, o que impede grandes variações de temperatura e pela temperatura do ambiente, não

interferir diretamente na biodigestão. Além, de o modelo indiano não exigirem maior espaço na propriedade para sua implantação, como é necessário no canadense (MACHADO, 2013). Na granja analisada, apesar de ter espaço para a implantação de um biodigestor de modelo canadense, esta escolha não foi recomendada, pois seu fluxo de produção de dejetos é contínuo e precisaria de outros biodigestores do mesmo modelo para ter capacidade de suprir as necessidades de biodigestão na granja. E com relação aos valores econômicos, esta escolha também não é viável, pois ao ser de abastecimento descontínuo, é necessária a especialização da mão de obra dos funcionários para a realização destes serviços e o indiano não necessita de mão de obra.

Sabe-se que a biomassa é uma das fontes de energia com maior potencial de crescimento, sendo uma alternativa para a geração de energia reduzindo a dependência de combustíveis fósseis, gerando biodiesel e etanol e reduzindo o consumo de diesel e gasolina (WALKER, 2009). Além disso, a biomassa é produzida com alta frequência, necessitando um destino adequado da mesma, para que não cause danos ambientais. Qualquer resto animal ou vegetal serve como biomassa, sendo as mais indicadas os dejetos de animais, pois já saem de seus intestinos carregados por bactérias anaeróbicas, em especial dejetos de frango e suínos que tem alta carga de microorganismos (FRIGO, *et.al.*, 2015). Neste trabalho, observou-se uma alta produção de biomassa provenientes dos dejetos. Ao serem transformados por biodigestão, eles são utilizados para a produção do biogás e de biofertilizantes. No entanto, a granja não explora todo o seu potencial em relação a produção e o uso de biofertilizantes e biogás. Na granja, o biogás é utilizado apenas para geração de energia elétrica e o biofertilizante na agricultura. O excedente de biogás é queimado pelo Flare (queimador), sendo apenas 60% é aproveitado, e 40% é queimado. E o biofertilizante excedente, depois de tratado, é eliminado no curso d'água. Uma solução ideal para estes excedentes, seria a venda deles para os vizinhos, empresas de energia, estocadas em geradores ou carvão ativado.

De acordo com ARAUJO *et al.* (2012), para as amostras coletadas em diferentes pontos no tratamento de dejetos de suínos utilizando biodigestores, os valores de DQO e DBO obtidos, sofreram uma variação, devido a quantidade de água utilizada na granja e o acúmulo de matéria orgânica, pois estes afetaram diretamente as diluições daqueles valores. Observou-se uma redução na

concentração de matéria orgânica de 40 a 50%, estudando os diferentes métodos de tratamento, como no biodigestor e em lagoas aeróbias. Houve uma redução de 50% de DBO e 80% para o DQO no biodigestor. Na lagoa aerada apresentou-se uma redução insatisfatória se comparada ao sistema anaeróbio de tratamento de dejetos suínos. Ao se analisar os dados de ARAUJO *et al.* (2012) com o presente estudo, na presente granja, obteve-se o resultado de eficiência de 87% para DBO, e 91% para DQO, como demonstra a Tabela 3. Evidenciando-se melhor eficiência de tratamento tanto de DBO, quanto de DQO ao artigo de ARAUJO *et al.* (2012).

TABELA 3 - Análise média dos resíduos nas diferentes etapas de beneficiamento nas datas de 01/06/2016 e 29/12/2016.

	Ent.Biodigestor	Montante	Jusante	Antes do Lanç.no Córrego	Eficiência (%)
DBO Mg/L O ₂	9.810,98	2,73	2,88	681,07	87
DQO Mg/L O ₂	30.100	3	5	2.014	91
Fósforo total (mg/L)	2.045	-	-	264	88
Potássio (mg/L)	70	-	-	36	
Nitrato (mg/L)	1.195	-	-	282	-
pH	7.4	-	-	8.28	-

Fonte: Dados da pesquisa

Segundo PEREIRA *et al.* (2012), os resíduos gerados na atividade suínica, necessitam de tratamento, pois os mesmos geram grandes impactos ambientais. Com isto, os resíduos dos dejetos podem ser viáveis para o ambiente e para o custo da granja, pois os subprodutos da biodigestão (biogás e biofertilizantes) podem ser consumidos na propriedade ou vendidos. Porém, na granja estudada, o proprietário relata que o ganho em relação ao biodigestor na granja é mais ecológico do que econômico, o que significa que ele não vende o excedente dos subprodutos, mas produz energia limpa, reduz a poluição do solo, da água e do ar.

O DBO da amostra do afluente era de uma concentração média de 9.810,98 mg/L O₂ e se reduziu para 681,07 mg/L O₂ na amostra coletada antes do lançamento do córrego, obtendo uma eficiência de 87%, sendo a eficiência mínima exigida de 75% (Segundo dados do laboratório Micra e Ambiente). E a análise de DQO na amostra do afluente foi de concentração média de 30.100 mg/L O₂ e se reduziu para 2.014 mg/L O₂ na amostra coletada antes do lançamento no córrego, obtendo uma

eficiência de 91%, sendo a eficiência mínima exigida de 70% (Segundo dados do laboratório Micra e Ambiente). A concentração de fósforo total no afluente foi de 2.045 mg/L e a concentração da amostra antes do lançamento no córrego foi 264 mg/L. A concentração de potássio na amostra coletada do afluente foi de 70 mg/L e a concentração da amostra coletada antes do lançamento no córrego foi de 36 mg/L.

Estes valores das análises de DBO e DQO podem ser comparados com os resultados obtidos por ANGONESE *et al.* (2006), que demonstraram que o valor de DBO do afluente apresentava concentração média de 49.953 mg/L e no efluente, uma concentração de 11.240 mg/L, mostrando uma redução de 77%. No valor de DQO, o afluente obtinha uma concentração média de 18.717 mg/L e no efluente, a concentração foi de 4.462 mg/L, mostrando uma redução de 76%.

Para Fernandes *et al.* (2014), o valor da análise de DBO no afluente foi de 7.122,68 mg/L, enquanto o valor do efluente foi de 3.367,82 mg/L, apresentando uma eficiência de 53%. O valor da análise de DQO no afluente foi de 11.578,72 mg/L e do efluente foi de 3.530,54 mg/L, apresentando uma eficiência de 70%. Desta forma, confirma-se a efetividade no tratamento do dejetos do presente estudo, demonstrando uma eficiência de 87% para DBO e 91% para DQO. Os resultados obtidos no presente estudo mostraram-se melhores que os de ANGONESE *et al.* (2006). Um dos motivos pode ser a temperatura ambiental em que estes estudos foram realizados. No presente estudo foi realizado no estado de Minas Gerais e ANGONESE *et al.* no estado do Paraná, o que pode afetar o grau de fermentação da biomassa (melhor em temperatura mais alta). O que pode alterar também o grau de fermentação é a quantidade de suínos utilizados no estudo, pois no trabalho de ANGONESE *et al.* (2006) utilizaram 600 animais e no presente trabalho, 12.580 animais.

O valor da concentração do fósforo total na amostra coletada no afluente foi de 2045 mg/L e no efluente 264 mg/L. O valor da concentração de potássio na amostra também coletada no afluente foi de 70 mg/L e no efluente 36 mg/L. Segundo SCAPINELLO *et al.* (2010), o fósforo está presente nos efluentes sob a forma de ortofosfato, polifosfato e fósforo orgânico. A eficiência de degradação de fósforo no presente estudo foi reduzida. De acordo com SOUZA (1984), este fato pode ter ocorrido devido a alta concentração de nitrogênio, pois o mesmo é responsável pela inibição no processo de biodigestão. E de acordo com

SCAPINELLO *et al.* (2010), em águas residuais, o nitrogênio pode ser encontrado nas formas de nitrogênio orgânico, nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato. Com isto, uma parte do nitrogênio total se transforma em nitrogênio amoniacal que este apresenta elevada toxicidade. Desta forma, esta toxicidade inibe o crescimento de bactérias que degradam o fósforo, afetando a sua eliminação no tratamento. Referente aos valores de fósforo e potássio, DAMACENO (2015), confirma também a baixa concentração de fósforo e de potássio com os valores médios para os mesmode 578 mg/L e 536 mg/L, respectivamente. E segundo PRATI (2010), a solução de hidróxido de potássio, encontrada nos dejetos, entra em contato com o gás carbônico e forma o bicarbonato de potássio, um produto irreversível, diante desse fato pode-se supor a diminuição da concentração do potássio.

De acordo com SOUZA (1984), mesmo controlando todos os fatores que influenciam a biodigestão anaeróbica, o processo não ocorre satisfatoriamente devido as falhas operacionais. Corroborando com o que o autor disse, para concentrações de NH_3^+ superiores a 150 mg/L, a digestão anaeróbica é inibida. Na reação do excesso de NH_3^+ torna a reação deslocada pra esquerda, o que aumenta o pH, com a redução de H^+ como observado no presente estudo, pois o pH foi de 7,4 para 8,28. E confirmando o que foi dito por SOUZA(1984), houve o aumento do pH devido as reações produzirem substâncias tóxicas. DAMACENO (2015) relatou o pH médio de 7,75.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aproveitamento da biomassa através do tratamento por um biodigestor apresentou uma eficiência relevante para a depuração de efluentes de uma granja de suínos, quando tratada de forma correta, reduzindo os impactos ambientais causados por essa atividade, e agregando valores aos seus subprodutos gerados como o biogás e os biofertilizantes, que podem ser utilizados na granja e adjacências. Porém, as concentrações desses nutrientes estudados no presente trabalho não apresentaram condições satisfatórias para o lançamento direto ao corpo receptor, necessitando de um tratamento para a eliminação.

Diante desse trabalho concluímos que o uso do biodigestor de modelo indiano é viável para o tratamento de dejetos em uma granja de suínos, biologicamente e físico-química.

5. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, G. V. B. P. **Biodigestão Anaeróbica na Suinocultura**. São Paulo, 2008. 54 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas - FMU.

AMARAL, A. R.; MOTA, F.S. **Abordagem sistêmica sobre os créditos de carbono e a venda no mercado nacional e internacional**. Termo de conclusão de curso. Medianeira – PR. 2014

ANGONESE, A. R.; CAMPOS, A. T.; PALACIO, S. M.; SZYMANSKI, N. **Avaliação da eficiência de um biodigestor tubular na redução da carga orgânica e produção de biogás a partir de dejetos de suínos**. Disponível em: <http://www.proceedings.scielo.br/scielo.php?pid=MSC0000000022006000100022&sc>. Acesso em: 20, maio. 2017.

ARAUJO, I. J.; OLIVEIRA, J. L. R.; ALVES, R. G. C. M.; FILHO, P. B.; COSTA, R. H. R. da. **Avaliação de sistema de tratamento de dejetos suínos instalado no Estado de Santa Catarina**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental v.16, n.7, p.745–753, 2012 Campina Grande, PB, 2012.

BARBOSA, G. LANGER, M. **Uso de biodigestores em propriedades rurais: uma alternativa a sustentabilidade ambiental**. Unoesc & Ciência – ACSA, Joaçaba, v. 2, n. 1, p. 87-96, jan./jun. 2011.

BARREIRA, Paulo. Biodigestores: energia, fertilidade e saneamento para zona rural. São Paulo: Ícone, 2011.

BONTURI, G. de L.; VAN DIJK, M. **Instalação de biodigestores em pequenas propriedades rurais: análise de vantagens socioambientais**. Revista Ciências do Ambiente On-Line, v.8, n.2, p.88-95, 2012.

BORGES, M. V. F. **Aspectos teóricos na produção de biogás e biofertilizante pelo mecanismo de biodigestão e geração de energia elétrica limpa através de um gerador específico**. Maranhão, 2012.

BRUNO, R.; EDUARDO, F.; EVANDRO, B.; FÁBIO, A.; MICHAEL, P. ALEXANDRE D. J. **Biogás – uma energia limpa**. Revista Eletrônica Novo Enfoque, ano 2011, v. 13, n. 13, p. 142 – 149.

CNA – CONFEDERAÇÃO DE AGRICULTURA E PECUÁRIA NO BRASIL. **Boletim Ativos da Suinocultura**. Ano 1 - Edição 1 - Maio de 2015. CNA Brasil.

CAMMAROTA, M. C.; **Tratamento de efluentes líquidos**. Escola de Química / UFRJ EQB-365 Biotecnologia Ambiental Notas de Aula – Profa. Magali Christe Cammarota.

CASTANHO, D. S.; ARRUDA, H. J. **Biodigestores**. VI Semana de Tecnologia em Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR Campus Ponta Grossa - Paraná - Brasil ISSN: 1981-366X / v. 02 n. 21, 2008.

CATAPAN, A.; CATAPAN, D. C.; CATAPAN, E. A. **Formas alternativas de geração de energia elétrica a partir do biogás: uma abordagem do custo de geração da energia**. Custos e @gronegocio on line - v. 7, n. 1 - Jan/Abr - 2011. ISSN 1808-2882 www.custos.eagronegocioonline.com.br.

CIRINO, J. F.; FARIA, L. V. P. **Biodigestores para geração de energia elétrica a partir da suinocultura: análise de viabilidade para um sítio em Coimbra - MG**. Revista de Ciência Humanas, Viçosa, v. 13, n. 2, p. 421-440, 2013.

COSTA, O. A. D.; LUDKE, V. J.; COSTA, M. J. R. P. **Aspectos econômicos e de bem estar animal no manejo dos suínos da granja até o abate**. IV Seminário Internacional de Aves e Suínos – Avesui 2005 Suinocultura: Nutrição e Manejo 11,12 e 13 de maio de 2005 – Florianópolis - SC.

COUTINHO, G. S.; ROLL, V. F. B.; PINO, F. A. B. D. Tecnologias para o armazenamento e tratamento de dejetos de suínos. **Simpósio de Sustentabilidade e Ciência Animal**, III. 2013.

DIESEL, R.; MIRANDA, C. R.; PERDOMO, C. C. Coletânea de tecnologias sobre dejetos suínos. **Porto Alegre: Embrapa Suínos e Aves**, 2002.

DURIGAN, M.R.; FRANCO, R.A.M.; ROSATO, M.M.;HERNANDEZ, F.B.T.; **Potencial contaminação de dejetos de suínos no cinturão verde do município de Ilha Solteira**. In: 5º ENCIVI – Encontro de Ciências da Vida, 2009, Ilha Solteira. Anais... Ilha Solteira: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2009. V. único.

FRIGO, K. D. A.; FEIDEN, A.; GALANT, N. B.;SANTOS, R. F.;MARI, A. G.;FRIGO, E. P. **Biodigestores: seus modelos e aplicações**. Acta Iguazu, Cascavel, v.4, n.1, p. 57-65, 2015.

GASPAR, R. M. B. L. **Utilização de biodigestores em pequenas e médias propriedades rurais com ênfase na agregação de valor: um estudo de caso na região de Toledo – PR**. Dissertação. Florianópolis – SC. 2003.

GENOVA, J. L.; PUCCI, L. E; SARUBBI, J; **REVISTA ELETRÔNICA NUTRITIME – ISSN 1983-9006** www.nutritime.com.br Artigo 290 Volume 12 - Número 01– p. 3891–3902- Janeiro/Fevereiro 2015 **ESTRATÉGIAS PARA DIMINUIR O IMPACTO AMBIENTAL DA SUINOCULTURA**.

GONÇALVES, R. G.; PALMEIRA, E. M.: **"Suinocultura Brasileira" en Observatorio de la Economía Latinoamericana**, Número 71, 2006. Texto completo en <http://www.eumed.net/cursecon/ecolat/br>.

GRZYBOWSKI, Nelson. Mecanismos de Desenvolvimento Limpos. 2007. Orbe
Brasília. Disponível em:
<[http://www.portaldoagrovit.com.br/agro/suinocultura/mecanismo_
de_desenvolvimento_limpo.pdf](http://www.portaldoagrovit.com.br/agro/suinocultura/mecanismo_de_desenvolvimento_limpo.pdf)> Acesso: 25/06/2017.

FERREIRA, A. H.; DALLANORA, B. C. D.; MACHADO, G.; MACHADO, I. P.; ROHR,
R. P. S. **Produção de suínos: Teoria e Prática. Associação Brasileira dos
Criadores de Suínos (ABCS)**. Brasília, 2014, 1ª Edição, p. 821

HALLEY JÚNIOR, A. O. **O sequestro de carbono para o combate ao efeito
estufa**. Trabalho final do curso de pós-graduação em Gestão Ambiental. Uberaba,
2003.
<http://www.proceedings.scielo.br/scielo.php?pid=MSC0000000022006000100022&sc>
.Acessoem: 20, maio. 2017.

KONZEN, E. A. **Viabilidade Ambiental e Econômica de Dejetos de Suínos**.
EMBRAPA. Dezembro 2006.

KUNZ, A.; HIGARASHI, M. M.; OLIVEIRA, P. A.; VICENTE, S. **Tecnologias de
manejo e tratamento de dejetos de suínos estudadas no Brasil**. Cadernos de
Ciência & Tecnologia, Brasília, 2005, v. 22, n. 3, p. 651-665, set./dez.

KUNZ, A.; HIGARASHI, M. M.; OLIVEIRA, P. A. VICENTE, S.; **Recomendações
para uso de Esterqueiras para Armazenagem de Dejetos de Suínos**. Concórdia –
SC. MAPA - ISSN 0100-8862 Maio/2004, 4p. (MAPA-ISSN 0100-8862, Comunicado
técnico, 361).

LEITE, M.A. **Potencial de contaminação de dejetos de suínos no cinturão verde
do município de ilha solteira-SP**. Ilha Solteira, [s.d].

LEITE, R. A; SILVA, L.V; CRUVINEL, D. A.; SILVA, D. G. **Avaliação do Biodigestor
de Fluxo Tubular Contínuo Modelo Vinebiodigestor, Através de Análises
Químicas Durante o Tratamento de Dejetos de Suínos**. Artigo oficial Unopar.
Londrina – 2011.

LUCAS JÚNIOR, J. **Algumas considerações sobre o uso do estrume de suínos
como substratos para três sistemas de biodigestores anaeróbicos**. 1994.
137 f. Tese (Livre–Docência) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias,
Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1994.

MACHADO, G. B. **Portal do biogás**. 2013 Disponível em
<<http://www.portaldobiogás.com/2016>. Acesso em jun. 2017>

MACHADO, G. B. **Portal Resíduos Sólidos**. 2013 Disponível em
<<http://www.portalresiduossolidos.com/biodigestor-indiano>. Acesso em jun. 2017>

MELZ, L. J.; GASTARDELO, T. A. R. **A suinocultura industrial no mundo e no
Brasil**. Mato Grosso, 2014. Trabalho de conclusão de curso. Universidade do estado
do Mato Grosso – UNEMAT.

SEBRAE Minha Empresa Sustentável: Suinocultura. **Centro SEBRAE de Sustentabilidade – Cuiabá: 2016. 32 p. il.**

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Suinocultura de baixa emissão de carbono: tecnologias de produção mais limpa e aproveitamento econômico dos resíduos da produção de suínos / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Mobilidade Social, do Produtor Rural e do Cooperativismo.** – Brasília : MAPA, 2016. 44 p

MOTA, E. V. **O biodigestor no tratamento de dejetos suínos como mecanismo de controle ambiental.** Rio Verde, Goiás, 2013. 35 f. Faculdade de Ciências Contábeis da Uni-RV – Universidade de Rio Verde.

MICRA - SANEAMENTO E MEIO AMBIENTE - ETA/ETE - Projetos, implantação, operação. Gerenciamento de projetos PMI. Laboratório - Perícias ambientais - Licenciamento ambiental - Limnologia. Gerenciamento e remediação de áreas contaminadas - Ponte Nova - MG. 2016.

OLIVER, A. P. M. **Manual de treinamento em biodigestão.** Instituto de estudos Del Hambre, 2008. Disponível em: <http://www.ieham.org/html/docs/manual_biodigestao.pdf> Acesso: jun. 2017

OLIVEIRA JÚNIOR, F. A. **ENSINO NÃO FORMAL DA DIMINUIÇÃO DA CARGA POLUIDORA DE DEJETOS ANIMAIS A PARTIR DA PRODUÇÃO DE BIOGÁS E BIOFERTILIZANTE EM PEQUENAS PROPRIEDADES RURAIS.** Pós-graduação. Belo Horizonte – 2013.

OLIVEIRA, P. A. V. de; HIGARASHI, M. M. **Geração e utilização de biogás em unidades de produção de suínos.** Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2006.

PAES, L. S. O. P.; **Biofertilizantes e defensivos naturais na agricultura orgânica.** Cartilha. ADEMADAN – RAPPS. Governo Federal. Antonina – 2015.

Palhares, J. C. P. **Licenciamento ambiental na suinocultura: os casos brasileiro e mundial / Julio Cesar Pascale Palhares.** Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2008. 52p.; 21cm. – (Documentos/Embrapa Suínos e Aves, ISSN 0101-6245; 123).

PEREIRA, L.; RIBEIRO, W. R.; PEREIRA, A. A.; LIMA, R. E. V. **A construção e o papel ambiental de um biodigestor.** Revisão de literatura. Anápolis – 2012.

PERMINIO, G. B.; **Viabilidade do uso de biodigestor como tratamento de efluentes domésticos descentralizado.** Tese, Lavras - 2013

REBONATO, F. R; **Diferentes tecnologias para armazenamento e tratamento de dejetos animais.** III Simpósio Nacional de Ensino de Ciência e Tecnologia. Ponta Grossa – PR – 2012.

RIBEIRO, S. M. S; HIGARASHI, M. M.; FALKOSKI, C.; SARDÁ, L. G.; NICOLOSO, R. S.; GRAVE, R. A. **Emissão de gases de efeito estufa – Biodigestor x Esterqueiras.** Concórdia – SC. 2014

SANTOS, P. **Guia técnico de biogás**. CCE- Centro para a Conservação de Energia. Guia Técnico de Biogás. AGEEN – Agência para a Energia, Amadora, Portugal, 2000. 117 p.

SILVA, R. A. ; VIEIRA, E. ; SANTANA, H. ; CASTRO, M. F. MIRANDA, J. H. R. **Impactos ambientais causados pela criação de suínos**. Anais II SIMPAC - Volume 2 - n.1 - Viçosa-MG - jan. - dez. - 2010 - p. 403-408.

SILVA, C. L.; BASSI, N. S. S. **Análise dos impactos ambientais no Oeste Catarinense e das tecnologias desenvolvidas pela Embrapa Suínos e Aves**. VI Encontro Nacional da ANPPAS 18 a 21 de setembro de 2012 Belém- Pará – Brasil

SOARES, R. C.; DA SILVA, S. R. C. M. **Evolução histórica do uso de biogás como combustível**. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso – IFT: Cuiabá, 2010.

SOUZA, M. E. de. Fatores que influenciam a digestão anaeróbia. **Revista Dae, São Paulo**, v. 44, n. 137, p.88-94, jun. 1984.

SOUZA, K. C. G. **Modelo de simulação para análise da viabilidade de geração de energia a partir da utilização de biodigestores**. Dissertação. Campo Grande – 2010.

WALKER, E. **Estudo da viabilidade econômica na utilização de biomassa como fonte de energia renovável na produção de biogás em propriedades rurais**. Dissertação. Ijuí – RS. 2009.

AVALIAÇÃO ANDROLÓGICA EM TOUROS HOLANDESES

Acadêmicas: Letícia Batista Ramos e Marina de Castro Xavier

Orientadora: Vívian Rachel de Araújo Mendes

RESUMO

O exame andrológico envolve a avaliação de todos os fatores que contribuem para a função reprodutiva do touro, incluindo o exame clínico geral, exame dos órgãos genitais internos e externos, medição da circunferência escrotal, avaliação dos aspectos físicos e morfológicos do sêmen e avaliação do comportamento sexual. O objetivo deste trabalho foi realizar a avaliação andrológica de reprodutores da raça Holandesa dando ênfase a ocorrência de patologias espermáticas. Sendo assim, foi realizada a avaliação andrológica em 15 reprodutores bovinos da raça Holandesa pertencentes a Embrapa Gado de Leite em Coronel Pacheco - MG no período de novembro a dezembro de 2016. Quatro deles foram desclassificados por patologias espermáticas, e um ultrapassou o limite máximo de defeitos totais, ultrapassando também os 5% de defeitos individuais maiores, que somadas a outras patologias presentes atingiram mais de 10% do total de defeitos maiores. Outros dois também ultrapassaram o limite total de defeitos maiores, onde estavam presentes acima de 5% as patologias de contorno anormal em um deles e gota citoplasmática proximal nos dois. O quarto touro desclassificado apresentou apenas patologia de cauda dobrada com gota acima do limite de 5%. Nenhum dos touros atingiu o total de defeitos menores e defeitos individuais menores.

PALAVRAS-CHAVE: Exame andrológico; patologia espermática; reprodução.

1. INTRODUÇÃO

O exame andrológico envolve a avaliação de todos os fatores que contribuem para a função reprodutiva do touro, incluindo o exame clínico geral, exame dos órgãos genitais internos e externos, medição da circunferência escrotal (CE), avaliação dos aspectos físicos e morfológicos do sêmen e avaliação do comportamento sexual (MENEGASSI *et al.*, 2012). Apesar do evidente benefício do exame andrológico, muitos criadores têm pouca ou nenhuma informação sobre a fertilidade de seus touros, uma vez que, criam de forma conjunta, dificultando a identificação daqueles inférteis ou subférteis (CARRER FILHO *et al.*, 2015).

Entre as características de fertilidade, a CE tem sido utilizada em razão de sua herdabilidade ser de magnitude média a alta. Os testículos mais longos apresentam maior superfície de contato com o ambiente, o que facilita a termorregulação, além da distribuição dos vasos sanguíneos e do tecido espermático ser mais uniforme. Quanto maior for o comprimento maior a sua

produção espermática (BERTOL *et al.*, 2015). Viu *et al.* (2006) relatam que, além da CE, o volume, peso e formato testicular podem ser parâmetros úteis para a seleção de reprodutores. Somente a CE não constitui medida representativa da produção espermática e, portanto, do potencial reprodutivo dos machos (UNANIAN *et al.*, 2000).

Ao realizar o exame andrológico podemos detectar as anormalidades em um ou mais dos órgãos genitais, alterações inflamatórias, problemas físicos ou a baixa qualidade espermática, distúrbios na libido e na habilidade de cópula. Quaisquer destas alterações levam à diminuição ou incapacidade reprodutiva, caracterizando quadros de subfertilidade e, até mesmo, esterilidade (CBRA, 2013).

Este trabalho tem como objetivo realizar a avaliação andrológica de reprodutores da raça Holandesa dando ênfase a ocorrência de patologias espermáticas.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Órgãos genitais do macho

As principais funções dos órgãos genitais do macho englobam a formação do esperma e sua deposição na fêmea. A produção de espermatozoides ocorre nos túbulos seminíferos, sendo conduzidos dos testículos até o epidídimo, onde são armazenados tornando-se maduros. A ereção do pênis propicia a introdução dos espermatozoides no trato genital da fêmea, alcançando assim o fundo da vagina, precedida da condução dos espermatozoides através da uretra peniana, juntamente com as secreções das glândulas genitais acessórias. A ejaculação se dá pelo transporte de sêmen da uretra peniana até a região da cérvix ou para dentro do útero (REECE, 2008; MACHADO, 2017). Segundo Barbosa *et al.* (2005) a palpação retal, inspeção do animal e a ultrassonografia são de extrema importância na avaliação dos órgãos genitais.

2.1.2. Escroto

Sua forma ovoide é composta de uma bolsa membranosa, dividindo-se por um septo mediano, resultando duas cavidades ocupadas pelos testículos, epidídimo e funículo espermático, estando coberta por uma pele delgada e pigmentada. Ao exame físico, o touro deve estar contido no tronco e o escroto examinado quanto à

sua sensibilidade, mobilidade, temperatura, aderências e possíveis lesões na pele (BARBOSA *et al.*, 2005; GETTY, 2008; MACHADO, 2017).

2.1.3. Testículos

Circundado por uma cápsula própria de tecido conjuntivo denso, denominada túnica albugínea testicular, os testículos são fixados na parede do processo vaginal ao longo da linha de fixação do epidídimo. De forma oval e alongada, localizam-se no interior do escroto, e em sua estrutura apresentam túbulos seminíferos, onde há a produção dos espermatozóides. Os testículos agem na formação de hormônios masculinos, maturação e produção dos espermatozóides. Subsequentemente a isso, os espermatozóides sofrem sua maturação em um ducto situado ao longo de cada um dos testículos, o epidídimo (HAFEZ e HAFEZ, 2004; MACHADO, 2017). Segundo Unanian *et al.* (2000) testículos longos apresentando um maior contato com o meio externo facilitam a sua termorregulação, e a distribuição de vasos sanguíneos e tecido glandular favorecem a quantidade e qualidade seminal.

2.1.4. Epidídimos

O epidídimo é um túbulo coletor e de armazenamento dos espermatozóides. Inicia-se na extremidade captada dos testículos, onde estão situados os vasos sanguíneos e nervos, conhecida como cabeça do epidídimo. A cabeça do epidídimo é responsável por receber os espermatozóides e o líquido adluminal através dos ductos eferentes, vindos da *rete testis*. Continua ao longo do testículo, o corpo do epidídimo e termina como cauda do epidídimo. O armazenamento no epidídimo concede aos espermatozóides motilidade e mobilidade (MACHADO, 2017; REECE, 2008).

2.1.5. Pênis

É o órgão de cópula do macho, por onde passam a urina e os espermatozóides, via uretra peniana. Sua forma é cilíndrica e, em parte localiza-se cranial ao escroto e seu corpo apresenta formato de um “S” denominado flexura sigmoide. A glândula encontra-se na parte livre do pênis internamente ao prepúcio, sendo composta pelo corpo esponjoso da glândula, tecido erétil que a envolve

completamente. (BARBOSA *et al.*, 2005; GONSALVES e FIGUEIREDO, 2003; MACHADO, 2017; REECE, 2008).

2.1.6. Prepúcio

Longo e estreito o prepúcio forma uma bainha ao redor da parte livre do pênis não ereto. Sua lâmina externa é composta pelo tegumento comum, e a lâmina interna é fina, de cor avermelhada e livre de glândulas. Tendo como função cobrir e proteger o pênis (GETTY, 2008; MACHADO, 2017).

2.2. Coleta do sêmen

A grande maioria dos touros que cedem seu sêmen são selecionados pelo *pedigree* (**certificado de registro de animais de raça pura**), pelas características de conformação, desempenho ponderal individual e pelo resultado dos exames andrológicos (SILVA, 2009). As Centrais de Processamento de Sêmen e Inseminação Artificial realizam o processamento do sêmen que é comercializado no Brasil, elaborando assim as etapas de coleta, avaliação, congelamento, armazenamento e comercialização do sêmen congelado. Para que a coleta de sêmen seja feita podem ser empregados diferentes tipos de métodos, entre os quais são eletroejaculação (EEJ), vagina artificial (VA) e a massagem transretal das glândulas genitais acessórias (MARQUES FILHO, 2009).

2.2.1. Vagina artificial

A coleta pelo emprego da VA apresenta níveis fisiológicos da vagina, se igualando assim à condição de monta natural. Este método é o mais indicado para a prevenção de alterações comportamentais e fisiológicas nos animais (MARQUES FILHO, 2008). Resumidamente, é composto de: 1) um tubo externo rígido ou semi-rígido (metal ou borracha) com 45 cm de comprimento, e 6 cm de diâmetro, possuindo uma válvula; 2) um tubo de borracha fina e elástica, que é colocado no interior do primeiro tubo; 3) um funil de borracha, cujo diâmetro maior é adaptado a uma das extremidades da VA reservando-se o diâmetro menor do funil para a colocação de um tubo ou frasco coletor, de vidro neutro (ROCHA, 1945).

Entretanto, na maioria das vezes, o comportamento agressivo dos touros das raças zebuínas e cruzadas com zebuínas, dificulta a sua utilização de maneira

satisfatória. Portanto, adotou-se o uso do eletroejaculador. Embora, tendo em vista algumas diferenças entre eles como: facilidades de manuseio, segurança e a rapidez na obtenção dos resultados, e principalmente o volume do ejaculado e sua concentração que são indispensáveis para a realização de um excelente exame (AMARAL *et al.*, 2009).

2.2.2. Eletroejaculação

A EEJ é utilizada para a realização de exames andrológicos, quando os touros se encontram desqualificados para realizar a monta natural. O primeiro relato do emprego deste método foi feito por Dziuk *et al.*, em 1954 e Marden no mesmo ano, que a utilizaram para obter amostras seminais na espécie ovina. Posteriormente, em 1945 e 1948, LaPlaud e Cassou, descreveram o emprego deste método em bovinos. O equipamento acompanha um eletrodo bipolar que, ao ser colocado no reto, permite a descarga de estímulos elétricos que variam de 16 a 25 v e 0 a 1000 mA sobre o tronco vagossimpático (MIES FILHO, 1987).

De acordo com Marques Filho *et al.* (2009) este método além de estimular a ejaculação, causa desconforto, inquietação, aumento da vocalização, atitudes de deitar, abaixar a cabeça, salivação, mugir, aumento da frequência cardíaca e elevação da concentração plasmática de cortisol, glicose e progesterona. Este conjunto de reações nos permite enfatizar a EEJ como um método estressante nos bovinos que, segundo o mesmo autor induz uma mudança na secreção de hormônios na cascata do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, gerando diversas alterações metabólicas, endócrinas, imunológicas e comportamentais.

2.2.3. Massagem transretal das glândulas genitais acessórias

A massagem transretal das glândulas genitais acessórias é um dos métodos mais simples na coleta de sêmen em bovinos (PALMER, 2005). Segundo Neves (2015) este método de coleta além de ser o mais simples, não é comumente utilizada, pois possui baixa qualidade, baixa concentração espermática e alta contaminação, servindo somente para uma avaliação rápida, quando não se há outra opção. O ejaculado obtido não deve ser aproveitado para o processo de congelamento, se o seu uso for destinado a programas de inseminação artificial. Palmer *et al.* (2005) relataram que as amostras de sêmen coletadas de bovinos via

massagem tiveram uma menor porcentagem de motilidade e de espermatozóides vivos, quando comparadas às amostras de sêmen obtidas pela EEJ.

2.3. Avaliação do sêmen

A fertilidade do touro está intimamente relacionada a qualidade do sêmen. A composição do sêmen varia intensamente, mesmo quando os indivíduos são da mesma espécie, visto que a atividade espermatogênica e a função secretora das glândulas estão sob a influência de diversos fatores externos e hormonais. Deve-se realizar diferentes tipos de exames para obter uma avaliação criteriosa da qualidade do sêmen. A possível avaliação do potencial de fecundação é resultante de várias provas, todas de alto valor, embora apenas a concordância de todas elas permitam conclusões significativas (GANDOLFO, 2007).

2.3.1. Coloração, aspecto e volume

O sêmen deve ser uniforme e de aparência opaca. A amostra restrita de pêlos, poeira e outros contaminantes. Amostras com aspecto coalhado, contendo grumos, não devem ser usadas podendo ser um indicativo de infecção. Os touros podem apresentar sêmen de aparência amarelada, devido à presença de riboflavina, que é inócua (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

O volume do ejaculado varia muito entre as espécies devido a estação do ano, clima, período de repouso sexual e método de coleta (GANDOLFO, 2007). Ejaculações frequentes resultam em um volume médio e quando se obtêm duas ejaculações seguidas, a segunda geralmente apresenta um volume menor. Uma amostra de volume menor não será prejudicial, mas se acompanhada de baixa concentração espermática, a produção total diminui (HAFEZ e HAFEZ, 2004). O sêmen deve ser protegido contra choque térmico (frio) durante a sua coleta, chegando para a análise relativamente abaixo da temperatura do corpo. (GANDOLFO, 2007).

2.3.2. Turbilhonamento

Representa o movimento dos espermatozóides em forma de ondas observado em uma única gota de sêmen, sendo avaliado sobre uma lâmina sem lamínula em um aumento de 100 vezes à uma temperatura de 37°C, aferindo-se na borda da gota

o movimento em massa. Como resultado de uma associação entre concentração, motilidade e vigor elevados, que será avaliado numa escala de zero a cinco (FOOTE, 2003).

O termo “movimento em massa” significa um movimento semelhante a um turbilhão, ou cardumes de espermatozóides em ejaculados de alta concentração com células ativas (GANDOLFO, 2007). Segundo Fonseca *et al.*, (1991) a forma de interpretação exige treinamento para que seja adequadamente avaliada.

2.3.3. Motilidade espermática

A definição de motilidade envolve a viabilidade dos espermatozóides e sua qualidade. A avaliação da motilidade é feita através de um microscópio óptico; sendo excessivamente sujeito às condições ambientais, precisando proteção contra condições ou agentes prejudiciais antes da avaliação. Os padrões da motilidade espermática incluem: 1) porcentagem de espermatozóides móveis (70% a 90%); 2) porcentagem de espermatozóides gradativamente móveis; 3) velocidade espermática (0 estacionária, 4 rápida); 4) longevidade da motilidade espermática em sêmen fresco (de 20° a 25°C) e em sêmen diluído (de 4° a 6°C) (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

É de extrema importância considerar apenas os espermatozóides com mobilidade retilínea e progressiva, nunca devendo considerar os que apresentam movimentos circulares e oscilatórios (FONSECA *et al.*, 1991).

2.3.4. Vigor

O vigor espermático é representado em uma escala de zero a cinco, que significa a intensidade com que a célula se desloca no campo do microscópio, onde zero representa as células paradas e cinco seu movimento vigoroso de alta velocidade (MIES FILHO, 1977; BARBOSA *et al.*, 2005).

2.3.5. Concentração espermática

A concentração espermática é um dos aspectos mais importantes pois, demonstra a eficiência dos túbulos seminíferos na produção de espermatozóides (FONSECA, *et al.*, 1991). Segundo Ruediger (2014) a concentração espermática é

dada pela quantidade de células no ejaculado, nutrição, estação do ano, raça, indivíduo, além das patologias espermáticas.

Devido fatores extrínsecos a concentração espermática sofre inúmeras variações, como o método de coleta, tempo de repouso do reprodutor, e condicionamento. Portanto, para o sêmen fresco, deseja que se esteja na média da espécie e não no limite mínimo de concentração. (CBRA, 1998).

2.3.6. Morfologia espermática

As anormalidades morfológicas dos espermatozoides estão relacionadas com a alta fertilidade dos touros (HAFEZ e HAFEZ, 2004; VALE FILHO, 1980). Segundo Hafez e Hafez (2004), o estresse térmico pode provocar uma incidência bem elevada de espermatozoides deformados. Épocas em que a temperatura ambiente está elevada e com alta umidade um touro pode se manter estéril por até 6 semanas. Em touros a fertilidade diminui geralmente quando as células espermáticas anormais ultrapassam 30%.

2.3.6.1. Defeitos maiores

Os defeitos maiores abrangem alterações de acrossomo, a presença de gota citoplasmática proximal, patologias de cabeça, alterações de peça intermediária, patologias de cauda e formas teratológicas (ARRUDA *et al.*, 2015).

2.3.6.2. Defeitos de acrossomo

Os defeitos de acrossomo abrangem acrossomo rompido, enrugado ou dobrado, destacado e knobbed Acrosome ou grânulo persistente do acrossomo. O rompimento do acrossomo pode acontecer por falhas na espermatogênese, durante a maturação e transporte espermático, tanto quanto após o processo de criopreservação do sêmen. O Knobbed Acrosome é referente à existência de uma estrutura em forma de um grânulo refringente próximo da crista apical espermática, resultante de excesso de matriz acrossomal e dobra da crista acrossomal, podendo desenvolver um achatamento ou um entalhamento no ápice do acrossomo, que acontece por alteração da espermatogênese (ARRUDA *et al.*, 2015).

2.3.6.3. Gota citoplasmática proximal

A gota proximal forma-se nas fases finais da espermiogênese e refere-se à manutenção dos corpos residuais oriundos das organelas que compunham o citoplasma das espermátides. Assim, ao longo da espermiogênese, a maioria do citoplasma é eliminada, mantendo apenas uma pequena fração, que fica aderida à porção proximal da peça intermediária, próxima à cabeça, procedente da ponte intercelular, que liga as células germinativas durante a espermatogênese. Esse resquício de citoplasma é denominado gota citoplasmática ou gota protoplasmática (ARRUDA *et al.*, 2015). Segundo Almeida (2012) um elevado número de gota citoplasmática proximal pode ser indicativo de imaturidade sexual. Em touros adultos, a presença é indício de processo degenerativo testicular. (ARRUDA *et al.*, 2015).

2.3.6.4. Patologias da cabeça espermática

As alterações na cabeça espermática estão ligadas a modificações transitórias ou permanentes na espermiogênese, resultante de lesões traumáticas testiculares, estresse calórico, febre, excesso de proteína na ração (acima de 15% de proteína bruta), doenças sistêmicas, utilização prolongada de corticoides, nas hipoplasias mais graves e, ainda, podem ser de origem genética. Ressalta-se que defeitos de cabeça estão intimamente ligados a anormalidades na condensação da cromatina espermática. Participam da redução da fertilidade (subfertilidade) temporária ou permanente, e estão associadas à baixa taxa de clivagem e ao menor desenvolvimento embrionário (ARRUDA *et al.*, 2015).

2.3.6.5. Cabeças piriformes e estreitas na base

Estes defeitos primários ou maiores são frequentemente encontrados, importantes e comuns a todas as raças. As cabeças dos espermatozoides acometidos apresentam material nuclear mal distribuído, ocasionando em variações no tamanho nuclear em vários tipos e graus, que podem variar de estreitamento pós acrossomal leve à grave (cabeças piriforme), e ocasionalmente assimetria de todo o núcleo. Pode ser difícil diferenciar cabeças ligeiramente estreitas na base de

cabeças normais que são mais longas e/ou mais estreitas do que o normal. Embora a distinção entre piriforme e estreita na base pode não ser significativa, um erro comum e grave é negligenciar as formas sutis de "base-estreita" do defeito de estreita na base. Hereditariedade pode ser a causa dos defeitos piriforme e estreita na base, e podem ser encontrados também em casos de hipoplasia ou degeneração testicular leve. O prognóstico para a recuperação é favorável apenas em casos de degeneração testicular reversível (ARRUDA *et al.*, 2015; ALMEIDA, 2012).

3. METODOLOGIA

Foram realizadas as avaliações andrológicas em 15 touros da raça Holandesa destinadas a reprodução pertencentes a Embrapa Gado de Leite em Coronel Pacheco - MG no período de novembro a dezembro de 2016. Nesta avaliação, os animais foram separados em dois grupos, G1 com 11 touros na faixa etária de 30-32 meses de idade e G2 com 4 touros com idade entre 38-42 meses. Os grupos foram classificados quanto à média de CE, motilidade espermática, vigor, turbilhonamento e patologias espermática encontradas neles. Os animais submetidos ao exame foram identificados e coletados os dados referentes à data de nascimento de cada reprodutor. Procedeu-se a realização do exame clínico geral, avaliando o escore de condição corporal, aprumos, cascos, e inspeção do animal em estação e em movimento. Na sequência, com o animal contido em tronco, avaliou-se o escroto, considerando as condições de pele quanto à lesões, mobilidade, sensibilidade, espessura, temperatura e aderências. Foi aferida a CE, e os testículos foram avaliados quanto a sua mobilidade, sensibilidade, temperatura e posição. A avaliação dos epidídimos abrangeu a sua forma, tamanho e posição. O prepúcio e pênis foram avaliados em conjunto, examinando-se a pele quanto à presença de lesões, parasitas, e aumento de volume no prepúcio, além de tamanho, mobilidade, mucosa e secreções.

Para a coleta do ejaculado dotou-se o uso do eletroejaculador com a probe introduzida no reto do animal, levando a exposição do pênis e a ejaculação através de estímulos elétricos. O ejaculado foi coletado em um copo coletor graduado, já procedendo as avaliações macroscópicas do sêmen quanto à cor, volume, aspecto e odor (*sui generis*). Em seguida, foram realizadas as avaliações microscópicas utilizando um microscópio óptico em aumento de 10X. Nesta etapa, uma gota de sêmen foi colocada sobre uma lâmina sem lamínula para observação do

turbilhonamento, onde o movimento em massa foi classificado em uma escala de zero a cinco. Em seguida, foi avaliada a motilidade classificando-a de acordo com o percentual de células espermáticas móveis em uma gota de sêmen sob a lamínula. O vigor foi avaliado juntamente com a motilidade aferindo-se a velocidade de deslocamento destes espermatozóides em uma escala de zero a cinco. Posteriormente foi analisada a concentração espermática na câmara de Neubauer utilizando uma micropipeta, contando-se todos os espermatozóides presentes em 5 quadrados de cada retículo. Foram contados apenas os espermatozóides que se apresentavam com a cabeça para dentro dos quadrados, e os que apresentavam apenas a cauda dentro do quadrado foram ignorados.

Para a análise de morfologia espermática foi feita uma estimativa de percentual de células normais e patológicas, sendo diluídas amostras em formol-salino tamponado 1% e em seguida feita uma avaliação quanto a morfologia espermática desse ejaculado em microscopia de contraste de fase. Foram contadas 200 células por lâmina, para definição da porcentagem de espermatozóides normais, acrossomo, defeitos de cabeça, gota citoplasmática proximal, peça intermediária, cabeça destacada e cauda (FERNANDES *et al.*, 2009).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias foram calculadas quanto a CE, motilidade, vigor e turbilhonamento espermático dos touros nas idades de 30 até 42 meses, sendo separados em dois grupos: 30-32 meses (G1) e 38-42 meses (G2). Os resultados das médias dos animais avaliados encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Médias de circunferência escrotal, motilidade, vigor e turbilhonamento de G1 e G2.

	IDADE (meses)	CE (cm)	MOT (%)	VIGOR	TURB
G1	30-32	36,31±2,18	58,63±12,06	2,36±0,55	0,90±1,04
G2	38-42	39,82±2,77	66,26±14,93	3,12±1,03	1,5±1,91

G1: 30-32 meses; G2: 38-42 meses; CE: circunferência escrotal; MOT: motilidade; TURB: turbilhonamento.

Considerando as médias encontradas no G1 os valores calculados quanto a CE se aproximaram, mas foram inferiores comparando com o estudo de Zorzo *et al.* (2013) feito com touros da raça Brangus divididos também em dois grupos que obtiveram uma média de 38,95 cm nos animais com idade acima de 32 meses.

No que se refere ao G2, um estudo feito por Menegassi *et al.* (2011) em touros da raça Devon com média de idade de 36 meses, foram encontrados 38,06 cm de CE. Dágola *et al.* (2013) obtiveram 40,96 cm, em idade média de 45,33 meses para touros da raça Bonsmara. Dágola *et al.* (2013) ainda esclarece que tal valor elevado se deve a idade destes animais serem relativamente superiores. Almeida (2006) em sua análise de CE encontrou 40 cm em touros também da raça Holandesa entre 30 a 60 meses de idade, que foi semelhante em touros desta raça quando comparadas as outras citadas.

Para a motilidade no G1, o valor médio obtido foi de 58,63% chegando próximo ao citado por Ferrari *et al.* (2004) sendo de 64,39% em touros da raça Simental, com 30,83 meses de idade. No G2 a motilidade espermática de 66,25% ultrapassou o valor encontrado por Almeida (2006), sendo 62,50% em touros de raça Holandesa entre 30 a 60 meses de idade.

Quanto ao vigor, o resultado encontrado nos touros do G1 de 2,36 foi inferior ao comparado com o estudo de Carrer Filho *et al.* (2015) onde utilizou touros da raça Braford de idade média de 21 meses constatando em seu trabalho vigor médio de 3,95. No G2 o resultado de 3,12 encontrado foi superior a 2,92 encontrado por Dágola *et al.* (2013), e bem próximo a 4,00 encontrado no estudo de Almeida (2006) em touros Holandeses. O turbilhonamento deste estudo para G1 e G2 foi de 0,90 e 1,5 respectivamente, inferior ao estudo realizado por Dágola *et al.* (2013) que obteve uma média de 1,82.

Durante a realização do espermograma os 15 touros avaliados apresentaram com frequência algumas patologias espermáticas, tais como: cauda fortemente dobrada, gota citoplasmática proximal, peça intermediária, cauda dobrada com gota e cauda enrolada na cabeça, sendo estas classificadas como defeitos maiores; e patologia de cauda dobrada classificada como defeito menor. Defeitos maiores são indicativos de infertilidade, doenças testiculares ou epididimárias, e defeitos menores se relacionam com anomalias que causam um menor impacto (ARRUDA *et al.*, 2015). Segundo Zorzo *et al.* (2013) os fatores que interferem na atividade

espermática são: a nutrição, a idade, a hereditariedade e o ambiente. Os defeitos espermáticos mais frequentes foram listados na Figura 1.

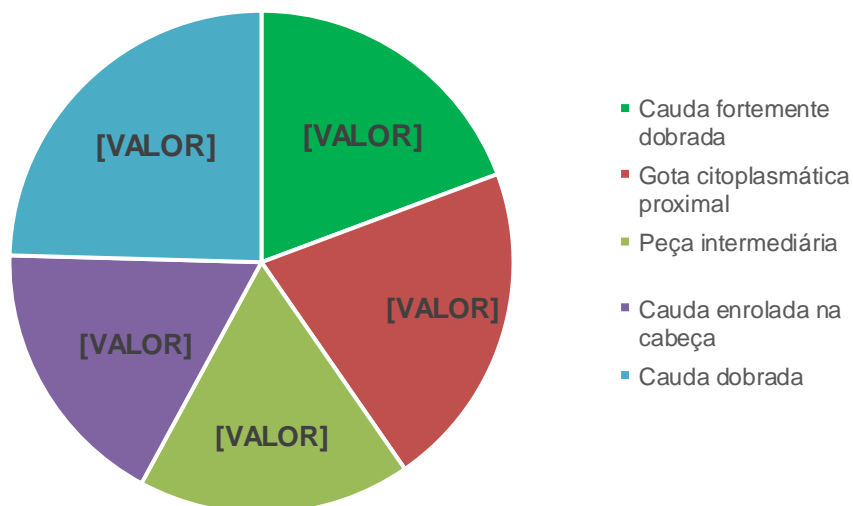


Figura 1. Porcentagens de touros que apresentaram com frequência as patologias espermáticas.

Nos estudos de Almeida (2006) pôde-se constatar que um dos principais defeitos maiores encontrados também foi cauda fortemente dobrada e/ou enrolada. Neste trabalho a patologia de cauda dobrada se destacou entre as demais. Arruda *et al.* (2015) e Fernandes (2012) esclarecem que este defeito espermático ocorre devido à redução brusca de temperatura ou choque térmico, sendo mais comum quando o sêmen é fixado em formol frio ou quando o esfregaço é preparado em lâmina fria, e que quando associado a outros tipos de patologias de cauda, como a cauda fortemente dobrada pode estar relacionado a disfunção epididimária por isso deve-se tomar as devidas precauções evitando prejuízos na amostra.

O CBRA possui padrões de classificação quanto os defeitos de morfologia espermática dos touros, sendo desclassificados quando atingem >30% de defeitos totais, >10% de defeitos maiores, >20% de defeitos menores, >5% de defeitos individuais maiores e >10% de defeitos individuais menores. Dos 15 touros avaliados, quatro deles foram desclassificados por patologias espermáticas. Um dos touros ultrapassou o limite máximo de defeitos totais, e também ultrapassou 5% de defeitos individuais maiores sendo cauda fortemente dobrada e cauda dobrada com gota, que somadas a outras patologias presentes atingiram mais de 10% do total de defeitos maiores. Outros dois touros também ultrapassaram o limite total de defeitos

maiores, onde estavam presentes acima de 5% as patologias de contorno anormal em um deles e gota citoplasmática proximal nos dois. O quarto touro desclassificado apresentou apenas a patologia de cauda dobrada com gota acima do limite de 5%, já que se trata de uma patologia maior. Nenhum dos touros atingiu o total de defeitos menores e defeitos individuais menores. A quantidade de touros que ultrapassaram esses limites está expressa na Tabela 2.

Tabela 2. Quantidade de touros que atingiram o limite padrão de defeitos espermáticos estabelecidos pelo CBRA.

	Nº de Touros
DEF. TOTAIS	1
DEF. MAIORES	3
DEF. MENORES	0
DEF. INDIVIDUAIS MAIORES	4
DEF. INDIVIDUAIS MENORES	0

DEF: defeitos.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com esta avaliação andrológica, pôde-se constatar que todos os touros da raça Holandesa examinados apresentaram diversas patologias espermáticas sendo umas mais frequentes e outras menos frequentes e que alguns dos limites estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA) foram ultrapassados.

6. REFERÊNCIAS

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.

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, 20-109p., 2009.

ARRUDA, R.P.; CELEGHINI, E.C.C.; GARCIA, A.R.; SANTOS, G.C; LEITE, T.G.; OLIVEIRA, L.Z.; LANÇONI, R.; RODRIGUES, M.P. Morfologia espermática de touros: interpretação e impacto na fertilidade. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.39, n.1, p.47-60, jan./mar. 2015.

BARBOSA, R.T.; MACHADO, R.; BERGAMASCHI, J.A.C.M. A Importância do Exame Andrológico em Bovinos. **Circular técnica**, EMBRAPA, São Carlos – SP, nº41, 13p., 2005.

BERTOL, M.A.F.; WEISS, R.R.; KOZICKI, L.E.; ABREU, A.C.M.R. Características biométricas e parâmetros espermáticos de testículos e epidídimos direitos e esquerdos de touros zebuínos. **Archives of Veterinary Science**. v.20, n.2, p.156-163, 2015.

BICUDO, S.D.; SIQUEIRA, J.B.; MEIRA, C. PATOLOGIAS DO SISTEMA REPRODUTOR DE TOUROS. **Biológico**, São Paulo, v.69, n.2, p.43-48, jul./dez., 2007.

CARRER FILHO, L.C.; JUNIOR, C.K.; JUNIOR, F.A.B.; MENEGASSI, S.R.O.; PEREIRA, G.R.; SANTOS, M.D.; OKANO, W.; LOPES, F.G. Avaliação andrológica por pontos e teste da libido em curral de touros jovens da raça Braford. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. v.9, n.2, p. 233-246, 2015.

CHACUR, M.G.M. et al. Fertility selection in bulls and seminal plasma proteins, spermatic evaluation correlation. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 27, n. 2, p. 185-186, 2003.

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.

DÁGOLA, D.M.; PEGORER, M.F.; SOUZA, F.A.A.; BARREIROS, T.R.R.; BLASCH, W.; PATELLI, T.H.C. Parâmetros obtidos no exame andrológico de touros da raça Bonsmara. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 3, p. 690-695, May/June 2013.

DIAS, J.C.; ANDRADE, V.J.; VALE FILHO, V.R.; PEREIRA, J.C.C. Caracterização andrológica de touros nelore criados extensivamente em Mato Grosso do Sul, Brasil. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 13, n. 2, p. 39-46, jul./dez. 2007

FERNANDES, C.E.; OLIVEIRA, A.R.; MIRANDA, P.A.B.; LOPES, S.C.P.; MORAES, S.S.; MORAIS, M.G.; ABREU, U.G.P.; LANDIM-ALVARENGA, F.C. Alterações na morfologia espermática em touros de corte com e sem suplementação de zinco na mistura mineral. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1074-1083, out./dez. 2009.

FERNANDES, V.C. **Avaliação da Morfologia Espermática em Touros**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2012.

FERRARI, M. V.; WEISS, R. R.; FOLADOR, A.; RIBEIRO, F. L.; COLLODEL, S. T. S. Características reprodutivas em touros da raça Simental. Um resumo de 376 exames de aptidão reprodutiva com resultados positivos. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, América do Norte, 4 out. 2004.

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, O.F.; VALE FILHO, V.R.; MIES FILHO, A.; ABREU, J.J. Procedimentos para Exame Andrológico e Avaliação do Sêmen. **Colégio Brasileiro de Reprodução Animal**. 1991. 79p.

FOOTE, R.H.; Fertility estimation: a review of past experience and future prospects. **Animal Reproduction Science**, v.75, p.119–139, Jan.2003.

GANDOLFO, E.F. **Avaliação Reprodutiva Em Touros**. São José do Rio Preto, SP, 2007. Tese apresentada à Universidade Castelo Branco.

GETTY, R. SISSON; GROSSMAN. **Anatomia dos Animais Domésticos**. 5° ed. Rio de Janeiro: Gen, 2008. 1485-1489p. 1489-1493p.

GONSALVES, O. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; V. J. F. **Biotécnicas Aplicadas A Reprodução Animal**. São Paulo: Varela, 2003. 340p.

HAFEZ, E. S. E; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7. ed. São Paulo: Manole, 2004. 530p.

LOPES, F.G.; GUIMARÃES. J.D.; COSTA, E.D.; CARVALHO, G.R.; NETO. T.M. Avaliação andrológica por pontos e comportamento sexual em touros da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.38, n.6, p.1018-1025, 2009.

MACHADO, G.V. **Apostila de Anatomia Veterinária II**. Matipó – MG, 2017.

MARQUES FILHO, W.C.; FERREIRA, J.C.P.; FUGIHARA, C.J.; HEITMANN, F.J.; FERRAZ, M.; MONTEIRO, A.L.; MAZIERO, R.R.; MARTIN, I.; OBA, E. Avaliação do estresse em touros Nelore (*Bos taurus indicus*) submetidos à eletroejaculação. **Veterinária e Zootecnia**, v.15, n.3, dez. p.531-541, 2008.

MARQUES FILHO, W.C.; FERREIRA, J.C.P.; FUGIHARA, C.J. Indicadores de bem-estar em touros submetidos à colheita de sêmen por eletroejaculação. **Veterinária e Zootecnia**, p-52-63, v.16, n.1, mar. 2009.

MENEGASSI, S. R. O.; BARCELLOS, J. O. J.; PERIPOLLI, V.; PEREIRA, P. R. R. X.; BORGES, J. B. S.; LAMPERT, V. N. Determinação da circunferência escrotal em touros de corte no Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 63, n. 1, 2011.

MENEGASSI, S.R.O.; BARCELLOS, J.O.J.; BORGES, J.B.S.; PERIPOLLI, V. & Concepta McManus. Causas de reprovação de touros britânicos no exame andrológico. **Acta Scientiae Veterinariae**, 2012. 40(2): 1032.

MIES FILHO, A. **Reprodução dos animais e inseminação artificial**. 4.ed. Sulina, v. 1, 1987, 359p.

MIES FILHO, A. **Reprodução dos animais e inseminação artificial**. 6.ed. Porto Alegre, RS: Sulina, 1978. p.339-367.

NASCIMENTO, E.F.; SANTOS, R.L. **Patologia da reprodução dos animais domésticos**. 3ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

NEVES, B.P. **O uso da vagina artificial interna para a coleta de sêmen de touros bubalinos (*Bubalus bubalis*) com diferentes experiências sexuais**. Belo Horizonte, 2015. Tese apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.

PALMER, C.W.; BRITO, L.F.C.; ARTEAGA, A.A. et al. Comparison of electroejaculation and transrectal massage for semen collection in range and yearling feedlot beef bulls. **Animal Reproduction Science**, v. 87, p. 25-31, 2005.

REECE, W.O. **Anatomia Funcional e Fisiologia dos Animais Domésticos**. 3º ed. São Paulo: Roca, 2008. 359-365p. 382-401p.

ROCHA, U.F. Notas sobre a inseminação artificial em bovinos. Coleta de sêmen por massagem direta da glândula. Emprego de vitaminas *b1* e *c* no tratamento da infertilidade senil. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária**. São Paulo - Vol. 3, fasc. 1-2, 1945.

RUEDIGER, F.R. **Termografia digital por infravermelho do escroto e qualidade de sêmen em touros nelore (*Bos taurus indicus*)**. São Paulo, 2014. Tese apresentada à Universidade Do Oeste Paulista – UNOESTE.

SILVA, A.R.; FERRAUDO, A.S.; PERECIN, D.; LIMA, V.F.M.H. Efeito da idade do touro e do período de colheita de sêmen sobre as características físicas e morfológicas do sêmen de bovinos de raças européias e zebuínas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.7, p.1218-1222, 2009.

UNANIAN, M. M., SILVA, A. E. D. F., PIMENTEL, C. M. M. e CARDOSO, E. P. Características biométricas testiculares para avaliação de touros zebuínos da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 29, 136-144. 2000.

VALE FILHO, V.R., **Patologia do sêmen**. 2.ed., Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais - Escola de Veterinária, 54p., 1980.

VIU, M.A.O.; MAGNABOSCO, C.U.; FERRAZ, H.T.; GAMBARINI, M.L.; FILHO OLIVEIRA, B.D.; LOPES, D.T.; VIU, A.M.F. Desenvolvimento ponderal, biometria testicular e qualidade seminal de touros nelore (*Bos taurus indicus*) criados extensivamente na região centro-oeste do Brasil. **Archives of Veterinary Science**. v. 11, n. 3, p. 53-57, 2006.

ZORZO, J.; CONTE, T.; ANDROUKOVITCH, J.L.; BUGALLO, M.Q. Avaliação reprodutiva de touros Brangus nos anos de 2010 e 2011. **Archives of Veterinary Science**, v.18, n.2, p.43-49, 2013.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE *Punica Granatum* Linnaeus CONTRA *Staphylococcus* COAGULASE POSITIVA ISOLADOS DE LEITE DE VACAS COM MASTITE SUBCLINICA

Acadêmicos: Diego Clemente Goulart e Gleuber Geraldo de Faria Gomes

Orientador: Leandro Silva de Araújo

RESUMO

A mastite bovina é caracterizada pela inflamação da glândula mamária, causada principalmente em decorrência de infecções por *Staphylococcus* coagulase positivo. Esta afecção acomete grande parte do rebanho brasileiro e compromete a produção leiteira, tanto quantitativamente quanto qualitativamente, causando prejuízos econômicos e à saúde do homem. É importante a adoção de medidas que possam evitá-la, como a utilização de testes para a detecção e tratamento precoce de animais acometidos. O uso de antibióticos no tratamento da mastite, durante a lactação pode causar alergias e reações tóxicas aos consumidores, de maneira que se torna cada vez mais necessária a busca de terapias alternativas, como o uso de fitoterápicos no combate dessas bactérias. O presente estudo busca verificar a eficácia antimicrobiana *in vitro* do extrato hidroalcolico de *Punica granatum* Linnaeus, conhecida como romã, contra *Staphylococcus* coagulase positivo isolado de leite proveniente de animal com mastite. Para tanto, foram utilizadas amostras de leite oriundo de duas vacas diagnosticadas com mastite subclínica através do teste CMT a partir do qual se isolou a bactéria confirmada por testes bioquímicos. Uma vez isolada, foi submetida ao teste de sensibilidade com o extrato hidroalcolico da romã em três diluições. Foi possível observar em todas as diluições testadas efeito antimicrobiano do extrato, o que sustenta sua utilização em estudos posteriores para determinação de concentração inibitória mínima e atividade *in vivo*.

PALAVRAS CHAVE: antimicrobiano, romã, fitoterápico

1. INTRODUÇÃO

O leite é um dos produtos de maior importância na agroindústria brasileira, responsável por 6,7 bilhões de reais no Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro no ano de 2010 (BARBOSA *et al.*, 2010). Em toda extensão territorial do país, a região Sudeste possui lugar de destaque na produção leiteira, sendo o estado de Minas Gerais responsável por cerca de 30% de toda a média nacional. As regiões de maior produção são Triângulo Mineiro seguida da região Sul, Sudoeste Mineiro, e Zona da Mata (IBGE, 2012).

Diversas são as afecções que acometem o rebanho leiteiro e participam no declínio dos índices zootécnicos da propriedade, refletindo assim em prejuízos para o produtor. Entre estas afecções, a mastite possui destaque, por sua relevância econômica e na saúde pública (COSTA *et al.*, 2016). Os prejuízos atribuídos à

mastite são provenientes da diminuição da produção de leite, qualidade do produto, gastos com assistência veterinária, medicamentos e descarte do leite (COSER *et al.*, 2012).

A mastite pode possuir diversas etiologias como, químico, físico e infecciosa. No entanto, a infecciosa é a mais comum. Os principais agentes associados a esta enfermidade são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. e coliformes. Protocolos de tratamento antimicrobiano apresentam eficácia variável, uma vez que as infecções podem apresentar agentes etiológicos diferentes numa mesma propriedade, além da existência de cepas resistentes a antimicrobianos (FREITAS *et al.*, 2005).

Diversos estudos com tratamentos fitoterápicos têm sido desenvolvidos no país, por se tratar de alternativa barata e muitas vezes com eficácias comparáveis aos produtos comerciais (SOUZA *et al.*, 2002). A *Punica granatum L.*, conhecida como romã, em especial, é uma planta frutífera e ornamental que possui propriedades antibacteriana e anti-inflamatória, já utilizada para o tratamento da mastite bovina (FREITAS *et al.*, 2008).

Tendo em vista esta especificidade, o objetivo deste trabalho foi verificar a eficácia antimicrobiana *in vitro* do extrato hidro alcoólico de *Punica granatum L.* contra *Staphylococcus* sp. isolado de leite de fêmeas bovinas identificadas com mastite subclínica, naturalmente infectadas.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. A Mastite Bovina

A Mastite bovina caracteriza-se pela inflamação das glândulas mamária, decorrente de uma resposta aos agentes físicos, químicos e infecciosos, que reflete em sinais como febre, diminuição da produção de leite, endurecimento das glândulas mamárias e apatia do animal (CASSOL *et al.*, 2010). Além dos prejuízos econômicos causados, a mastite bovina representa também um risco potencial à saúde dos consumidores, ao passo que pode servir de veículo para agentes zoonóticos aos seres humanos, desencadear reações alérgicas e efeitos adversos, oriundos das alterações causadas pelo uso de antibióticos no controle da infecção (CASSOL *et al.*, 2010).

Esta enfermidade pode ser classificada de acordo com a presença dos sinais clínicos característicos da inflamação, sendo neste caso, caracterizada como mastite clínica, ou com a ausência de apresentação clínica como a mastite subclínica que pode ser diagnosticada através da contagem células somáticas (CCS) e o Califórnia Mastitis Test (CMT) (MELLO-PEIXOTO et al., 2012).

Por isso, é importante evitá-la, pois é considerada a maior vilã da produção leiteira, podendo acarretar a perda dos quartos mamários, comprometendo a qualidade do leite pelo risco de veiculação de agentes patogênicos, diminuição de caseína, gordura e lactose, além de prejudicar o rendimento industrial e o tempo de conservação do produto no mercado (BRIETZKE, 2004).

2.2. Formas Clínicas e Etiologia

Independentemente da forma de apresentação da mastite, geralmente estará associada às infecções bacterianas (TOZZETTI et al. 2008). Os microrganismos causadores da mastite são divididos em agentes da mastite contagiosa (transmitidos através do contato no momento do manejo da ordenha), e agentes da mastite ambiental (causados por agentes que ficam nas instalações em que a vaca vive), sendo diferenciados principalmente de acordo com sua capacidade de viverem de forma comensal nos animais (TOZZETTI et al. 2008).

Os agentes contagiosos são aqueles adaptados a sobreviverem dentro do hospedeiro e estão presentes no corpo do animal com ou sem mastite. As bactérias que mais comumente causam as mastites são os *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Mycoplasma bovis*, sendo o *Staphylococcus aureus* o mais frequente nos casos de mastite bovina. Este possui vários fatores de virulência que contribuem para a sua persistência no tecido mamário. (MELLO-PEIXOTO et al., 2012). Os agentes ambientais são mais comumente isolados de infecções clínicas e são aqueles não adaptados à sobrevivência no hospedeiro. Neste grupo podemos citar Coliformes, *Streptococcus uberis* e *Enterococcus* spp (TOZZETTI et al., 2008).

A mastite clínica tem menor participação no rebanho quando comparados à subclínica, (SÁ, et al. 2011). No entanto, é mais facilmente detectável por apresentar os sinais de inflamação como dor, rubor e edema no úbere além de alterações macroscópicas no leite, que podem ser visualizados pelo teste da caneca de fundo preto onde é evidenciada a presença de pus no leite (SAEKI et al., 2012).

2.3. Diagnóstico e Tratamento

O diagnóstico da mastite clínica pode ser feito observando os sintomas, como inflamação do úbere, aparecimento secreções, sangue e pus. Para diagnóstico da mastite subclínica, geralmente utilizam-se testes para auxiliar o diagnóstico, os principais são o CMT (*Califórnia Mastitis Test*), realizado no momento da ordenha, no qual utiliza-se uma raquete, que contem quatro cavidades e o reagente CMT, que uma vez misturado com o leite, homogeneiza. Após aproximadamente dez segundos, pode ser feita a leitura observando-se a consistência da mistura. Além desses testes, o CCS (Contagem de células somáticas), que é um exame laboratorial para identificar se houve aumento dessas células no leite, pode ser feito e, caso haja, é um indicativo de que existe infecção em pelo menos um dos quartos mamários do úbere causado por mastite.

A exigência de alto padrão de qualidade da produção do leite e seus derivados determina cada vez mais a busca por alternativas naturais de tratamento. É necessário fazer o tratamento da mastite precocemente, pois esta tem maiores chances de recuperação e menores chances de proliferação da doença entre os animais. É de grande importância o monitoramento dos animais, dos ordenhadores, do ambiente, instalações e manejo da ordenha a fim de se minimizar possíveis fontes de infecção. (BRITO; BRITO 2002).

O tratamento da mastite subclínica se faz utilizando antimicrobianos químicos, sendo pouco frequente durante a lactação, pela baixa eficácia dependendo da etiologia infecciosa e pela presença de resíduos no leite, proibidos pela legislação brasileira. (BRASIL, 2002; RIBEIRO et al., 2003). Na forma subclínica, ao contrário da forma clínica, possui detecção mais complexa por não apresentar mudanças visíveis no aspecto do leite ou do úbere (PERSSON WALLER et al., 2003). Caracteriza-se por alterações na composição do leite, tais como aumento na contagem de células somáticas (CCS), aumento nos teores de proteínas séricas; diminuição nos teores de caseína, lactose, gordura e cálcio do leite (GIANOLA et al., 2004); fazendo com que haja menor rendimento na produção de seus derivados, além de diminuir o tempo de prateleira do produto (BRADLEY et al., 2002).

Tratamentos com antimicrobianos convencionais, muitas vezes, não geram resultados satisfatórios nos agentes. As bactérias, principalmente *Staphylococcus aureus*, são conhecidas pela sua plasticidade e foram capazes de desenvolver uma

série de mecanismos que permitiram torná-las resistentes aos quimioterápicos mais utilizados. Desta forma, a disseminação da resistência a antimicrobianos tornou-se inevitável, sendo considerado atualmente um problema de saúde pública (LEVY, 2002).

Neste cenário, destacam-se os estudos de plantas medicinais nas diversas atividades agropecuárias (SOUZA *et al.*, 2013). Nos últimos anos, o aumento pela procura de produtos orgânicos vem se intensificando e é inclusive estimulada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), por ser mais acessível economicamente pela sociedade (GALDINO, *et al.*, 2012).

2.4. *Punica granatum* Linnaeus

A *Punica granatum* L. é pertencente à família *Punicaceae* e na medicina popular é conhecida como romã, romeira e romãzeira, sendo muito utilizada como planta frutífera, ornamental de parques e jardins. A romã é uma planta originária da região do oriente médio. A árvore cresce em regiões áridas e a produção de seu fruto se dá no período de fevereiro a setembro. Esta vem sendo utilizada como estratégia de tratamento para diversas infecções, inclusive as mastites. (MARTINS, 1995, JARDINI. 2007).

Os principais constituintes da romã são alcaloides, taninos, compostos fenólicos e flavonoides, substâncias frequentemente relacionadas como responsáveis pelas atividades terapêuticas. A poupa e as sementes da romã apresentam potencial antioxidante, verificado pela presença de compostos com capacidade redutora, identificados pela cromatografia em camada delgada como compostos fenólicos. Propriedades antibacteriana e anti-inflamatórias são apresentadas pelos extratos de romã e são de grande importância para o tratamento da mastite bovina. (LEE *et al.*, 2010, ISMAIL *et al.*, 2012).

A introdução de novos medicamentos no mercado requer inúmeros estudos. Dentre os ensaios laboratoriais, destacam-se os testes para avaliação da atividade antimicrobiana e anti-inflamatória. Estes testes são importantes para um diagnóstico e tratamento da mastite, evitando danos e prejuízos na produção leiteira, além de representar um risco à saúde dos consumidores.

2.5 *Staphylococcus* spp

Staphylococcus é um gênero de bactérias gram-positivas que possuem um formato esférico de aproximadamente um micrometro de diâmetro e formam arranjos com aspecto de cachos de uvas. São divididos em espécies e subespécies, sendo *S. aureus* a espécie típica e principal patógeno dentro do gênero. A capacidade de produzir coagulase classifica as espécies em dois grupos: os *Staphylococcus* coagulase positivos (ECP), incluindo *S. aureus* subsp *aureus*; *S. aureus* subsp *anaerobius*; *S. hyicus*; *S. lutrae*; *S.intermedius*; *S. pseudintermedius*; *S.schleiferi* subsp *coagulans* e *S. delphini* e os *Staphylococcus* coagulase negativos (ECN), incluindo todas as demais espécies. Pode ser encontrado na pele e nas mucosas (GOMES, 2013).

S. aureus e outros *Staphylococcus* produzem muitas proteínas extracelulares associadas às células do hospedeiro. Essas proteínas são importantes na colonização e no crescimento bacteriano nos vários tecidos, causando infecções. (Gomes,2013). *S. aureus* É considerado a espécie mais patogênica e pode ser detectada através de resultados positivos nos testes de coagulase, catalase e DNase (ZAFALON, 2009).

3. METODOLOGIA

3.1. Preparo do extrato

Os frutos da romã foram coletados em um único dia no município de Granada, distrito de Abre Campo, no dia 22/03/2017, no final da manhã, com temperatura de 25°. Colheu-se frutos que apresentavam coloração vermelho escura com manchas amarronzadas, casca endurecida caracterizando frutos maduros. Logo após, o material foi levado para o laboratório da Faculdade UNIVERTIX, em Matipó – MG, onde os frutos foram bem higienizados, descascados e pesados 400gr da casca do fruto e colocados em 1600ml de álcool a 70% para obtenção do extrato hidro alcoólico das cascas da romã. Essa mistura foi armazenada em temperatura ambiente por cinco dias. Após esse período, a solução foi filtrada em gaze e incubada em banho Maria (45°C) até a evaporação do etanol. Em seguida estocada em recipientes adequados à temperatura de 4°C até seu uso.

3.2. Amostras

Inicialmente foram identificados animais portadores de mastite subclínica através do CMT (*Califórnia Mastitis Test*) como na Figura 1. O teste foi realizado segundo as instruções do fabricante do reagente (TADABRAS).

Foram coletadas seis amostras de leite em frascos estéreis, realizadas imediatamente antes da ordenha, sendo cada uma proveniente de um teto identificado com mastite subclínica pelo teste CMT. Essas seis amostras são provenientes de três vacas diferentes com dois tetos acometidos em cada uma delas.

3.3. Avaliação microbiológica

Inicialmente foi feita uma avaliação quanto à presença de *Staphylococcus* spp. através da inoculação de 1 ml do leite em meio seletivo (ágar Manitol Salgado). Em seguida, as placas inoculadas foram incubadas em uma estufa a 36°C em aerobiose. As placas foram observadas com frequência, em diferentes intervalos de tempo até 24hr após a inoculação. Foram consideradas colônias típicas aquelas que apresentaram coloração branca a amarelada com presença de halo amarelado ao redor das colônias, segundo recomendação do fabricante (HIMEDIA).

Uma colônia típica de cada placa dos meios seletivos foi estriada em meio Brain Heart Infusion (BHI) não seletivo, a fim de isolar a cultura pura de uma dessas colônias, e, após 24hr, a cultura pura foi submetida a coloração de GRAM e aos testes complementares de coagulase, DNase e cataláse.

Para realização do teste de coagulase foi utilizado o kit CoaguPlasma (Laborclin), em que a formação de coágulo indica resultado positivo. O teste da cataláse realizou-se com adição de três gotas de peróxido de hidrogênio 3%, após o qual a formação de bolhas indica resultado positivo. O teste de DNase foi realizado em ágar DNase (KASVI) no qual, após cultura da colônia por 24hr, a adição de ácido clorídrico 0,1N promove formação de halo transparente ao redor da colônia positiva ao teste.

Uma colônia de *Staphylococcus* coagulase positiva, identificada nos testes anteriores, foi selecionada para realização do teste de sensibilidade utilizando-se o extrato de *Punica granatum* Linnaeus.

3.4. Teste de sensibilidade

Foi realizado o teste de sensibilidade com o extrato seco diluído em água destilada nas concentrações de 1%, 10% e 50%. Para isto, utilizaram-se placas com ágar Muller Hinton solidificado em que uma alíquota da cultura bacteriana diluída em solução (0,85%) com grau de turvação semelhante ao tubo número 5 da Escala Mac Farland (aproximadamente 1500×10^6 células/ml) foi inoculada em toda a superfície da placa. Posteriormente foram realizados furos de 8 mm nos quais foram depositados 40 µl de solução do extrato diluído e as placas incubadas a seguir a 36°C por 18 hs. Uma placa controle foi feita utilizando-se a mesma diluição bacteriana para teste frente aos antimicrobianos amoxicilina, gentamicina e oxitetraciclina. Para comparação do resultado entre estas bases e o extrato será subtraído do diâmetro alcançado com o extrato 2 mm referentes ao tamanho padrão dos discos de inibição (6mm).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No rebanho selecionado para coleta de amostras foi possível identificar vários animais que apresentavam mastite subclínica identificada pelo CMT (Figura 1).



Figura 1: Califórnia Mastitis Test na identificação de mastite subclínica, apresentando pequeno grau de coagulação em todos os quadrantes.

A partir das amostras de leite foi possível verificar em todas as placas com o meio seletivo o crescimento de colônias típicas de *Staphylococcus*. A concentração elevada de sal é uma eficiente marca de seleção para colônias deste gênero, porém não fornece dados a respeito da espécie (Ataíde et al. 2008).

Para confirmação do gênero *Staphylococcus*, à coloração de Gram, em que foram visualizadas formas de cocos isolados, aos pares e/ou agrupados em forma de cachos de uva (Figura 2). A partir desta avaliação, foram realizados outros testes complementares para confirmação de gênero.

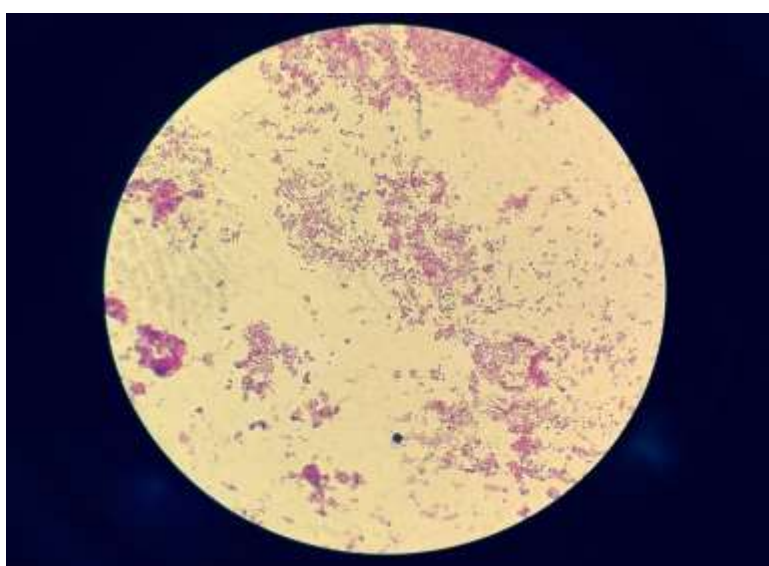


Figura 2: Fotomicroscopia das colônias coradas por Gram, com características que sugerem presença de *Staphylococcus* spp.

Os Resultados da coagulase, catalase e DNase foram todos positivos para as colônias testadas (Figura 3), caracterizando o crescimento de *Staphylococcus* coagulase positivo, dentre os quais a principal espécie é o *S. aureus*. O isolamento e identificação do *Staphylococcus aureus* em laboratório e a análise *in vitro* é importante para que se tenha o diagnóstico e o controle da mastite através dos tratamentos adequados. Além disso, riscos da transmissão de *bactérias resistentes para o homem é extremamente efetivo através da alimentação* (MOTA, et. al., 2005).

Staphylococcus aureus é o mais encontrado e um dos mais perigosos agentes causadores da mastite bovina, o que explica sua presença em todas as amostras, principalmente por serem amostras provenientes de uma mesma propriedade. Isso pode aumentar a chance de um mesmo agente estar disseminado

entre os animais com a mastite subclínica. Esta bactéria destaca-se como principal agente etiológico da forma subclínica da doença (SAEKI et al. 2012).

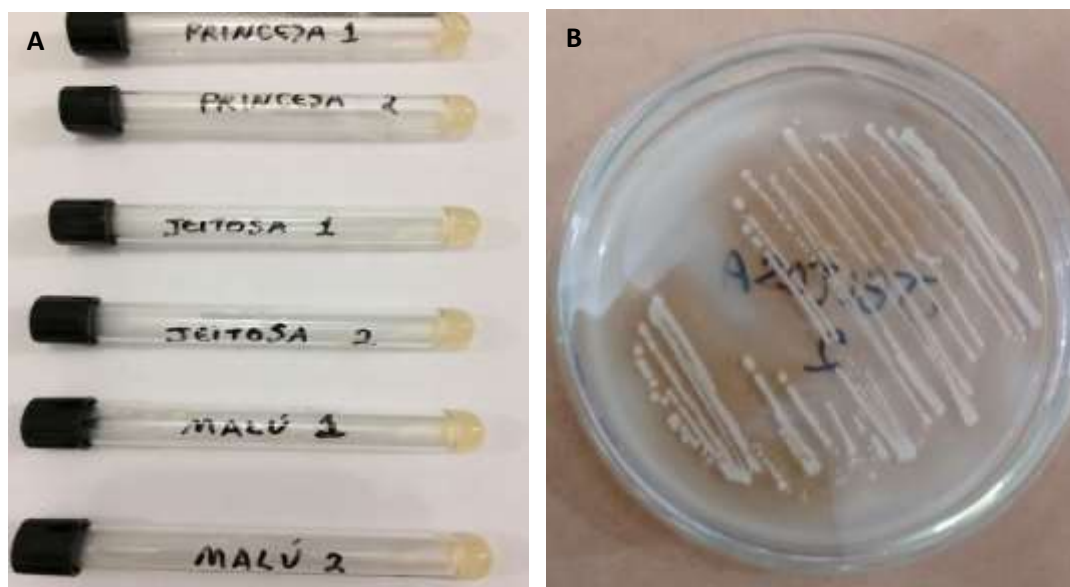


Figura 3: A – Teste de coagulase revelando formação de coágulo em todas as amostras; B – teste de DNase apresentando halo transparente ao redor da colônia.

Esta espécie é considerada a mais virulenta do gênero *Staphylococcus*, devido à formação de toxinas, enzimas mediadoras de invasão tecidual, e sobrevivência no sítio da infecção devido à formação de biofilmes no tecido infectado, protegendo as bactérias da ação fagocitária do sistema imunológico, o que aumenta a prevalência e resistência contra os antimicrobianos utilizados (RAZA et al. 2013). Estes fatores, quando analisados conjuntamente com a necessidade de descarte do leite, pela presença de resíduos de antimicrobianos químicos dificultam a intervenção terapêutica durante a lactação.

Raza et al., (2013) relataram que 85% a 98,9% das estirpes, por eles avaliadas, produziram este biofilme, prejudicando a resposta imunológica dos animais e favorecendo a persistência da mastite subclínica. Silva (2012) considerou, ainda, a formação de abscessos na glândula mamária que dificultam o processo de cura e diminuem a produção leiteira. Características como a virulência de *Staphylococcus aureus* contribuem para a resistência deste microrganismo no tecido mamário. Dessa forma, ele pode causar infecções de longa duração com tendência para cronicidade, apresentando baixas taxas de cura (SABOUR et al. 2004).

Este microrganismo possui a capacidade de sobrevivência intracelular, assim, o antibiótico não atinge o foco da infecção (SILVA et al., 2012). Nesse sentido, esses animais portadores de mastite subclínica permanecem sem tratamento, porém participando das ordenhas, sendo fonte de contaminação e disseminação da doença no rebanho. A alternativa, nesse caso, seria o produtor buscar soluções naturais que possibilitem tratar a doença, porém sem gerar descarte do leite (ALMEIDA et al., 2011). Vale ressaltar também que o uso inadequado de antibióticos no tratamento pode gerar o surgimento de cepas microbianas resistentes (MEDEIROS et al., 2009).

A sensibilidade dos isolados microbianos foi determinada utilizando o teste de difusão e com observação de zonas de inibição em todas as diluições (Figura 4).

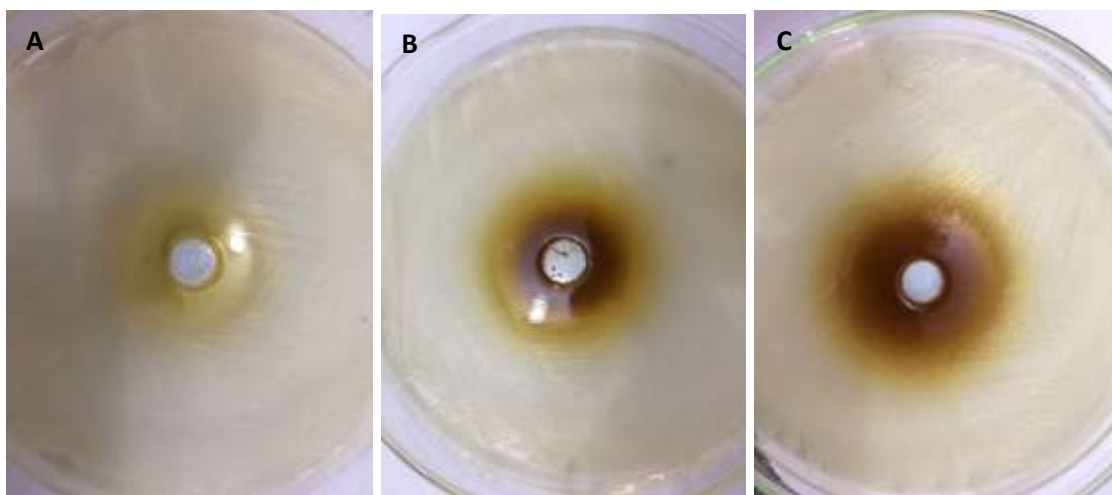


Figura 4: Formação de halos de inibição nas concentrações de 1% (A), 10% (B) e 50% (C) do extrato de romã contra *Staphylococcus coagulase* positivo.

Os valores medidos dos halos de inibição são encontrados na Tabela 1, onde observa-se aumento no diâmetro do halo de acordo com aumento da concentração. Entretanto, este aumento não é expressivo, o que sugere que a atividade possivelmente não seja aumentada de forma eficiente em diluições mais concentradas do extrato.

Tabela 1: Diâmetros dos halos de inibição observados ao teste de sensibilidade ao extrato de *Punica granatum* L.

Concentração do extrato	Diâmetro do halo de inibição (mm)
1%	21

10%	24
50%	26

A tendência de exigência de alto padrão de qualidade da produção do leite e seus derivados determina cada vez mais a busca por alternativas naturais de tratamento (Trevisan et al. 2009). Em consequência disso, a utilização de extratos de ervas medicinais tem sido encorajada nas diversas atividades da agropecuária (SOUZA et al. 2013). Os medicamentos fitoterápicos começam a ganhar cada vez mais espaço no tratamento veterinário. Nos últimos anos, o aumento pela procura de produtos orgânicos vem se intensificando. Além disso, a utilização de plantas medicinais, tais como a *Punica granatum* Linnaeus, testada neste estudo, vem cada vez mais sendo estimulada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), por ser acessível economicamente a grande parte da população.

Em torno de 80% da população dos países em desenvolvimento utiliza este tipo de medicamento (GALDINO et al. 2012; SOUZA et al. 2013). As plantas têm sido valorizadas como produtos naturais importantes para a manutenção da saúde humana, especialmente na última década, com a realização de muitos estudos sobre terapias naturais (CORRÊA et al., 2008). As propriedades terapêuticas dos princípios e medicamentos fitoterápicos começam a ganhar cada vez mais espaço no tratamento veterinário, e profissionais adeptos da fitoterapia revelam alta frequência de sucessos em tratamento de parasitoses e enfermidades infecciosas, inclusive em tratamentos de mastites (COSTA, et.al.,1985).

A amostra de *Staphylococcus* foi ainda testada frente três bases comerciais, conforme observa-se na Tabela 2. Das três bases testadas, a cepa foi resistente a duas, o que ressalta o potencial da utilização do extrato da romã no tratamento das infecções por *Staphylococcus*, uma vez que apresentou eficácia contra cepa que já apresenta multirresistência.

Tabela 2: Diâmetros dos halos de inibição mensurados utilizando-se discos de difusão comerciais e seu diâmetro padrão determinado pelas Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana (2002).

Base	Diâmetro do halo (mm)	Diâmetro para cepa sensível
Amoxicilina	12	>29
Gentamicina	23	≥16
Oxitetraciclina	7	≥19

Ao comparar as tabelas 1 e 2, é possível observar a eficácia obtida com o extrato de romã, visto que o halo de inibição a partir da diluição de 10% foi semelhante ao halo da única base comercial testada, para qual a cepa foi considerada sensível (Gentamicina). Este resultado demonstra provável eficácia do extrato contra cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva, superior até mesmo à de antimicrobianos químicos.

Em comparação com as demais bases utilizadas no teste controle, os diâmetros dos halos indicam que a bactéria é sensível ao extrato da romã, sugerindo que a sua utilização pode ser útil para o tratamento de infecções causadas por *Staphylococcus* spp. No presente estudo, todas as diluições do extrato apresentaram efeito sobre a cepa isolada, sendo necessários mais estudos para determinação da Concentração Inibitória Mínima. Os resultados sugerem que o extrato de *Punica granatum* L. exibe grande potencial para inibir o crescimento do *Staphylococcus* coagulase positivo e sua utilização em estudo para desenvolvimento de novos fármacos para tratamento da mastite bovina.

5. CONCLUSÃO

Os resultados observados neste trabalho indicam que o extrato hidro alcoólico de *Punica granatum* L. possui atividade antimicrobiana em diferentes concentrações sobre *Staphylococcus* coagulase positivo isolado em casos de mastite subclínica bovina. O extrato apresentou halos de inibição maiores que os formados por duas das três bases testadas de antimicrobianos comerciais, sugerindo assim seu

potencial para futuros trabalhos e desenvolvimento de novos fármacos para utilização clínica.

6. REFERÊNCIAS

ZAFALON LF, FILHO NA, OLIVEIRA BARBOSA, P. F.; PEDROSO, A. F.; NOVO, A. L. M.; RODRIGUES, A. A.; CAMARGO, A. C.; POTT, E. B.; SCHIFFLER, E. A, AFONSO, E.; OLOVEIRA, M. C. S.; TUPY, O.; BARBOSA, R. T.; LIMA, V. M. B. **Importâncias econômicas, Sistema de produção 4**: EMBRAPA Gado de Leite. 2010.

Brasil. Regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade coleta e transporte de leite. Instrução Normativa nº 051 de 18 de setembro de 2002, **Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília**. 2002.

BRIETZKE, A. L. Contribuição de células somáticas no controle de qualidade do leite: uma questão de saúde pública. **Monografia apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como trabalho de conclusão do curso de graduação em Zootecnia. Marechal Cândido Rondon**. p. 53. 2004.

BRITO, M.A.V.P.; BRITO.J.R.F. Avaliação da sensibilidade da cultura de leite do tanque para isolamento de agentes contagiosos da mastite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v,18. p.39-44.2002.

CASSOL, D.M.S, SANDOVAL, PERICALÉ, J.J. Introdução agentes da Mastite Diagnóstico e tratamento. **A Hora Veterinária**. v.29, nº175, p.27-31. Ribeirão Preto, 2010.

CLSI. Normas de desempenho para testes de sensibilidade antimicrobiana: 15º suplemento informativo Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicos/audes/manuais/clsi/clsi_OPASM100S15.pdf> Acesso em: 10/06/2017.

COSER, S. M.; LOPES, M. A.; COSTA, G.M.; **Mastite bovina: controle e prevenção**. 2012. 31f. Monografia (Especialização em Defesa Sanitária) Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras

COSTA, E. O.; RIBEIRO, A. R.; WATANABE, E. T.; SILVA, J. A. B.; GARINO JR., F.; BENITES, N. R; HORIUTI, A. M. Mastite subclínica: prejuízos causados e os custos de prevenção em propriedades leiteiras. **Revista Nappama**, São Paulo, v. 2, n. 2, p. 16-20, mar/abr. 1999.

FREITAS, M.F.L; PINHEIRO JUNIOR.J.W; Stampford. T.M.L.; Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *staphylococcus coagulase* positivos isolados de leite de vacas com mastite no agente do estado de Pernambuco. **arq. inst, biol.**, São Paulo. v.72. nº2, p.171-177. abr/jun. 2005.

GALDINO M.C., DOMINGUES P.F. & LAPENNA B.S.L. A produção de leite orgânico e aspectos de segurança alimentar. **Vet. Zootec.** v 19. p 490-501. 2012.

GOMES, MJP; Gênero *Staphylococcus* spp. **labacvet, UFRGS**, Porto Alegre. 2013.

JARDINI, F.A.; FILHO, J.M. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes de romã (*Punica granatum*, L.). **Ver Ciênc Farm Básica Apl.** 2007; 43 (1).

ISMAIL T., SESTILI P., AKHTAR S. Pomegranate peel and fruit extracts: A review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. **J. Ethnopharmacol.** 143. p 397-405. 2012

LEE C.J., CHEN L.G., LIANG W.L. & WANG C.C. Anti-inflammatory effects of *Punica granatum* Linne in vitro and in vivo. **Food Chemistry.** 118. p 315-322. 2010.

LEVY, S.B. Factors Impacting on the Problem of Antibiotic Resistance. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy.** v 49. p 25-30. 2002.

MEDEIROS, E.S. Perfil de sensibilidade microbiana in vitro de linhagens de *Staphylococcus* spp. isolados de vacas com mastite subclínica. **Pesq. Vet. Bras.** 2009;29(7):569-574.

MELLO, E.C.T, de. PEIXOTO, G.M.B MOREIRA.; I Congresso Paraense de Agroecologia, v.9,nº1. **Cadernos de agroecologia.** 2014.

MELLO P.E.C.T., JARDIM J.G., HEINZEN E.L., DOMINGUES P.F., PADOVANI C.R., OLIVEIRA O.R. Própolis no controle da mastite bovina. **Archs Vet. Sci.** v. 17, v.43-52. 2012.

MARTINS, E. Plantas Medicinais. **Viçosa: UFV.** p.162-163. 1995

Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação, (FAO). 2010

Raza A., Muhammad G., Sharif S. & Atta A. 2013. Biofilm producing *Staphylococcus aureus* and bovine mastitis: a review. **Molec. Microbiol. Res.** 3:1-8.

SÁ, M.E.P; CUNHA, M.L.R.S.; ELIAS, A.O.; VICTÓRIA.C. Importância do *staphylococcus áureos* nas mastite subclínicas: pesquisa de enterotoxinas e toxinas do choque tóxico, e a relação com a contagem de células somáticas. **Brasilian Journal of Veterinary Research and animals Science**, v.5, nº3, 284-290. 2011.

SABOUR P.M., Gill J.J., Lepp D., Pacan J.C., Ahmed R., Dingwell R. & Leslie K. 2004. Molecular typing and distribution of *Staphylococcus aureus* isolates in Eastern Canadian dairy herds. **J. Clin. Microbiol.** 42 :3449-3455.

SAEKI E.K., MELLO P.E.C.T., MATSUMOTO L.S., MARCUSSO P.F., MONTEIRO R.M. Mastite bovina por *Staphylococcus aureus*: sensibilidade às drogas antimicrobianas e ao extrato alcoólico de própolis. **Acta Vet. Bras.** v 5. p 284-290. 2012.

SILVA, E. R. D. Produção De Hemolisinas Por Staphylococcus Aureus Isolados De Casos De Mastite Bovina Subclínica. Acta Veterinária Brasilica, v. 6, n. 2, p. 118-123, 2012.

SOUZA C.M.P., BRANDÃO D.O., SILVA M.S.P., PALMEIRA A.C., SIMÕES M.O.S. & MEDEIROS A.C.D. Utilização de plantas medicinais com atividade antimicrobiana por usuários do Serviço Público de Saúde em Campina Grande-Paraíba. **Revta Bras. Plantas Mediciniais**. v 15. p 188-193.2013.

TOOZZETII D.S., BATAIER M.B.N., ALMEIDA L.R., PICCININ A. Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinos: revisão de literatura. **Revta Cient. Eletr. Med. Vet.** 2008. 6:10.

WERKMAN,C. GRANATO,D.C.KUBARY, W.D. Aplicações terapêuticas da *punica granatum* L. (romã). **Rev. Bras. de plantas medicinais**. v.10, nº3, p.104-111.2008.

WS Ataíde, JF Maciel, [PLA Lima](#), Avaliação microbiológica e físico-química durante o processamento do leite pasteurizado. **Rev. Inst. Adolfo Lutz** (Impr.) v.67 n.1 São Paulo abr. 2008.

JV, REZENDE FD. Mastite subclínica causada por Staphylococcus aureus: custo-benefício da antibioticoterapia de vacas em lactação. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**.2007;59(3):577- 585.

AVALIAÇÃO DA DOR PÓS-OPERATÓRIA DE CADELAS SUBMETIDAS À OVARIOSALPINGOHISTERECTOMIA PELO LINHA MÉDIA OU PELO FLANCO

Acadêmicas: Janaína Geralda Vieira Lage Richelle Fernandes Lima Costa Alves
Orientadora: Vanessa Guedes Pereira

RESUMO

A ováriosalpingohisterectomia é a técnica cirúrgica mais frequente em cadelas sendo realizada com o objetivo de evitar a reprodução e tratar algumas patologias. Objetivou-se avaliar a dor pós-operatória de cadelas submetidas à OSH pela linha média e pelo flanco. Foram utilizadas seis cadelas que foram divididas em dois grupos. Os animais foram pré-medicados com acepromazina e morfina, induzidos com propofol e a manutenção anestésica foi realizada com isoflurano. A avaliação da dor foi realizada através da escala visual analógica e pela escala de dor da Universidade de Melbourne no momento basal e até 12 horas após o término da cirurgia. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos experimentais com relação à frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura corporal e escores de dor. Os animais submetidos à OSH pelo flanco receberam maior número de resgate analgésico no período pós-operatório. A OSH pelo flanco promove menor necessidade de analgesia pós-operatória em cadelas pré-medicadas com acepromazina e morfina.

PALAVRAS-CHAVE: Analgesia, escala de dor, cães.

1- INTRODUÇÃO

A ovário salpingohisterectomia (OSH) é o procedimento cirúrgico mais frequente nas clínicas veterinárias. Sendo indicada para prevenir tumores mamários, ajudando ter um controle de natalidade, tratar patologias uterinas, vaginais e ovarianas (QUESSADA *et al.* 2009).

Existem várias técnicas cirúrgicas para a realização da OSH em cadelas. As vias de acesso mais utilizadas para realização desta técnica é celiotomia retro umbilical e pelo flanco, em cadelas e gatas, sendo a abordagem na linha média ventral a mais usual (RODRIGUES *et al.*, 2012).

A técnica realizada pelo flanco é uma técnica alternativa, na qual ocorre um menor trauma cirúrgico, quando comparado com a técnica realizada pela linha média além de menor riscos de evisceração, menor tempo de hospitalização, de estresse ao paciente e menor ocorrência de dor pós-operatório (RODRIGUES *et al.*2012).

Durante a OSH, a resposta inflamatória da ovariectomia acrescenta a liberação de prostaglandinas que estimulam os nociceptores, transformando em um processo doloroso, a sensação da dor após a intervenção cirúrgica ocorre devido à manipulação dos órgãos abdominais (BASSO *et al.* 2014).

A diminuição da dor pós-operatória e suas possíveis complicações constitui um dos grandes desafios do anestesiista veterinário. Em relação às técnicas apresentadas, são realizadas comparações da dor em diversos tipos de procedimentos, sendo um grande indicador do grau do bem-estar nas diferentes situações. Mesmo a dor estando ligada a intervenções cirúrgicas, durante o período pós-operatório também pode haver casos de sofrimentos, e com isso as sensações dolorosas podem evoluir para grau crônico (SILVA, 2013).

Além disso, a dor é um mecanismo de proteção, mas quando não corretamente tratada e diagnosticada ela passa de um mecanismo fisiológico para um mecanismo patológico, promovendo alterações de comportamento, como estresse, mudança de comportamento, alterações dos parâmetros vitais, podendo ocasionar reflexos negativos e ameaçando a estabilidade fisiológica (GAYNOR & MUIR, 2009).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a dor pós-operatória de cadelas submetidas à OSH pela linha média ou pelo flanco.

2- FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Fisiopatologia da dor

A dor é definida como uma sensação desagradável, e ela está associada também com dano tecidual real ou potencial. Esta definição é de uso limitado para os animais, pois depende de um auto relatório do animal capaz de apresentar essa sensação (POHL, 2014).

O processo nociceptivo se inicia quando determinado estímulo nocivo, pode ser químico, térmico, mecânico ou elétrico. Esses receptores são terminações nervosas livres das fibras A δ e C, eles podem ser encontrados nas extremidades dos nervos sensoriais, trabalhando como transdutores pela conversão do estímulo nociceptivo em um potencial de ação. Após os estímulos, os canais iônicos antes bloqueados se tornam aberto, a despolarização da membrana plasmática e geração

do potencial são ocasionadas pela transformação no influxo de sódio ou cálcio ao longo de um gradiente de difusão (SILVA, 2013).

Os sinais elétricos são transmitidos, na sequência de potenciais de ação, por neurônios aferentes dos tipos A δ e C em sentido ao corno dorsal da medula espinhal, onde ocorre a modulação. Os axônios das fibras nociceptivas aferentes entram na substância cinzenta do corno dorsal da medula espinhal, onde realizam a sinapse com Inter neurônios. O corno dorsal da medula espinhal é arranjado em seis lâminas, que acionam a informação sensorial (SILVA, 2013).

Sendo assim, formas críticas de dor procedem da perseverança dos impulsos aferentes, da perda de modulação inibitória descendente e da intensificação das células da glia ou micróglia. Ocorrendo a ativação e liberação de elementos intracelulares das células lesionadas, pode ocorrer ativação e aumentar a sensibilidade dos nociceptores periféricos (KLAUMANN *et al.*, 2008).

A dor pode ser classificada em fisiológica ou patológica. A dor fisiológica se refere à recepção de estímulos, pois depende dos receptores periféricos, sendo eles calor, frio, ou aspectos irritantes frios ou elétricos, um tipo de dor que o animal sente quando tocado, beliscado, ou pegado de maneira agressiva, sendo essa dor diretamente relacionada a retornos de reflexos de retirada. A dor patológica nem sempre existe a presença e resposta de estímulos, ela pode acontecer na ausência deles também, é com isso leva a uma resposta exagerada e prolongada. O processo agudo da dor patológica tal como na dor fisiológica, ocorre sobre proteção e com isso não utiliza a região afetada. Além disso, comportamentos não esperados (agressão ou fuga) são normais, mesmo com a utilização de fármacos analgésicos (MUIR, 2009).

2.2 Avaliação da Dor

Qualquer que seja a origem da dor, o médico veterinário deve começar com uma avaliação física cuidadosa para identificar qualquer área que cause desconforto e assim indicar uma tática para o tratamento. Os maiores desafios para o clínico, é a falta de ferramentas objetivas e simples para mensurar a dor animal. Contar com a ajuda e disposição do proprietário do animal é fundamental e muito importante, pois ele pode fornecer informações sobre o estado geral, o grau de atividade e conforto no dia-a-dia do paciente (MICH & HELLYER, 2009).

As alterações que podem indicar a presença de dor incluem vocalização, agitação, agressão, diminuição do apetite, e posturas anormais e claudicação (FIRTH & HALDANE, 1999).

Os vários sistemas e escalas viventes para a avaliação de dor envolvem o uso de métodos objetivos e individuais, não existindo um método padrão. A adequação dos métodos e a prática do médico veterinário tornarão a avaliação mais eficaz, permitindo o sucesso do tratamento e melhorando a qualidade de vida dos pacientes, inclusive aqueles acometidos por condições não cirúrgicas como osteoartrite, trauma e neoplasia óssea (POHL, 2011).

Existem muitas escalas de dor validadas e em uso mundialmente, portanto, a escolha e avaliação da dor no animal é realizada com base exatamente nos parâmetros já citados que se alteram durante um estímulo doloroso: fisiológicos (frequência cardíaca, frequência respiratória e pressão arterial) e comportamentais (mudanças na expressão facial, estado de sono e vigília, choro e movimentos corporais). Esta avaliação deve ser considerada de modo que o paciente receba as medidas necessárias para redução de seu sofrimento (MICH & HELLYER, 2009).

A escala de dor da Universidade de Melbourne compara respostas comportamentais e fisiológicas particulares, divididas em seis categorias ou parâmetros correlacionados com a dor, incluindo parâmetros fisiológicos, resposta à palpação da ferida cirúrgica, atividade, estado mental, postura e vocalização, aos quais são atribuídos valores numéricos de zero a três que indicam comportamento opostos a sinais de dor (valor zero); comportamento que não é oposto a sinal de dor, mas também não é indicativo de dor (valor um); comportamento indica dor ligeira ou moderada (valor dois) ou comportamento que indica dor intensa (valor três) (Horta *et al.*, 2014). A classificação final obtém-se com a somatória dos números atribuídos pelo observador a cada descrição, e ela pode ser classificada total mínima zero e a máxima total possível é 27 pontos (MICH & HELLYER, 2009).

As diversas categorias contam com diferentes observações comportamentais que esclarece o limite, a interpretação, e a propensão do observador, tem uma sensibilidade maior que outras escalas como EVA ou Escala categórica numérica ECN (GAYNOR & MUIR, 2009).

A escala visual analógica (EVA) trata-se de uma forma de pontuação semi objetiva empregado para quantificar a intensidade da dor (GAYNOR & MUIR, 2009). A EVA

compara-se numa linha reta de 100mm de dimensão que apresenta a intensidade da dor do paciente de acordo com o ponto marcado na escala, sendo que aparecendo valores variando, zero e 100mm, classificam, simultaneamente, a diminuição da dor ou o aumento da dor (HELLYER *et al.*, 2007, RIALLAND *et al.*, 2012).

3- METODOLOGIA

Este projeto foi submetido à Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Faculdade Vértice – UNIVÉRTX e foi realizado no Hospital Escola Gardingo, na Faculdade Vértice Univértix – Matipó. Os proprietários estavam cientes da participação dos seus animais no estudo e assinaram termo de livre consentimento.

3.1. Animais

Foram utilizadas seis cadelas, clinicamente sadias selecionadas a partir da avaliação clínica geral no pré-operatório, e normalidade dos exames laboratoriais: hemograma completo, dosagem de ureia, creatinina, alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST).

3.2. Período pré-operatório e protocolo anestésico

Previamente ao procedimento cirúrgico os animais foram submetidos em jejum alimentar por 8 horas e jejum hídrico por 4 horas e foram acomodadas em gaiolas individuais para aclimação com o ambiente até o momento do preparo anestésico.

Foram avaliados os parâmetros basais (T0), incluindo frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura corporal (TC), e avaliação da dor com a EDUM e EVA. Os pacientes receberam medicação pré-anestésica (MPA) Acepromazina 0,2% (0,04 mg/kg) associada à Morfina 1% (0,4 mg/kg) intramuscular, em seguida foi realizada tricotomia da região abdominal ventral, flanco esquerdo e direito e a região da veia cefálica. A cateterização foi realizada na veia cefálica, com cateter 20G e administração da fluido terapia com ringer lactato na taxa de 10mL/kg/h.

Em seguida, foi realizada a indução anestésica com propofol na dose de 2mg/kg intravenoso até a perda dos reflexos palpebrais, para intubação orotraqueal. Imediatamente a intubação, a sonda endotraqueal com cuff foi conectada ao circuito circular valvular para a administração de isoflurano diluído em 100% de oxigênio por

meio de vaporizador calibrado, sendo este ajustado para a manutenção do plano anestésico compatível com o procedimento cirúrgico. Os animais foram mantidos em ventilação mecânica para a manutenção da normocapnia e foram aquecidos com colchão térmico. Durante todo o procedimento cirúrgico, os animais foram monitorados com monitor multiparamétrico avaliando-se frequência cardíaca (FC), eletrocardiograma, saturação de oxihemoglobina (SpO₂), e pressão arterial não invasiva pelo método oscilométrico, capnografia e temperatura retal (TR).

3.3. Avaliação da dor pós-operatória

Os escores de dor foram obtidos uma hora após a extubação (T1) e 2, 4, 6, 8 e 12 horas após o término do procedimento cirúrgico (T2, T3, T4, T5, T6 e T7, respectivamente). As características comportamentais dos animais foram avaliadas desde a consulta pré-operatória antecedente ao estudo para evitar que comportamentos característicos dos animais fossem interpretados como sinais de dor.

A dor foi avaliada através da “Escala de dor da Universidade de Melbourne” - EDUM (Quadro 02), segundo adaptação de Mich & Hellyer (2009) e pela Escala Analógica Visual (EAV). Na EDUM, os parâmetros fisiológicos e comportamentais são pontuados através de escores que podem somar entre 0 a 27 pontos, no qual zero representa “ausência total de dor” e 27 “dor máxima possível”. A avaliação da dor pós-operatória foi realizada em três etapas. Primeiramente, o animal foi observado em frente à gaiola onde ficaram acomodados. Em seguida, a porta da gaiola foi aberta e foi observada a reação do animal na presença do avaliador. Na última etapa da avaliação, o animal foi, de forma sequencial, chamado pelo nome, encorajado a se levantar e andar pelo recinto para então ser manipulado pelo avaliador.

Os animais que apresentaram escores de dor igual ou superior a nove pontos na EDUM ou receberam analgesia suplementar com o tramadol na dose de 5mg/kg por via intramuscular. Também foi anotado o número de vezes em que foi realizada a analgesia suplementar em cada grupo.

Quadro 1: Escala de Dor da Universidade de Melbourne, adaptado de Mich & Hellyer, 2009.

Categoria	Descritor	Escore
1-Dados fisiológicos		
a.	Dados fisiológicos dentro da margem de referência	0
b.	Pupilas dilatadas	2
c. Escolha somente uma.	Aumento percentual da frequência cardíaca em relação à taxa pré-procedimento	
	>20%	1
	>50%	2
	>100%	3
d. Escolha somente uma	Aumento percentual da frequência respiratória em relação à taxa pré-procedimento	
	>20%	1
	>50%	2
	>100%	3
e.	Temperatura retal excede a margem de referência	1
f.	Salivação	2
2. Resposta à palpação (escolha somente uma)	Sem alteração do comportamento pré-procedimento	0
	Protege-se/Reage* quando tocado	2
	Protege-se/Reage* antes de ser tocado	3
3. Atividade	Em repouso:	
	Dormindo	0
	Semiconsciente	0
	Acordado	1
	Comendo	0
	Inquieto (movimenta-se continuamente, levantando e baixando).	2

	Rolando, movimentando-se violentamente.	3
4. Estado mental (escolha somente uma)	Submisso	0
	Abertamente amigável	1
	Cauteloso	2
	Agressivo	3
5. Postura		
a.	Guarda ou protege a área afetada (inclui posição fetal)	2
b. Escolha somente uma.	Decúbito lateral	0
	Decúbito esternal	1
	Sentado ou em estação, cabeça para cima.	1
	Em estação, cabeça para baixo.	2
	Movimentando-se	1
	Postura anormal (Ex: posição de oração ou com o dorso curvado)	2
6. Vocalização # (escolha somente uma)	Nenhuma vocalização	0
	Vocaliza quando tocado	2
	Vocaliza intermitente	2
	Vocalização contínua	3
<p>O escore total mínimo possível é 0 e o escore de dor máximo possível é 27 pontos. *Inclui virar a cabeça em direção à área afetada, morder, lambendo ou coçar a ferida; morder o manipulador ou musculatura tensa e uma postura de proteção. # Não inclui latido de alerta.</p>		

3.4. Liberação dos animais após o estudo

Após o último momento de avaliação (12 horas após o término do procedimento cirúrgico), os animais receberam tramadol na dose de 5mg/kg administrado por via subcutânea, independente do escore de dor atribuído em T7. Foi prescrito aos animais Dipirona na dose de 25mg/kg por via oral, a cada 8 horas,

por três dias. Todos os animais retornaram ao hospital veterinário com cerca de 10 dias após o procedimento cirúrgico para a retirada dos pontos.

3.5 Análise estatística

Para verificar a normalidade dos dados, foi realizado o teste Shapiro-Wilk. Os dados foram submetidos ao teste *Two Way Repeated Measures ANOVA* para a comparação entre os grupos experimentais e os tempos de avaliação dentro de cada grupo. Havendo diferença estatística foi aplicado o teste de Tukey.

Para avaliação dos escores de dor, foi realizado o teste não paramétrico Kruskal-Wallis e havendo diferença estatística, foi realizado o teste Student-Newman-Keuls. 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 DISCUSSÃO

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

Tabela 1: Média e desvio padrão da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal (TR) de cadelas pré-medicadas com acepromazina e morfina, anestesiadas com propofol e isoflurano e submetidas à OSH pela linha média (G1) ou pelo flanco (G2).

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T8
FC								
G1	106±29 Aa	118±45 Aa	101±11 Aa	94±14 Aa	91±3 Aa	90±4 Aa	90±12 Aa	101±1 Aa
G2	120±24 Aa	125±23 Aa	100±3 Aa	96±22 Aa	100±31 Aa	102±24 Aa	101±16 Aa	105±17 Aa
FR								
G1	70±29 Aa	36±13 Aa	37±15 Aa	37±16 Aa	34±14 Aa	37±12 Aa	30±13 Aa	40±0 Aa
G2	41±6 Aa	33±14 Aa	27±10 Aa	41±20 Aa	27±10 Aa	33±10 Aa	34±9 Aa	32±9 Aa
TR								

G1	38±0,4 Aa	36±0,1 Aa	38±0,7 Aa	37±0,7 Aa	37±0,4 Aa	37±0,3 Aa	37±0,1 Aa	38±0,3 Aa
G2	38±0,3 Aa	36±0,9 Aa	37±0,4 Aa	37±0,8 Aa	37±0,7 Aa	38±0,3 Aa	37±0,7 Aa	37±0,2 Aa

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

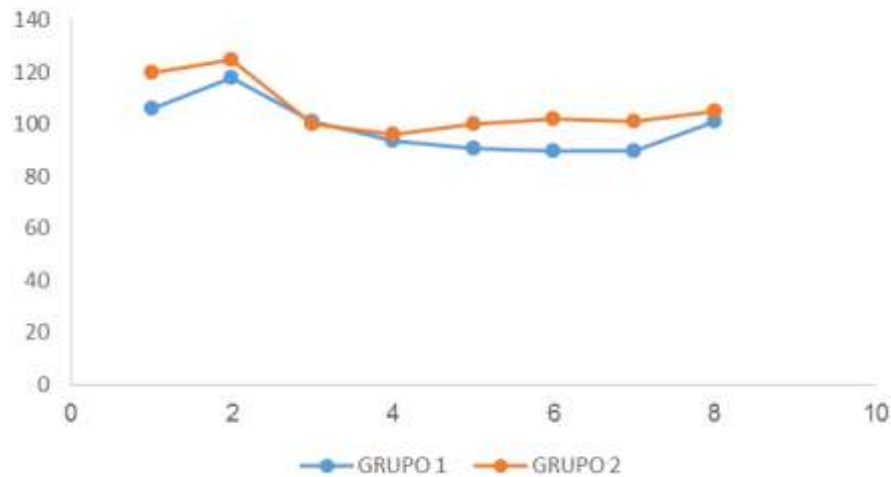


Figura 1: Valores médios da FC (bpm) de cadelas pré-medicadas com acepromazina e morfina, anestesiadas com propofol e isoflurano e submetidas à OSH pela linha média (G1) ou pelo flanco (G2).

Com relação à FC não houve diferença significativa na comparação entre os grupos experimentais, nem ao longo do tempo dentro de cada grupo, sendo que este parâmetro se manteve dentro dos padrões fisiológicos para a espécie que, segundo Feitosa (2014), varia de 60 a 160 batimento por minuto. Este resultado demonstra que, mesmo que alterações na frequência cardíaca possam ser mais fidedignas se associadas às alterações comportamentais, os parâmetros fisiológicos isoladamente não são específicos para diferenciar dor de ansiedade e medo, pois estas condições podem influenciar o sistema cardiovascular. Além disso, o uso da morfina na medicação pré-anestésica pode ter influenciado o resultado deste parâmetro, pois, segundo Kukanish (2011) a frequência cardíaca é afetada por fármacos analgésicos como opioides e agonistas α_2 , que pode diminuir a frequência cardíaca independente dos efeitos analgésicos promovidos por estes fármacos.

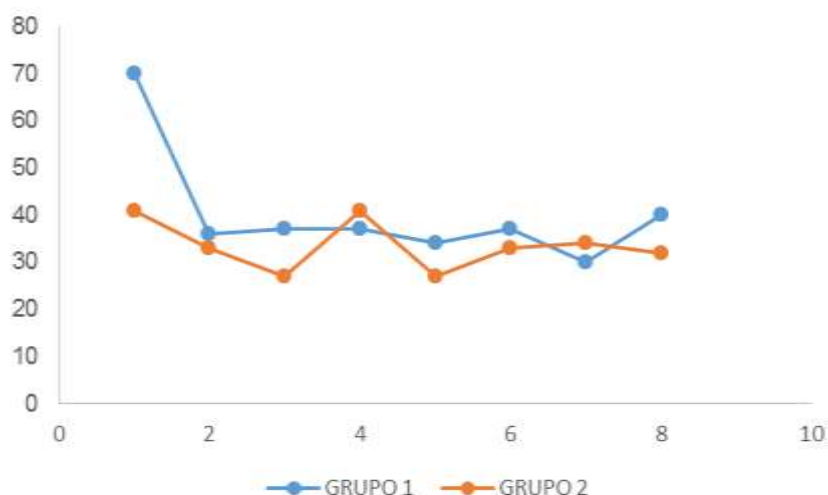


Figura 2: Valores médios da FR (mpm) de cadelas pré-medicadas com acepromazina e morfina, anestesiadas com propofol e isoflurano e submetidas à OSH pela linha média (G1) ou pelo flanco (G2).

Não houve diferença estatística na avaliação da frequência respiratória, no entanto, as maiores médias deste parâmetro foram observadas no momento basal, o que pode ser explicado devido ao estresse, contenção e preparo inicial dos animais. Comassetto *et al.*, (2017) cita que o estresse causa um grande desequilíbrio funcional levando ao animal apresentar alterações de postura e no comportamento, como agressividade, por exemplo, por este motivo é de grande importância acomodar-se o animal ao ambiente hospitalar, contribuindo na mensuração dos parâmetros fisiológicos, tanto no período pré-operatório como no pós-operatório.

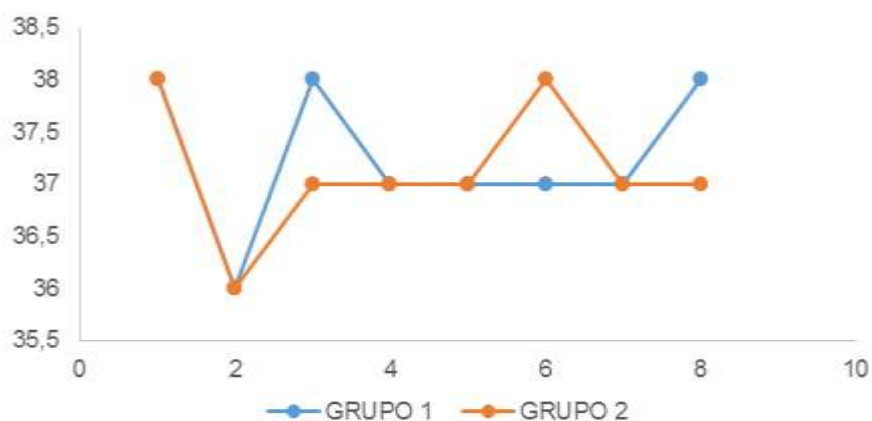


Figura 3: Valores médios da TR (°C) de cadelas pré-medicadas com acepromazina e morfina, anestesiadas com propofol e isoflurano e submetidas à OSH pela linha média (G1) ou pelo flanco (G2).

Não foram observadas diferença significativa na avaliação da temperatura retal dos animais do estudo, porém, em ambas as técnicas cirúrgicas, ocorreu menor média deste parâmetro em T1, sendo o período após a extubação, que pode ser explicado devido ao efeito de alguns fármacos utilizados na anestesia. A ocorrência de hipotermia é comum quando opioides são usados durante a MPA, na presença de outras drogas depressoras do sistema nervoso central (LAMONT *et al.*, 2000). Além disso, fármacos como a morfina, acepromazina e anestésicos gerais, como os utilizados neste trabalho, promovem redução de temperatura devido à ação vasodilatadora e depressora dos mecanismos de termorregulação do hipotálamo (FREITAS *et al.*, 2008), levando a uma redução na temperatura quando comparada a animais não anestesiados (VANNI, BRAZ, 1999; BIAZZOTTO *et al.*, 2006).

Na avaliação da dor pós-operatória, optou-se pela avaliação da dor com o auxílio da EDUM e EAV, para detectar de forma mais objetiva a sensação de dor, por ser uma tarefa difícil devido à incapacidade dos animais de informar verbalmente a ocorrência de dor, e que não os impede de sentir (COMASSETTO *et al.* 2017).

Na EDUM os escores de dor são baseados em dois fatores, sendo eles, categorias comportamentais e parâmetros fisiológicos relacionados à dor, como por exemplo, resposta á palpação da ferida cirúrgica, postura, estado mental, vocalização e dados fisiológicos (CASTRO, 2011). Os animais que obtiveram valores igual ou superior a nove receberam resgate analgésico.

Embora os escores de dor da EDUM e EAV não apresentaram diferença significativa entre os grupos experimentais (Tabela 2), no grupo 1 foram realizados oito resgates analgésicos nos momentos T3 até T6, enquanto que no grupo 2, foram realizados somente três regates analgésicos em T1, T2 e T3.

Tabela 2: Mediana quartil inferior e superior dos escores de dor utilizando a Escala analógica visual (EAV) e a Escala de dor da Universidade de Melbourne (EDUM) de cadelas pré-medicadas com acepromazina e morfina, anestesiadas com propofol e isoflurano e submetidas à OSH pela linha média (G1) ou pelo flanco (G2).

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T8
EAV	0	50	60	50	40	40	20	30
G1	0-0	20-60	40-60	50-70	30-50	20-40	10-40	20-30
	Ab	Aa	Aa	Aa	Aa	Aa	Aa	Aa

	0	20	30	50	40	30	40	30
G2	0-0	20-40	50-50	50-50	30-40	50-40	40-30	30-40
	Ab	Aa	Aa	Aa	Aa	Aa	Aa	Aa
EDUM								
	0	7	12	12	8	7	6	4
G1	0-0	4-8	9-13	4-13	5-10	4-13	5-16	4-6
	Aa	Ab	Ac	Ac	Ac	Ac	Aa	Aa
	0	4	8	9	6	6	5	4
G2	0-0	4-10	4-9	9-10	4-7	4-6	5-6	4-7
	Aa	Aa	Aa	Aa	Aa	Aa	Aa	Aa

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

Estudos empregando diferentes escalas para a avaliação da dor pós-operatória em cães (PEKCAN & KOC, 2010; VETTORATO & BACCO, 2011) realizaram suplementação analgésica quando o escore de dor atingisse 50% do valor máximo da escala. No entanto, conforme metodologia utilizada no presente estudo, outros autores também realizaram resgate analgésico com pontuações mais baixas, com cerca de 35% (BRONDANI *et al.*, 2009; BOSMAN *et al.*, 2012; SANTOS, *et al.*, 2015). Além disso, de acordo com MURRELL (2008), estados de dor subjetivamente classificados como discretos e moderados estão associados a escores medianos de, aproximadamente, três e cinco, respectivamente, em uma escala de zero à dez. Por este motivo, a pontuação de mínima de 33% utilizada no presente trabalho, representa a transição da dor leve para dor moderada, o que justifica a realização de suplementação analgésica.

As categorias da EDUM que mais pontuaram foram em relação à resposta à palpação e à vocalização. Para a resposta à palpação, os animais tomavam uma postura defensiva e até agressiva durante o toque da ferida, podendo até tentar morder. Já na avaliação da vocalização, os animais apresentavam-se vocalizando quando estimulados ou vocalizando de forma intermitente. COMASSETTO *et al.* (2017) citam que a vocalização é um indicador individual mais importante para a avaliação de dor pós-operatória em cães.

No presente trabalho a suplementação analgésica foi realizada de acordo com os escores atribuídos na EDUM, sendo comparadas posteriormente, com as

pontuações da EAV. A avaliação da dor com esta escala é resultante da necessidade de um avaliador interpretar comportamentos de dor no paciente e saber distinguir os sinais clássicos da sedação ou excitação, em relação aos sinais dolorosos. Por isso, é de grande importância que o avaliador tenha agilidade na avaliação, diminuindo a interferência de fatores externos e reconheça as respostas comportamentais e fisiológicas (COMASSETTO *et al.* 2017). Caso fosse utilizado o mesmo critério para resgate analgésico na EDUM (escores de dor maiores que 33%) 14 animais do G1 e 13 animais do G2 receberiam resgate analgésico. Este resultado demonstra que, apesar da facilidade de uso como mecanismo quantitativo de avaliação da dor, fatores inerentes ao observador podem afetar a precisão desta escala, corroborando com MICH & HELLYER (2009) que destaca que a inclinação do observador pode superdiagnosticar a dor.

5- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base, no presente estudo, podemos concluir que a técnica cirúrgica OSH pelo flanco, promove menor ocorrência de dor no período pós-operatório por até 12 horas, necessitando de menor requerimento analgésico, em comparação a técnica pela linha média em cadelas pré-medizadas com acepromazina e morfina.

E o uso de escalas objetivas para avaliação da dor aguda pós-operatória em cães, demonstraram ser mais eficiente e a obter bons resultados em relação às respostas fisiológicas e visuais de escalas subjetivas.

6. REFERÊNCIAS

- BASSO, P.C, RAISER, A. G, BRUN, M.V, MÜLLER, D.C.M, LUKARSEWSKI4.R, SERAFINI,G.M.C,FREITAS,C.G,DUTRA,L.H,MARCONATO,F.
Ováriossalpingohisterectomia em cadelas: comparação da dor e análises cardiorrespiratória, pressórica e hemogasométrica nas abordagens convencional, por NOTES híbrida e NOTES total. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.66, n.5, p.1329-1338, 2014.
- BIAZZOTTO, C. D. BRUDNIEWSKI, M.; SCHMIBT, A.; AULER JÚNIOR, J. O.C.; Hipotermia no período pré-operatório. **Rev Bras Anesthesiol.**v.56, p89-106. 2006.

BOSMAN, T.; PIRON, K. OOSTERLINCK, M. GASTHUYS, F. DUCHATEAU, L. WAELBERS, T. SAMOY, Y. VYNCKT, D. V. POLIS, I. Comparison of analgesic efficacy of epidural methadone or ropivacaine/methadone with or without pre-operative oral tepoxalin in dogs. undergoing tuberositas tibiae advancement surgery. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**.v.39, p618–627, 2012.

BRONDANI, J. T.; LUNA, S. P. L.; BEIER, S. L.; MINTO, B. W.; PADOVANI, C. R. Analgesic efficacy of perioperative use of vedaprofen, tramadol or their combination in cats undergoing ovariohysterectomy. **Journal Feline Med Surg**, v.11, p. 420-429, 2009.

CASTRO, G. A. **Dor perioperatória em animais de companhia: fisiopatologia, avaliação e controle**. Belo Horizonte,55f.2011 Monografia apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

COMASSETTO, F. Rosa, L. RONCHI, S.J. FUCHS, K, B.D. REGALIN, B. D, REGALIN, D. PADIHA, V OLESKOVICZ, N. Correlação entre as escalas analógica visual, de Glasgow, Colorado e Melbourne na avaliação de dor pós-operatória em cadelas submetidas à mastectomia total unilateral. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v.69, n.2, p.355-363, 2017.

FIRTH, A.M.; HALDANE, S.L. Development of a scale to evaluate postoperative pain in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.214, p.651-659, 1999.

FEITOSA, F. R.F.; **Semiologia Veterinária: A arte do diagnóstico**. 3. Ed. São Paulo: Roca, 2014.

FREITAS, G.C, CARREGARO, B.A, LOPES, C, TAMIOZZO, F.S, CRUZ, F.S. F, FESTUGATTO, R, MAZZANTI, A. analgesia trans e pós-operatório da morfina ou fentanil por via epidural em cães submetidos à biopsia atlanto-axial. **ARQUIVO BRASILEIRO MEDICINA VETERINARIA**, Jaboticabal, SP, v.24, n.2,p103-109, 2008.

GAYNOR, S.J.; MUIR, W.W. **Manual de controle da dor em Medicina Veterinária**. Segunda edição. São Paulo. Med Vet,p. 614,2009

HELLYER, P.W.; ROBERTSON, S.A.; FAILS, A.D.; TRANQUILLI, W.J.; THURMON, J.C.; GRIMM, K.A **Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia**, 4th ed. Iowa: Blackwell Publishing, cap. 3, p. 31-57,2007.

HORTA, R.dos. H.; FUKUSHIMA,F.B. Avaliação da nocicepção em cães e gatos. Enciclopédia biosfera, **Centro Científico Conhecer** - Goiânia, v.10, n.18; p.138-148 ,2014.

KLAUMANN, P. R.; WOUK, A. F. P. F. ; SILLAS, T. Patofisiologia da dor. **Archives of Veterinary Science**, v. 13, n.1, p.1-12, 2008.

KUKANICH, B. Analgesia and assessment in veterinary research and clinical trials. **The Veterinary Journal**, v.188.p.1-2 2011.

LAMONT, L. A.; TRANQUILLI, W. J. Physiology of Pain. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. Philadelphia: Saunders, v.30, n.4, p. 703-728, 2000.

MICH, P. M.; HELLYER, P. W. Métodos objetivos e categóricos para avaliar a dor e Analgesia. In: GAYNOR, J. S.; MUIR III, W. W. Manual de Controle da dor em Medicina Veterinária. 2 ed. São Paulo: Medvet, 2009, p.78-109.

MUIR, W.W. **Physiology and pathophysiology of pain**. In: Gaynor JS, Muir WW, editors. Handbook of veterinary pain management. 2nd edition, Mosby Elsevier, St Louis, p. 14, 2009.

MURRELL, J. C. et al. Application of a modified form of the Glasgow pain scale in a veterinary teaching centre in the Netherlands. **The Veterinary Record**, v. 162, n. 13, p. 403-408, 2008.

POHL, H. V., **Analgesia pós-operatório da dipirona em cadelas submetidas á ovariohisterectomia convencional ou videoassistida**. Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Cirurgia Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS). Rio Grande do Sul, 2014.

QUESSADA, A.M.; SOUSA, A.A.R.; COSTA, A.P.R.; SOUSA, A.A.S.; ROCHA, R.R.C. Comparação de técnicas de ovariosalpingohisterectomia em cadelas. **Acta Scientiae Veterinariae**. V. 37(3) p. 253-258. 2009.

RIALLAND, P.; AUTHIER, S.; GUILLOT, M.; DEL CASTILLO, J.R.E.; VEILLEUXLEMIEUX, D., FRANK, D.; GAUVIN, D.; TRONCY, E. Validation of orthopedic postoperative pain assessment methods for dogs: a prospective, blinded, randomized, placebo-controlled study. **Plos One**, v.7, n.11, 2012.

RODRIGUES, C. M; COELHO, C. O. C.M.; QUESSADA, A. M.; LIMA, D. A. D.; SOUSA, de M. J; CARVALHO, D. C. C.; Ovariosalpingohisterectomia em cadelas: Comparação entre a técnica de tração uterina por via vaginal associada à celiotomia pelo flanco e a abordagem ventral mediana. **Revista Portuguesa de ciências veterinária**. p. 1-8, 2012.

SANTOS, L.C.C. FERNANDES, R. V. SEPULVEDA, R.V. PEREIRA, V. G. ELEOTÉRIO, R.B. FAVARATO, L.S. C Eletroacupuntura na analgesia trans. e pós-operatória de cadelas submetidas à ovariosalpinhiterectomia. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**., v.67, n.6, p.1554-1562,2015.

SILVA, J.A. R. **Métodos de avaliação clínica da dor aguda em cães**.Goiânia,41f.2013. Seminário apresentado à disciplina de Seminários Aplicados do Curso de Pós-graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás.

VANNI, S.M. BRAZ, J. R. Hipotermia perioperatoria: Novos conceitos. **Revista Brasileira Anestesiologia**, v.49, p.360-367,1999

VETTORATO, E. BACCO, S. A comparison of the sedative and analgesic properties of pethidine (meperidine) and butorphanol in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 52, p.426-432, 2011.

AVALIAÇÃO DE BETA-HIDROXIBUTIRATO SANGUÍNEO PARA DIAGNÓSTICO DE CETOSE SUBCLÍNICA EM VACAS DE ALTA PRODUÇÃO

Acadêmicos: João Pedro Mendes de Almeida e Nathan Vinícius Guimarães

Orientador: Paulo César Amorim e Amorim

RESUMO

A cetose é uma doença metabólica que acomete vacas de elevada produção de leite, gerando um grande impacto sobre a saúde e produtividade dos animais acometidos. Essa afecção é definida como uma desordem no metabolismo dos carboidratos ocasionando um aumento dos níveis de corpos cetônicos na corrente sanguínea. O diagnóstico da cetose subclínica é baseado na determinação de corpos cetônicos no sangue, leite ou urina. O betahidroxibutirato (BHB) pode ser mensurado no sangue utilizando-se o aparelho portátil *Freestyle Optium Neo*. Níveis inferiores a 1,2 mmol/L são considerados normais em vacas de alta produção. Valores entre 1,2 e 3 mmol/L são indicativos de cetose subclínica. Este trabalho teve como objetivo avaliar a ocorrência de cetose subclínica em vacas de alta produção nos municípios de Mátipo e Itutinga. Foram avaliadas 26 vacas com produção de leite entre 25 e 48L/animal/dia. Dos animais pesquisados apenas uma vaca foi diagnosticada com cetose subclínica. Os outros 25 animais tinham histórico de elevado escore de condição corporal ao parto, contudo, não apresentaram um balanço energético negativo tão intenso para o desencadeamento da mobilização excessiva de reservas corporais e cetose.

PALAVRAS-CHAVE: Balanço energético negativo; Beta-hidroxibutirato; Cetose subclínica.

1. INTRODUÇÃO

A produção de leite no Brasil está aumentando gradativamente nos últimos anos. De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o Brasil apresentou um aumento de 54% na produção leiteira entre os anos de 2003 a 2013. No ano de 2012 os estados do Sul e Sudeste participaram com 69% da produção leiteira nacional, segundo informações do IBGE. O Brasil situa-se na quinta posição no ranking de produção mundial de leite com 33,3 bilhões de litros. De acordo com dados disponibilizados pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), o maior produtor de leite no ano de 2014 foi a União Europeia com 144,7 bilhões de litros produzidos, seguido da Índia com 141,1 bilhões de litros, dos Estados Unidos com 93,1 bilhões de litros e quarto lugar a China com 38,5 bilhões de litros (MEZZADRE, 2014).

Em função da crescente eficiência produtiva dos rebanhos brasileiros, a ocorrência de doenças metabólicas como a cetose, hipocalcemia e acidose ruminal tem aumentado em rebanhos leiteiros especializados. A cetose é uma doença metabólica que acomete vacas de leite, gerando um grande impacto sobre a saúde e produtividade dos animais. Essa afecção é definida como uma desordem no

metabolismo de carboidratos ocasionando um aumento nos níveis de corpos cetônicos na corrente sanguínea e acomete principalmente vacas de alta produção (SOUZA *et al.*, 2015). O período de transição compreende o intervalo entre 20 dias antes do parto e 20 dias após o parto e representa um grande desafio em função das alterações hormonais e metabólicas. Nessa fase há um aumento expressivo na demanda de nutrientes, para produção de leite associado à diminuição no consumo de matéria seca (CMS) (ALVARENGA *et al.*, 2015). Com isso há insuficiente aporte nutricional que induz a mobilização de reservas corporais (RABELO & CAMPOS, 2009). O déficit energético entre a energia ingerida através dos alimentos e a energia utilizada pelo organismo para manutenção e produção caracteriza o balanço energético negativo (BEN) (BAUMGARD *et al.*, 2006).

A cetose pode ser classificada como clínica ou subclínica, como primária ou secundária, segundo etiologia, o curso da doença e os sinais clínicos (CAMPOS *et al.*, 2005).

O diagnóstico laboratorial da cetose subclínica é baseado na determinação de corpos cetônicos no sangue, na urina ou no leite. Em função de sua solubilidade no plasma, estes são filtráveis e passam facilmente para a glândula mamária. O aceto acetato e a acetona são muito voláteis e por isso, os testes que demandam mais tempo para serem realizados devem ser específicos para mensuração de beta-hidroxibutirato (BHB) (ALVARENGA, 2013). Em função dos prejuízos relacionados a esta doença nos rebanhos leiteiros, este trabalho tem como objetivo avaliar a ocorrência de cetose subclínica em vacas de alta produção bem como as consequências associadas a esta patologia.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Segundo Schein (2012), a cetose é um transtorno metabólico que acomete vacas de alta produção nas primeiras semanas de lactação devido a hipoglicemia associada ao BEN. Sabe-se que a elevada condição corporal ao parto aumenta o risco de cetose, devido ao menor consumo de alimentos e maior mobilização de reservas corporais (CAMPOS *et al.*, 2005; NANTES, 2008; SOUZA *et al.*, 2015).

A doença acomete principalmente vacas estabuladas sendo menos frequente em animais mantidos em pastejo (SCHEIN, 2012). É uma afecção de etiologia

multifatorial que tem como principais fatores predisponentes o desequilíbrio nutricional, condições ambientais desfavoráveis e doenças infecciosas. Raças leiteiras especializadas como jersey e holandesa são mais susceptíveis (RABELO E CAMPOS, 2009; SCHEIN, 2012; ALVARENGA, 2013).

A cetose subclínica no Brasil está descrita em rebanhos de alta produção, podendo acometer de 10 a 34% das vacas em lactação, superando a incidência de cetose clínica. O ideal para esta patologia seria incidência menor do que 5% uma vez que a cetose pode trazer prejuízos econômicos significativos. A cetose clínica possui baixa incidência e esta relacionada a fatores inerentes ao animal e ao ambiente onde ele se encontra (LE MOSQUET *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2011; ALVARENGA, 2013).

Os primeiros 60 dias de lactação representam o período crítico para ocorrência de cetose, especialmente as primeiras 4 semanas após o parto. Nesta fase há uma elevada exigência nutricional para produção crescente de leite que não é acompanhada pelo consumo de alimentos (CAMPOS *et al.*, 2005; RABELO & CAMPOS, 2009; SCHEIN, 2012).

O período de transição é um momento crítico para as vacas de alta produção e compreende o intervalo entre 20 dias antes do parto e 20 dias após o parto. Nesta fase ocorre uma série de alterações metabólicas e hormonais associadas ao final da gestação e início da lactação que estão relacionadas a um menor consumo de alimentos e imunossupressão (NANTES, 2008; RABELO E CAMPOS, 2009; ALVARENGA *et al.*, 2015). Como consequência, há uma maior susceptibilidade a doenças metabólicas e infecciosas nesta fase (CAMPOS *et al.*, 2005; SCHEIN, 2012; ALVARENGA, 2013).

Vacas de alta produção nas primeiras semanas de lactação podem apresentar BEN devido a alta exigência nutricional que não é acompanhada pelo consumo satisfatório de matéria seca. Mudanças fisiológicas comumente associadas ao BEN são fatores que estão intimamente ligados a ocorrência de cetose devido a maior mobilização de tecido adiposo para produção de energia. Essas alterações também podem gerar um impacto negativo no sistema imunológico, aumentando a susceptibilidade para ocorrência de doenças infecciosas como mastite, metrite e retenção de placenta (CAMPOS *et al.*, 2005; RABELO & CAMPOS, 2009; SCHEIN, 2012; ALVARENGA, 2013; ALVARENGA *et al.*, 2015).

Em decorrência de uma série de alterações hormonais no período final de gestação as vacas leiteiras passam por uma queda nas concentrações plasmáticas de insulina, com picos agudos no dia do parto (SCHEIN, 2012; ALVARENGA, 2013). É observado em ruminantes na fase final da gestação certa resistência à insulina. Tal evento ocorre devido a menor sensibilidade à insulina por várias vias metabólicas associadas com a utilização de glicose no organismo e resposta à insulina diminuída em decorrência da lipólise e mobilização de ácidos graxos não esterificados (AGNE) (SCHEIN, 2012; ALVARENGA, 2013).

No período entre o parto e o pico de lactação a demanda de glicose é elevada e não consegue ser totalmente suprida. No entanto, os estímulos hormonais para produção de leite superam a menor ingestão de matéria seca ocasionando a mobilização de reservas corporais para produção de energia e conseqüentemente perda de peso (NANTES, 2008; MARKANTONATOS *et al.*, 2011).

Em função da redução nos níveis de glicose circulantes, AGNE e ácidos graxos livres (AGL) são liberados do tecido adiposo pela influência da baixa relação entre a insulina e o glucagon na corrente sanguínea e sobre ação da concentração elevada de somatotropina, aumentando a produção de corpos cetônicos (SCHEIN, 2012; ALVARENGA, 2013).

Em média, 50% das necessidades de glicose das vacas são supridas pela síntese de propionato no rúmen, que é convertido em glicose através da gliconeogênese. O lactato e aminoácidos também participam da síntese de glicose hepática. A redução na gliconeogênese hepática desencadeia a mobilização de AG no tecido adiposo (NANTES, 2008; MARKANTONATOS *et al.*, 2011; SCHEIN, 2012; ALVARENGA, 2013; ALVARENGA *et al.*, 2015).

As vacas lactantes necessitam de grandes quantidades de propionato e lactato para a produção de lactose. A utilização de glicose periférica excede a produção de glicose hepática, resultando em hipoglicemia. A hipoglicemia, nestas circunstâncias, deve conduzir a uma diminuição da concentração plasmática de insulina e aumento nos níveis de glucagon. Os níveis baixos de insulina e altos de glucagon aumentam a atividade dos hormônios sensíveis à lipase no tecido adiposo. A reserva de oxalacetato é reduzida, retardando o ciclo de Krebs e o uso de acetil-CoA sendo desviado para a formação de corpos cetônicos (acetona; aceto acetato e

betahidroxibutirato), podendo desencadear um quadro de cetose (RADOSTITS *et al.*, 2002; KERESTES *et al.*, 2009).

Paralelamente a cetose, os ruminantes podem desenvolver um quadro de lipidose hepática. Devido à capacidade limitada do fígado em exportar triglicerídeos, há um acúmulo hepático de gordura predispondo o animal a doenças metabólicas. Vacas obesas tendem a apresentar maior mobilização de reservas corporais no pós-parto e ocorrência de lipidose hepática (BORGES E MARTINS, 2015).

O diagnóstico precoce da cetose subclínica é essencial para reduzir os problemas associados a esta afecção. Segundo Campos *et al.*, (2005), os principais métodos para um diagnóstico de cetose subclínica são baseados na avaliação de corpos cetônicos no sangue, na urina e no leite.

A mensuração de BHB é o método mais eficiente para diagnóstico de cetose subclínica devido a sua estabilidade e predominância entre os corpos cetônicos circulantes (ALVARENGA, 2013). Os valores de referência para BHB são controversos na literatura, valores inferiores a 1,0mmol/L são considerados normais e valores entre 1,2 e 3mmol/L caracterizam a cetose subclínica (CAMPOS *et al.*, 2005; SCHEIN, 2012; ALVARENGA, 2013; SOUZA *et al.*, 2015).

Com a evolução da tecnologia, empresas criaram aparelhos portáteis e de fácil manuseio que são capazes de mensurar glicose e corpos cetônicos. O aparelho *FreeStyle Optium Neo* foi desenvolvido para uso humano, porém é capaz de avaliar amostras de sangue de bovinos com elevada confiabilidade (ALVARENGA, 2013).

Partes dos corpos cetônicos são metabolizados e excretados via urina. A avaliação de corpos cetônicos na urina também constitui um método de diagnóstico de cetose. Utilizam-se fitas reagentes para teste de urinálise, contendo o princípio ativo nitroprussianato de sódio, que em contato com meio saturado de amônia reage mudando a cor original em proporção a quantidade de corpos cetônicos presentes na amostra. A cor é avaliada em uma tabela de referência para diagnóstico de corpos cetônicos na urina (CAMPOS *et al.*, 2005).

Outro método disponível para avaliação de cetose é através da identificação de corpos cetônicos no leite, sendo o teste de Rothera o mais utilizado. Devido ao elevado aporte sanguíneo para glândula mamária, os corpos cetônicos presentes no sangue passam para o leite através de difusão facilitada. O teste consiste na utilização de um pequeno volume de leite, adicionando uma fração do reagente

Rothera (composto de 3g de nitroprussiato de sódio, 3g de carbonato de sódio e 100g de sulfato de amônia) em uma superfície branca (SCHEIN, 2012). A presença de acetona e aceto acetato na amostra reage com o nitroprussianato de sódio originando uma mistura de coloração arroxeadada, caracterizando um animal com cetose (SCHEIN, 2012). Quanto maior a quantidade de acetona e aceto acetato presentes, mais intensa será a mudança na coloração (SCHEIN, 2012).

As consequências da cetose causam um impacto econômico importante nos rebanhos leiteiros especializados do Brasil e não se relacionam apenas à diminuição da produção de leite. A cetose subclínica favorece ocorrência de deslocamento de abomaso, metrite, retenção de placenta e mastite no início da lactação (CAMPOS *et al.*, 2005; NANTES, 2008; SCHEIN, 2012; ALVARENGA, 2013; SOUZA *et al.*, 2015).

A prevenção desta afecção envolve o monitoramento da condição corporal das vacas no final da lactação, adequado aporte nutricional para as vacas no início da lactação e redução de condições ambientais desfavoráveis que reduzem o consumo de alimentos (NANTES, 2008; ALVARENGA, 2013).

Segundo Alvarenga (2013), 30 dias antes do parto, vacas multíparas devem ser separadas das vacas primíparas e deslocadas para um lote pré-parto, evitando superlotação, disputa por cochos e estresse térmico. Após o parto deve ser oferecida dieta com alto teor energético para suprir a elevada exigência no início da lactação. A utilização de aditivos alimentares como ionóforos contribui para elevar a síntese de glicose.

A obesidade é um importante fator de risco para ocorrência de cetose pois está relacionada ao menor consumo de alimentos após o parto e maior mobilização de reservas corporais (SCHEIN, 2012). De acordo com Borges (2012) o escore de condição corporal (ECC) de vacas leiteiras é classificado em uma escala numérica de 1 a 5, no qual 1 se refere a vacas muito magras e 5 vacas muito gordas. Com o objetivo de favorecer a produção de leite e minimizar distúrbios metabólicos recomenda-se um ECC ao parto de 3 a 3,5.

3. METODOLOGIA

3.1 Seleção dos animais para avaliação

A pesquisa foi realizada no período de fevereiro a maio de 2017 em duas propriedades no município de Matipó e em uma propriedade em Itutinga totalizando 192 animais. Para o presente trabalho foram selecionados animais que

atendessem os seguintes pré-requisitos: estar no início da lactação, com produção média diária superior a 25L/animal e histórico de ECC superior a 3,5 no momento do parto. Dentre os 192 animais avaliados apenas 26 animais atenderam os pré-requisitos. Foram avaliadas primíparas e multíparas da raça holandesa e girolando, criadas em sistemas semi-confinados com alimentação à base de silagem de milho e concentrado contendo farelo de soja, milho em grão moído e suplemento vitamínico e mineral.

3.2 Mensuração de BHB

Na avaliação do BHB foi utilizado o aparelho portátil *FreeStyle Optium Neo* e fitas reagentes específicas para mensuração de corpos cetônicos. Com a utilização de seringas de 5ml, agulhas 30x7 foi coletado 1 ml do sangue venoso através de punção da veia coccígea e em seguida realizou-se a mensuração de BHB sanguíneo. Foi elaborada uma planilha para anotação dos dados dos animais avaliados.

3.4 Análise dos Dados

Os resultados obtidos foram comparados com dados estabelecidos pela literatura. Para o diagnóstico de cetose subclínica foram considerados valores de BHB superiores a 1,2 mmol/L segundo Campos *et al.*, (2005).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos dados descritos na Tabela 1 foi possível observar que os 26 animais submetidos à avaliação de BHB sanguíneo estavam no início da lactação entre 20 e 60 dias após o parto. Segundo uma avaliação prévia dos animais o ECC ao parto foi de 5 para 9 vacas (34,5%) e 4 para 17 animais (65,5%) dos rebanhos pesquisados, sendo portanto consideradas obesas e acima dos valores recomendados para a prevenção de cetose (SCHEIN, 2012; BORGES, 2012).

Tabela 1: Caracterização de 26 vacas em lactação, avaliadas em 3 propriedades leiteiras de acordo com produção de leite, período de lactação, ECC ao parto e no momento da avaliação, raça, problemas no pós-parto e BHB sanguíneo em mmol/L.

Animais	Valores de BHB em mmol/L	Raça	Dias pós-parto	Produção de Leite (L)	ECC no momento da avaliação de BHB(1-5)	Problemas no Pós-parto	ECC ao parto (1-5)
1	0,8	G	30-40	34,5	3	NDN	5
2	0,5	G	30-40	25	4	NDN	5
3	0,8	G	20	28	3	NDN	5
4	1,2	G	50	25	3	NDN	5
5	1,3	G	50-60	25	3,5-4	NDN	5
6	0,7	G	30-40	28	4	NDN	5

7	0,9	G	30-40	25	3	NDN	5
8	0,2	G	40-50	25	3,5	NDN	4
9	0,4	G	50	26	3,5-4	NDN	5
10	0,3	G	50	27	3	NDN	4
11	0,2	G	40	31	4	NDN	5
12	0,4	G	50	28	3	NDN	4
13	0,6	G	30	27	3,5-4	NDN	4
14	0,2	G	50-60	25	3	NDN	4
15	0,7	H	50-60	27	3	NDN	4
16	0,7	H	50-60	29	3	NDN	4
17	0,7	H	50-60	28	3	NDN	4
18	0,8	H	50-60	31	3,5	NDN	4
19	0,9	H	50-60	28	3,5	NDN	4
20	0,9	H	50-60	37	3	NDN	4
21	0,6	H	50-60	36	3	NDN	4
22	0,7	H	50-60	33	3	NDN	4
23	0,8	H	50-60	33	3	NDN	4
24	0,9	H	50-60	25	3,5	NDN	4
25	0,7	H	40	32	3	NDN	4
26	0,3	H	40	48	3	NDN	4

Legenda: G – girolando; H – holandês; NDN – nada digno de nota.

A produção de leite diária variou de 25 a 48 litros/dia sendo que todas as vacas eram ordenhadas duas vezes ao dia. Não houve grande perda de ECC após o parto e no momento da mensuração do BHB o ECC foi definido em 3 para 16 animais, 3,5 para 7 animais e 4 para 3 vacas. Segundo Alvarenga *et al.*, (2015) a perda de peso no início da lactação é característica do BEN, visto que a demanda de nutrientes para produção de leite é superior a ingestão de matéria seca nesta fase (BORGES, 2012).

Ao contrário dos resultados encontrados no trabalho, esperava-se uma maior magnitude na redução do ECC, pois todas as vacas avaliadas apresentavam-se obesas ao parto. Sabe-se que a elevada condição corporal nesta fase está relacionada ao menor consumo de matéria seca após o parto e maior mobilização de reservas corporais (ALVARENGA *et al.*, 2015). Tal fato pode estar relacionado ao período em que as avaliações foram realizadas (meses de abril e maio), momento em que ocorreu uma redução da temperatura ambiente favorecendo a maior ingestão de matéria seca e conseqüentemente menor magnitude no balanço energético negativo. Segundo histórico das propriedades avaliadas nenhum animal apresentou problemas no periparto incluindo distocias, metrites e mastites. Sabe-se que a distocia e processos infecciosos nesta fase contribuem para agravar o BEN e a ocorrência de cetose (CAMPOS *et al.*, 2005; NANTES, 2008; SCHEIN, 2012).

Dos 26 animais avaliados 12 (46%) eram da raça holandesa e 14 (54%) da raça girolando. Os animais da raça holandesa por apresentarem um maior potencial produtivo são mais susceptíveis a desenvolver cetose subclínica (RABELO E CAMPOS, 2009; ALVARENGA, 2013). Todos os animais avaliados eram mantidos em sistema semi-intensivo e recebiam silagem de milho e concentrando após as ordenhas. Durante a noite e em alguns horários do dia permaneciam em pastagens para descanso.

Conforme descrito na Tabela 1 apenas um animal apresentou cetose subclínica com resultado de BHB superior a 1,2 mmol/L. Segundo o trabalho de Lemosquet *et al.*, (2009) a incidência desta afecção no Brasil é muito variável em função da grande heterogeneidade dos rebanhos brasileiros mas tende a ser elevada nos rebanhos especializados. O animal em questão era da raça girolando, múltipara, estava no terço inicial da lactação com produção diária de 25 litros. Segundo histórico da propriedade pariu com ECC máximo, mas não apresentou problemas no parto. Apresentou moderada redução no ECC no início da lactação em função da mobilização de reservas que é característico do BEN que ocorre nesta fase. Acredita-se que o ECC elevado ao parto pode estar relacionado a este resultado já que contribui para menor ingestão de matéria seca (CAMPOS *et al.*, 2005; NANTES, 2008; RABELO E CAMPOS, 2009; ALVARENGA *et al.*, 2015).

Devido à alta demanda energética para a produção de leite, o animal fica mais susceptível a mobilizar reservas corporais para produção de energia. Como consequência há intensa oxidação de ácidos graxos no fígado e aumento nos níveis de corpos cetônicos circulantes (MARKANTONATOS *et al.*, 2011; SCHEIN, 2012). Segundo Lemosquet *et al.*, (2009) fatores inerentes ao próprio animal como uma maior sensibilidade a condições ambientais desfavoráveis também podem estar relacionados ao menor consumo de alimentos neste período, e com isso induzir maior mobilização de reservas corporais, justificando os valores de BHB encontrados (KERESTES *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2011).

Esperava-se uma maior ocorrência de cetose subclínica nos rebanhos avaliados já que os animais apresentavam ECC elevado ao parto. O histórico de ausência de problemas no pós-parto pode estar associado aos baixos valores de BHB encontrados, já que distocias e processos infecciosos reduzem o consumo de

alimentos agravando o BEN e induzindo maior mobilização de reservas corporais e produção de corpos cetônicos (CAMPOS *et al.*, 2005; SCHEIN, 2012).

O período do ano em que os dados foram coletados também podem justificar a baixa ocorrência de cetose subclínica encontrada, já que nos meses de abril e maio houve uma queda na temperatura ambiente. Tal fato implica em maior consumo de alimentos e conseqüentemente menor magnitude do BEN (MARKANTONATOS *et al.*, 2011).

Acredita-se que o maior número de vacas girolando nos rebanhos também contribuiu para os resultados encontrados. Apesar da elevada produção de leite alcançada por essas vacas, são animais de maior rusticidade e maior tolerância a condições ambientais desfavoráveis em comparação a vacas holandesas (RABELO E CAMPOS, 2009).

Em todas as propriedades avaliadas os animais consumiam uma dieta de alto valor energético a base de silagem de milho e concentrado. Acredita-se que a alimentação utilizada também contribuiu para a menor incidência de cetose subclínica nos rebanhos avaliados, já que no terço inicial da lactação um maior aporte energético é fundamental para suprir as exigências de produção de leite (SCHEIN, 2012; ALVARENGA, 2013).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS:

A cetose subclínica representa um grande problema na pecuária de leite intensiva em função dos prejuízos associados. Os resultados obtidos nas propriedades avaliadas mostraram que os rebanhos em questão apresentam baixa ocorrência de cetose subclínica apesar da identificação de risco para a doença principalmente em relação ao ECC elevado ao parto. O fornecimento de uma dieta com alta densidade energética no início da lactação associado a condições ambientais favoráveis são essenciais para reduzir a intensidade do BEN e a mobilização de reservas corporais no início da lactação.

A utilização do aparelho portátil *FreeStyle Optium Neo* mostrou-se uma ferramenta fácil e viável para o diagnóstico de cetose subclínica. Desta forma é possível realizar o diagnóstico precoce da afecção possibilitando a adoção de medidas para a prevenção e tratamento desta doença.

6. REFERÊNCIAS

ALVARENGA, E. A. **PERFIL METABÓLICO DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA DURANTE O PERÍODO DE TRANSIÇÃO, LOCAIS DE COLHEITA E MÉTODOS DE ANÁLISE DE BETA HIDROXIBUTIRATO.** 2013 Dissertação/Mestrado Belo Horizonte Escola de Veterinária da UFMG.

ALVARENGA, E. A.; MOREIRA, G. H.F.A.; FACURY FILHO, E. J.; LEME, F. O. P.; COELHO, S. G.; MOLINA, L. R.; LIMA, J. A. M.; CARVALHO, A. U. Avaliação do perfil metabólico de vacas da raça Holandesa durante o período de transição **Pesq. Vet. Bras.** v.35, n.3, p.281-290. 2015.

BAUMGARD L. H.; ODENS L. J.; KAY J. K. *et al.* Does negative energy balance (NEBAL) limit milk synthesis in early lactation. **The University of Arizona.** v.21, 2006.

SOUZA, C. R; SOUZA, R. C.; ZAMPIROLI, F. B.; F. B; SOUSA, B. M. Prevalência e Concentração de Corpos Cetonicos de Vacas Leiteiras em Sistemas Intensivos de Produção de Leite em Minas Gerais. **Anais: XI Congresso Brasileiro e XVII Congresso Latinoamericano deBuiatria.** 2015.

RABELO, E.; CAMPOS, B. G. **Fisiologia do Período de Transição.** Zootecnia – UFMG. p.13. Apostila. 2009.

CAMPOS, R.; GONZÁLEZ, F.; COLDEBELLA, A.; LACERDA, L. Determinação de Corpos Cetônicos na Urina Como Ferramenta para o Diagnostico Rápido de Cetose Subclínica Bovina e Relação com a Composição do Leite **Archives of Veterinary Science.** V.10, n.2, p.49-54, 2005.

NANTES, J.H; SANTOS, T.A.B. CETOSE - Revisão de Literatura. **REVISTA CIENTÍFICA ELETÔNICA DE MEDICINA VETERINÁRIA.** V.1, N.10, 2008.

SCHEIN, I. H. Cetose dos Ruminantes. **Anais: I Seminário Ciências Veterinárias.** Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS p.1-35, 2012.

SILVA, G. G.; KOZCKI, L. E.; GREBOGI, A. M.; SEGUI, M. S.; WEISS, R. R.; BORGES, H. L.; GAIEVSKI, F. influencia das afecções de casco, cetose, lipidose hepática e outras sobre o desempenho reprodutivo de vacas leiteiras de elevada produção. **Revista acadêmica ciência agrária ambiental,** v.9, n.4, Curitiba, p.395-421, 2011.

MARKANTONATOS, X.; AHARONI, Y.; RISHARDSON, L. F.; VARGA, G. A. Effects of monensin on volatile fatty acid metabolism in periparturient dairy cows using compartmental analysis. **Animal feed Science and technology.** V.153, p.11-27, 2011.

LEMOQUET, S.; RAGGIO, G.; LOBLEY, G. E.; RULQUIN, H.; GUINARD-FLAMENT, J.; LAPIERRE, H. Whole-body glucose metabolism and mammary energetic nutrient metabolism in lactating dairy cows receiving digestive infusions of casein and propionic acid. **Journal of Dairy Science.** V.12, P. 6068-6082, 2009.

KERESTES, M.; FAIGL, V.; KULCSÁR, M.; BALOGH, O.; FOLDAY, J.; FEBEL, H.; CHILLIARD, Y.; HUSZENICZA, G. Periparturient insulin secretion and whole-body insulin responsiveness in dairy cows showing various forms of ketone pattern with or without puerperal metritis. **Domestic Animal Endocrinology**, V.37, N.4, P. 250-261. 2009.

RADOSTITS, O. M.; ARUNDEL, J. H.; GAY, C.C. **Clínica veterinária**. 1º edição Guanabara Koogan. 2002.

BORGES, B.G.; ALMEIDA, R.; OSTRENSKY, A.; MAIOLINO, M. C.F. Métodos de diagnóstico e pontos críticos de bem-estar de bovinos leiteiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, 2012.

MEZZADRI, Fábio P. Análise da conjuntura agropecuária: Leite - ano 2014. SEAB/DERAL. Disponível em: http://http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/bovinocultura_leite_14_15.pdf. Acesso em: 19/09/2016.

BORGES, A.M.; MARTINS, T.M. Relação entre distúrbios metabólicos e reprodutivos em vacas leiteiras. 2nd International symposium of dairy cattle, viçosa, 2015.

AVALIAÇÃO DE MASTITE SUBCLÍNICA EM DUAS PROPRIEDADES LEITEIRAS UTILIZANDO O MÉTODO CMT

Acadêmicos: Abel Coelho Batista Couto e José Vilas Novas Neto

Orientador: Paulo César Amorim e Amorim

RESUMO

A mastite é caracterizada por um processo inflamatório de um ou mais quartos mamários. A forma subclínica está associada à redução na produção de leite e aumento na contagem de células somáticas (CCS). O diagnóstico da mastite subclínica é baseado na avaliação da CCS, que pode ser realizado a campo utilizando o *California Mastitis Test* (CMT) ou através da contagem de células somáticas em laboratório. Em função dos prejuízos relacionados a esta doença, este trabalho teve como objetivo avaliar a ocorrência de mastite subclínica em propriedades leiteiras no município de Fernandes Tourinho (MG). Foram avaliadas 43 vacas em dois rebanhos que utilizavam diferentes sistemas de ordenha. No rebanho A, foram avaliadas 21 vacas ordenhadas manualmente e a ocorrência de mastite subclínica foi de 28,5%. Na propriedade B onde os animais eram submetidos à ordenha mecânica, das 22 vacas avaliadas, 40,9% apresentaram mastite subclínica. Foram avaliadas em ambas as propriedades a higiene dos ordenhadores, limpeza e manutenção adequada dos equipamentos de ordenha e realização de *pré* e *pós-dipping*. Na propriedade B, os procedimentos de limpeza e manutenção dos equipamentos de ordenha não eram bem conduzidos, o que pode estar relacionado à maior ocorrência de mastite subclínica.

PALAVRAS-CHAVE: Avaliação qualitativa; bovinocultura; produção de leite; sanidade; saúde pública.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui grande extensão territorial, sendo que em boa parte é explorada pela pecuária de leite. De acordo com dados do IBGE (2015), a produção leiteira cresceu significativamente. Em 2009 o país produziu cerca de 35 milhões de litros de leite, enquanto o levantamento realizado em 2014 demonstrou um aumento de 82,7% na produção de leite nacional.

Diversas são as afecções que comprometem a eficiência produtiva dos animais. Problemas no manejo nutricional e na sanidade são pontos chave para o surgimento de doenças nos rebanhos, principalmente em vacas leiteiras. Dentre as doenças mais comuns destacam-se as afecções de cascos, problemas reprodutivos e mastite (FERREIRA *et al.*, 2015).

A mastite é um processo inflamatório dos quartos mamários, sendo que os agentes bacterianos são a principal causa desta afecção (COSTA, 1998). Os principais

agentes bacterianos relacionados à mastite são: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* e coliformes. Estes microrganismos instalam-se na glândula mamária através dos esfíncteres dos tetos durante os procedimentos de ordenha e nas áreas de descanso dos animais, onde costumam ficar logo após a ordenha (BRITO *et al.*, 1997).

A forma de apresentação da mastite pode ser clínica ou subclínica. Na mastite clínica observam-se sinais inflamatórios no quarto afetado e alterações do leite. Já na mastite subclínica não é possível identificar alterações macroscópicas, dificultando assim seu diagnóstico (RIBEIRO *et al.*, 2003).

Para o correto diagnóstico da mastite subclínica é necessário à realização de algumas avaliações que determinam a contagem de células somáticas, como o *California Mastitis Test* (CMT), exame qualitativo, rápido e de baixo custo (RIBEIRO *et al.*, 2003). Estão disponíveis também exames que avaliam diretamente a contagem de células somáticas e determinam com precisão animais com mastite subclínica nos rebanhos. Entretanto o custo mais elevado e a carência de laboratórios que realizam esses exames podem inviabilizar o seu uso na prática (BRITO *et al.*, 1997).

Em função dos prejuízos associados a esta doença e da necessidade de obtenção de um leite de melhor qualidade, este trabalho tem como objetivo avaliar os fatores de risco que contribuem para a ocorrência de mastite subclínica em dois rebanhos leiteiros no município de Fernandes Tourinho-MG.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Aspectos Econômicos da Mastite

Uma propriedade leiteira deve ser avaliada como uma empresa rural, portanto, qualquer decisão tem que ser economicamente viável para o sistema ser autossustentável. Para maior eficiência é essencial o controle da mastite subclínica, pois esta reduz a produção de leite e também sua qualidade (FERNANDES e NOGUEIRA, 2005).

Além dos prejuízos diretos desta doença, existem os prejuízos secundários que se referem à desvalorização dos animais pela perda da função dos quartos afetados, ocasionando um descarte precoce do animal acometido (CUNHA *et al.*, 2008).

A mastite é um problema que vai além das propriedades de leite, pois, influencia diretamente na composição do mesmo gerando redução de cálcio, fósforo, proteínas,

gordura, lactose e aumento de sódio e cloro. Estas alterações interferem na produção de produtos lácteos como queijos e produtos que passam pelo processo de fermentação, gerando sabor indesejável e reduzindo a qualidade do produto final (REIS e LOPES, 2014).

2.2. Mastite

A palavra mastite é derivada do latim (*mammae*) e do grego (*mastos*) e se refere ao processo inflamatório da glândula mamária (RADOSTITS *et al.*, 2002). Esta doença pode ser classificada como contagiosa ou ambiental e também ocorrer na forma clínica ou subclínica de acordo com o agente etiológico associado (MARTINS *et al.*, 2010).

A mastite é uma doença multifatorial podendo ser causada por diversos microrganismos. Os principais agentes etiológicos associados à mastite subclínica são: *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*. No entanto, outros microrganismos como o *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus uberis* também podem estar envolvidos (BRITO *et al.*, 1997).

O *Staphylococcus aureus* é um micro-organismo que apresenta grande resistência e persistência na glândula mamária, podendo ocasionar um estágio crônico da doença que dificulta a eficiência do tratamento e conseqüentemente a cura. A infecção por *Staphylococcus aureus* comumente tem apresentação subclínica. Essa bactéria apresenta grande capacidade de invasão do parênquima mamário limitando a ação dos antibióticos. A formação do tecido fibroso caracteriza uma infecção crônica com baixa taxa de cura microbiológica (SOUZA *et al.*, 2016).

A mastite bovina é classificada em contagiosa e ambiental. Na mastite contagiosa os microrganismos estão presentes em quartos mamários de animais com doença clínica, subclínica ou crônica e são transmitidos para outros animais durante a ordenha através de equipamentos contaminados e das mãos do ordenhador (LOPES *et al.*, 2013). A mastite ambiental está associada a agentes presentes no ambiente de permanência dos animais e a infecção ocorre geralmente no período pós ordenha quando os esfíncteres mamários ainda estão abertos (RIBEIRO *et al.*, 2003).

A mastite subclínica não apresenta sinais de inflamação aparente e nem alterações macroscópicas no leite embora ocorram alterações na composição do leite e deste possam ser isolados micro-organismos patogênicos (BRITO *et al.*, 1997). Esta forma está associada a um aumento na contagem de células somáticas e queda da

produção de leite. Já na mastite clínica podem ser observadas alterações no quarto mamário afetado, caracterizadas por dor, inchaço, aumento de temperatura e alterações macroscópicas no leite com formação de coágulos e grumos (LOPES *et al.*, 2013).

O microrganismo alcança a glândula mamária através do esfíncter do teto e após a infecção ocorre a diapedese das células de defesa (leucócitos) para o quarto afetado. Essas células fazem parte dos mecanismos de defesa do animal, que migram da corrente sanguínea para o teto afetado e são chamadas de células somáticas do leite. O que influencia o aumento dessas células no leite é o estado infeccioso (BRITO *et al.*, 1997). Estas células realizam a fagocitose dos microrganismos e sua eliminação, alterando todo o ambiente da glândula mamária. Podem ocorrer lesões no tecido mamário que comprometem o tratamento e a função do quarto afetado (VOLTOLINI *et al.*, 2001).

2.3. Diagnóstico da mastite subclínica

O diagnóstico precoce é uma ferramenta essencial no controle da mastite subclínica. O diagnóstico pode ser tanto laboratorial, quanto realizado a campo. Os exames de campo apresentam melhor custo benefício, pois podem ser realizados durante a ordenha, já os exames laboratoriais são mais precisos, porém o custo elevado e a carência de laboratórios especializados limitam sua utilização, sendo escolhidos como opção secundária (RIBEIRO *et al.*, 2008).

O *California Mastitis Test* (CMT) avalia qualitativamente a contagem de células somáticas, sendo o principal exame realizado a campo para o diagnóstico de mastite subclínica, principalmente devido a sua praticidade e baixo custo. Esse teste avalia de forma indireta a quantidade de células somáticas presentes no leite através da ação de um detergente aniônico. O reagente promove a lise das células somáticas liberando material genético na solução. A formação de um material gelatinoso caracteriza um resultado positivo e se dá através da interação dos ácidos nucleicos presentes no meio com o reagente. Quanto maior o número de células somáticas, maior a viscosidade da amostra (RIBEIRO *et al.*, 2008). Este teste pode ser empregado em várias situações na rotina da fazenda como no diagnóstico de mastite subclínica no rebanho e na avaliação de animais para mastite antes da aquisição. Deve-se fazer um exame periódico das vacas em lactação, e de vacas no pós-parto, para identificar infecções relacionadas ao

período seco e avaliar a eficácia do tratamento de vacas durante a secagem. O CMT pode se mostrar como um método subjetivo, visto que podem ocorrer resultados falso-positivos ou falso-negativos (BRITO *et al.*, 1997).

2.4. Tratamento e prevenção da mastite subclínica

A aplicação de antibióticos intramamários no dia da secagem tem como objetivo diminuir a incidência de mastite subclínica e prevenir infecções que possam ocorrer no período seco. O tratamento da mastite subclínica requer a utilização de antibacterianos pela via intramamária e podem ser realizados durante a lactação ou após a secagem da vaca, sendo que nesta última fase a taxa de cura é maior em comparação aos tratamentos realizados durante a lactação. Contudo, a resposta pode ser variável em função do microrganismo associado e do grau de comprometimento do parênquima mamário (MULLER, 2002).

A prevenção da mastite envolve a adoção de uma série de medidas durante e após a ordenha dos animais. Destaca-se a realização do *pré* e do *pós dipping*, ou seja, pré e pós-imersão dos tetos em solução antisséptica (SIMOES e OLIVEIRA, 2012; MULLER, 2002), descarte de vacas cronicamente afetadas, a adequada limpeza e manutenção do equipamento de ordenha e treinamento dos ordenhadores para realização das práticas adequadas, visando diminuir a possibilidade de ocorrência da mastite contagiosa (SIMOES e OLIVEIRA, 2012). O fornecimento de alimentos logo após a ordenha evita que os animais se deitem antes do fechamento do esfíncter do teto evitando dessa forma a ocorrência de mastite ambiental. A Monitoração dos animais avalia a saúde do úbere e também auxilia na prevenção de mastites, contribuindo para redução do problema nos rebanhos (TOZZETI *et al.*, 2008).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local do Experimento

Foram avaliados 43 animais mestiços e das raças girolando em duas propriedades localizadas no município de Fernandes Tourinho (MG). Estes animais foram escolhidos, pois eram os que se encontravam em lactação nas respectivas propriedades. Esta avaliação ocorreu durante o mês de maio de 2017 para o diagnóstico de mastite subclínica através do *California Mastitis Test* (CMT).

3.2. Delineamento Experimental

Os animais foram dispostos em dois grupos de acordo com o sistema de ordenha adotado. A propriedade A com 21 animais, utilizava ordenha manual com bezerro ao pé e a propriedade B com 22 animais, ordenha mecânica.

3.2.2 Avaliação de mastite subclínica e do manejo de ordenha

Avaliou-se o manejo de ordenha de acordo com a higiene do ambiente e do ordenhador, limpeza dos utensílios utilizados e realização de *pré* e *pós dipping*, utilizando-se um escore de 0 a 5, (sendo 0=Ausente, 1=Péssimo, 2=Ruim, 3=Bom, 4=Ótimo e 5=Excelente). Foi feita uma planilha para obtenção de dados de cada animal relativos a nome, raça, período de lactação, produção e quartos afetados. Para realização do CMT os primeiros jatos de leite de cada quarto mamário avaliado foram descartados. Em seguida realizou-se a higienização dos tetos clorexidine 2% e secagem com papel toalha. Após a desinfecção, foram coletados aproximadamente 2 mL de leite de cada quarto mamário e homogeneizados com 2 mL de reagente CMT. Os resultados foram interpretados da seguinte forma: 0) resultado negativo caracterizado pela presença de amostra fluida; +) fraco positivo, caracterizado por leve precipitação sem formação de gel; ++) médio positivo, caracterizado pela formação de um gel; +++) formação de gel altamente viscoso com adesão ao recipiente.

3.3. Avaliação da produção de leite

Realizou-se a pesagem do leite de todos os animais submetidos ao CMT.

3.4. Avaliação dos resultados

Os resultados encontrados foram dispostos em tabelas, comparados e discutidos com dados estabelecidos pela literatura.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A propriedade A apresentou 6 animais com mastite subclínica em pelo menos um dos quartos mamários, representando 28,5% das vacas em lactação. A propriedade B apresentou 9 animais com mastite subclínica em pelo menos um dos quartos mamários, representando 40,9% das vacas em lactação. Apesar de terem sido obtidos

esses valores de porcentagem de mastite subclínica nos rebanhos pesquisados, dados na literatura indicam valores próximos a 53% em propriedades avaliadas na Zona da Mata Mineira (AZEVEDO JUNIOR, 2016). Já em uma pesquisa realizada em 233 animais no estado do Pará apenas 6,6% apresentaram mastite subclínica (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Estas variações podem estar relacionadas às diferentes práticas de manejo adotadas nestas regiões. Sabe-se que em sistemas de criação mais intensivos há maior ocorrência de mastite subclínica (OLIVEIRA *et al.*, 2011). O sistema de criação utilizado nas propriedades A e B é o semi-intensivo.

A Tabela 1 mostra a porcentagem de mastite subclínica em quartos mamários. Dos 84 quartos avaliados na propriedade A, 8 apresentaram mastite subclínica totalizando 9,5%. Na propriedade B, 88 dos quartos mamários foram avaliados sendo que deste total 14,7% foram reagentes ao teste CMT.

Tabela 1: Avaliação de mastite subclínica em duas propriedades leiteiras em relação à porcentagem de quartos afetados.

Propriedade	Nº de Animais	Nº de quartos mamários avaliados	Média do nº de quartos mamários acometidos por animal	+	+%	++	+++%	+++	+++%	Total de quartos positivos	%de quartos positivos
A	21	84	1,3	5	5,9	2	2,4	1	1,2	8	9,5
B	22	88	1,44	4	4,5	8	9,1	1	1,3	13	14,7

Avaliação de mastite subclínica através do CMT. (+) fraco positivo. (++) médio positivo e (+++) forte positivo.

A Tabela 2 mostra a produção média de leite dos rebanhos avaliados. Apesar da ausência de análise estatística observa-se uma menor produção de leite em vacas que apresentam mastite subclínica principalmente no rebanho B. A produção média dos animais com mastite subclínica nesta propriedade foi de 6,8 Kg/animal/dia enquanto a produção média dos animais negativos foi de 7,92 kg/animal/dia. Sabe-se que a redução fisiológica na produção de leite ao longo da lactação pode refletir em um aumento na CCS (BUENO *et al.*, 2005). No entanto, para esta afirmação seria necessário um acompanhamento da produção individual dos animais. Sabe-se também que a mastite subclínica pode refletir em menor produção nos animais acometidos (COSTA *et al.*, 1999; CUNHA *et al.*, 2008).

Tabela 2: Produção de leite dos animais avaliados.

Propriedades	Média de produção de animais Positivos (kg)	Média de Produção de Animais Negativos (kg)	Média de Produção (kg/dia)	Desvio padrão dos Animais positivos (kg)	Desvio padrão dos Animais negativos (kg)
A	8	8,13	8,06	2,28035085	1,892969449
B	6,88	7,92	7,4	1,536590743	2,296241989

O manejo de ordenha foi avaliado em ambas as propriedades conforme descrito na tabela 3 e variou em função dos diferentes sistemas adotados. Na propriedade A os animais são ordenhados manualmente e no final da ordenha os bezerros são deixados com as vacas para amamentação. Durante este período as vacas recebem alimentação no cocho contribuindo para prevenção de mastites ambientais, pois evita que as vacas deitem-se logo após a ordenha durante o período em que o esfíncter do teto ainda está aberto (SIMOES e OLIVEIRA, 2012).

Em relação à higiene dos ordenhadores foram observados erros em ambas as propriedades. A lavagem das mãos durante a ordenha não era uma prática realizada após a manipulação de cordas e materiais contaminados o que contribui para transmissão de patógenos entre os animais durante a ordenha (REIS e LOPES, 2014).

Na propriedade B foi possível observar que os procedimentos de lavagem e sanitização dos materiais não eram realizados adequadamente assim como a manutenção do equipamento. Esses fatores contribuem para o acúmulo de resíduos de leite no equipamento e proliferação de microrganismos. Outro ponto relevante refere-se ao nível de vácuo do sistema de ordenha que na propriedade em questão encontrava-se acima dos valores recomendados. Isso pode favorecer lesões no esfíncter mamário ou até mesmo prolapso de esfíncter predispondo a ocorrência de mastite (VOLTOLINI *et al.*, 2001).

Tabela 3: Avaliação do manejo de ordenha em um escore de 0 a 5 (Sendo 0 = Ausente, 1 = Péssimo, 2 = Ruim, 3 = Bom, 4 = Ótimo e 5 = Excelente).

	Propriedade A	Propriedade B
Higiene do ordenhador	3	2
Limpeza dos utensílios	4	2
Estado de conservação dos utensílios	5	3
Pressão da bomba de vácuo	-	3
Realização do <i>pré-dipping</i>	0	0
Realização do <i>pós-dipping</i>	0	5

O *pré-dipping* não é realizado nas propriedades avaliadas, no entanto é essencial para reduzir a contaminação bacteriana dos tetos antes do início da ordenha. Já o *pós-dipping* é realizado apenas na propriedade B e trata-se de um procedimento altamente recomendado, pois contribui para eliminação de microrganismos presentes nos tetos antes do fechamento do esfíncter. A presença do bezerro ao pé na propriedade A inviabiliza a utilização do *pós-dipping* no rebanho.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O controle da mastite subclínica representa um grande desafio nos rebanhos leiteiros afetando a produção de leite e sua qualidade em função da elevação na CCS. Os resultados encontrados neste estudo mostraram que os rebanhos avaliados apresentam elevada ocorrência de mastite subclínica e fatores de risco que contribuem para ocorrência deste problema. Considerando os prejuízos relacionados a esta doença é fundamental a adoção das práticas adequadas de ordenha para o seu controle, principalmente nos rebanhos submetidos à ordenha mecânica em função da presença de um maior número de fatores de risco.

6. REFERÊNCIAS

AZEVEDO JUNIOR, M. A.; FREITAS, B. S.; ALVES, J.; CASTRO, T. A.; SANTOS, M. D.; QUINTÃO, R. N.; ARAÚJO, L. S. Isolamento e Classificação de Micro-Organismos Causadores da Mastite no Município de Matipó, MG. **Anais do IX FAVE** – Fórum Acadêmico da Faculdade Vértice – UNIVÉRTIX – Matipó/MG, setembro de 2016.

BRASIL. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Tabuleiros Costeiros. **Mastite Bovina. Considerações e Impactos Econômicos**. Aracaju, 2012.

BRITO, J. R. F.; CALDEIRA, G. A. V.; VERNEQUE, R. da S. e BRITO, M. A. V. P. Sensibilidade e Especificidade do *California Mastitis Test* como Recurso Diagnóstico da Mastite Subclínica em Relação à Contagem de Células Somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. V.17, n.2, p.49-53, abr./jun. 1997.

BUENO, V. F. F.; NICOLAU, E. S.; MESQUITA, A. J.; RIBEIRO, A. R.; SILVA, J. A. B.; COSTA, E. O.; COELHO, K. O.; NEVES, R. B. Mastite Bovina Clínica e Subclínica, na Região de Pirassununga, SP: Frequência e Redução na Produção. **Ciência Animal Brasileira** v.3, p.47-52, 2002.

BUENO, V. F. F.; MESQUITA, A. J.; NICOLAU, E. S.; OLIVEIRA, A. N.; OLIVEIRA, J. P.; NEVES, R. B. S.; MANSUR, J. R. G.; THOMAZ, LW. Contagem Celular Somática: Relação com a Composição Centesimal do Leite e Período do Ano no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, v.35, n.4, p.848-854, 2005.

COSTA, E. O. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista de Educação Continuada**. CRMV-SP, São Paulo, v.1. 1998.

COSTA, E. O.; RIBEIRO, A. R.; WATANABE, E. T.; SILVA, J. A. B.; GARINO JR., F.; BENITES, N. R.; HORIUTI, A. M. Mastite Subclínica: Prejuízos Causados e os Custos de Prevenção em Propriedades Leiteiras. **Revista Nappama**, São Paulo, v. 2, n. 2, p. 16-20, mar./abr. 1999.

CUNHA, R, P, L.; MOLINA, L. R.; CARVALHO, A U.; FACURY FILHO, E. J.; FERREIRA, P. M. GENTILINI, M. B. Mastite Subclínica e Relação da Contagem de Células Somáticas com o Numero de Lactações, Produção e Composição Química do Leite em Vacas da Raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.60. 2008.

FERNANDES, E. N.; NOGUEIRA, M. C. P. Y. Sistemas de Apoio à Decisão na Gestão Ambiental de Propriedades Leiteiras. **Tecnologia e gestão na atividade leiteira**. 2005.

FERREIRA, G. A; GUIRRO, E. C. B. P.; BLAGITS, M. G.; LIBERA, A. M. M. P. D. Estratégias na Prevenção da Mastite Bovina no Período de Transição. **Veterinária em Foco**. v. 12, n. 2. 2015.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. Comunicação Social. 2015. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/>> Acesso em: 10/03/2017.

LOPES, O. L.; LACERDA, M. S.; RONDA, J. B. Uso de Antibióticos na Cura e Controle de Mastite Clínica e Subclínica Causada por Principais Microorganismos Contagiosos em Bovinos Leiteiros: Revisão de Literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. n. 21, 2013.

MARTINS, R. P.; SILVA, J. A. G.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V. e ALMEIDA FILHO, E. S. Prevalência e Etiologia Infeciosa da Mastite Bovina na Microrregião de Cuiabá, MT. **Ciência Animal**. v. 1, n.11 p. 181-187. 2010.

MULLER, E. E. Qualidade do Leite, Células Somáticas e Prevenção da Mastite. **Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil** Maringá, p.206-217. 2002.

OLIVEIRA C. M. C.; SOUZA, M. G. S.; SILVA, N. S.; MENDONÇA, C. L.; SILVEIRA, J. A. S.; OAIGEN, R. P.; ANDRADE, S. J. T. & BARBOSA, J. D. Prevalência e Etiologia da Mastite Bovina na Bacia Leiteira de Rondon do Pará, PA. **Pesq. Vet. Bras**. v. 2, p.104-110. 2011.

REIS, E. M. B. e LOPES, M. A. Métodos Automatizados de Diagnóstico de Mastite em Vacas Leiteiras: Uma Revisão. **Arquivo de Ciência Veterinária e Zoologia**. v.17, n. 3, p.197-206. 2014.

RIBEIRO, E. J.; SILVA, M. H.; VIEGAS, S. A. A.; RAMALHO, J.; RIBEIRO, M. D.; OLIVEIRA, F. C. S. *California Mastitis Test* (CMT) e *Whiteside* como Métodos de Diagnóstico Indireto da Mastite Subclínica. **Revista Brasileira de saúde e produção animal**. v.9, n.4, p.680-686. 2008.

RIBEIRO, M. E. R.; PETRINI, L.; AITA, M.; BALBINOTTI, M.; STUMPF JUNIOR, W.; GOMES, G.; SCHRAMM, R.; MATINS, P.; BARBOSA, R. Relações entre Mastite Clínica, Subclínica Infeciosa e Não Infeciosa em Unidade de Propriedades de Produção Leiteira na Região Sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**. v.9, n. 3, p.287-290. 2003.

RADOSTITS, O. M.; BLOOD, D. C.; GAY, C.C. **Clínica Veterinária: Um tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos**. 9º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1737 pg. 2002.

SIMÕES, T. V. M. D. e OLIVEIRA, A. A. de. Mastite Bovina, Considerações e Impactos Econômicos. **Documentos 170**. Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Dezembro, 2012. Disponível em: <http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2012/doc_170.pdf> Acesso em: 10/06/2017.

SOUZA, K. S. S.; OLIVEIRA, Y. C. M.; DUARTE, A. F. V.; OLIVEIRA, T. C.; VELOSO, A. L. C.; OLIVEIRA, P. M. C.; FERNANDES, N. S. F. Resistência a antimicrobianos de Bactérias Isoladas de Vacas Leiteiras com Mastite Subclínica. **Revista Acadêmica Ciências Agrárias**. v.8, n.2, p. 83-89, 2016.

TOZZETTI, D. S.; BATAIER, M. B. N.; ALMEIDA, L. R. Prevenção, Controle e Tratamento das Mastites Bovinas – Revisão de Literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. n.10, 2008.

VOLTOLINI, V. T.; SANTOS, G. T.; ZAMBOM, M. A.; RIBAS, N. P.; MULLER, E. E.; MAMASCENO, J. C.; ITAVO, L. C. V.; VEIGA, D. R. Influência dos Estádios de Lactação sobre a Contagem de Células Somáticas do Leite de Vacas da Raça Holandesa e Identificação de Patógenos Causadores de Mastite no Rebanho. **Animal Science**. v. 23, n.4, p.961-966, 2001.

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS REPRODUTIVOS EM FÊMEAS DA RAÇA TABAPUÃ EM RESPOSTA A REALIZAÇÃO DE UM PROTOCOLO DE IATF

Acadêmicos: Rafael Faria Arruda Soares e Rhai Basilato Campos

Orientadora: Vivian Rachel de Araújo Mendes

RESUMO

Os protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) têm a função de induzir o recrutamento de uma nova onda folicular, crescimento de novos folículos no momento da ovulação. O trabalho tem como objetivo avaliar a influência de um protocolo de IATF em fêmeas da raça Tabapuã sobre o momento de realização da inseminação artificial, o diâmetro do folículo dominante e taxa de concepção. Foram sincronizadas 16 vacas da raça Tabapuã, no dia 0 foi administrado 2mg de Benzoato de Estradiol associado a um dispositivo intravaginal de progesterona e um suplemento vitamínico. No dia 8 houve a retirada do Progesterona (P4), com administração de 10mg de D-Cloprostenol, 1mg de Cipionato de estradiol, 300UI de eCG e mensurado o Folículo Dominante (FD). E no dia 10 inseminação e mensuração do FD, 45 após a IATF realizou-se o diagnóstico de gestação. Foi observado o adiantamento de cio em 6 horas, taxa de concepção de 68,75%, e média do diâmetro do FD de $11,15 \pm 1,99$ mm. A eficiência do protocolo de IATF com o uso de Gonodotrofina Corionica equina (eCG), bom Escore de condição Corporal (ECC) e observação de cio pode prover melhores taxas de concepção ao observar também que a concepção ocorre mesmo que a ovulação ocorra em folículos com menor diâmetro.

PALAVRAS-CHAVE: Concepção; eCG; Folículo dominante; Ovulação.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta o segundo maior rebanho mundial de bovinos, ficando atrás apenas da Índia, e em relação a produção de carne, está na segunda posição do ranking encontrando-se atrás apenas dos EUA. Aproximadamente 80% do rebanho brasileiro pertence as raças zebuínas (*Bos Taurus indicus*) com maior domínio da raça Nelore, que apresenta características de rusticidade, tal como resistência à elevadas temperaturas ambientais e à ectoparasitas (LEMES, 2012).

A eficiência reprodutiva tem uma ligação direta com a produtividade do mercado de carne. Por meio de algumas medidas direcionadas a alcançar bons índices reprodutivos, a atividade pecuária minimiza as dificuldades e maximiza os lucros. Uma

das técnicas que proporciona melhorias é a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (BARUSELLI *et al.*, 2012).

Os protocolos de IATF têm a função de induzir o recrutamento de uma nova onda folicular, provocando o crescimento de novos folículos, e controlando o momento da ovulação (BARUSELLI *et al.*, 2006). Assim garante um aumento na taxa de prenhez no começo da estação de monta em um curto período de tempo em relação a inseminação convencional e monta natural (GOTTSCHALL *et al.*, 2012). Podendo ter algumas variáveis nos resultados da IATF, como condição corporal da fêmea, hormônios, o estado do aparelho reprodutivo e comportamento estral (GOTTSCHALL *et al.*, 2012).

Para que se obtenha o índice ideal da eficiência reprodutiva de uma fêmea bovina é necessário alcançar um intervalo de partos entre 12 meses, com o espaço de parto-concepção aproximadamente entre 85 (oitenta e cinco) dias (RABASSA *et al.*, 2007).

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a influência de um protocolo de IATF em fêmeas da raça Tabapuã sobre o momento de realização da inseminação artificial, no diâmetro do folículo dominante e na taxa concepção.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)

A demanda produtiva de animais é diretamente interligada a eficiência reprodutiva mostrando assim um aumento na produtividade, em consequência, na remuneração do produtor rural (GODOI *et al.*, 2010). Dentro do mercado brasileiro a cadeia produtiva da carne possui grande demanda, para isso requer produção de um rebanho de qualidade e em grande escala. Ao utilizar as biotécnicas da reprodução, pode-se atingir o objetivo determinado pelo mercado (HENRIQUE, 2007).

Entre as biotecnologias usadas na pecuária sobressaem a inseminação artificial (IA) e a IATF, sendo estratégias avançadas economicamente executáveis para a melhoria do rebanho fazendo uso de sêmen de touros comprovadamente superiores (FERRAZ *et al.*, 2008).

A IATF é um grande avanço na pecuária brasileira, sendo uma técnica reprodutiva que tem como vantagens eliminar a observação de estro, indução da ciclicidade em vacas em anestro, a diminuição do intervalo de parto e o aumento do número de bezerros nascidos (BARUSELLI *et al.*, 2006).

Muitos são os benefícios obtidos com a utilização da IA nos rebanhos, incluindo a diminuição da taxa de serviço. Porém, a ineficácia na detecção do estro ou a elevada ocorrência de anestro no período pós-parto podem ser limitações para realização da IA, mas a IATF vem como uma alternativa para superar essas dificuldades (GODOI *et al.*, 2010).

O uso da IATF disponibiliza grandes vantagens ou possibilitar inseminar um grande número de vacas em menor tempo. Na utilização desta técnica as vacas ovulam numa hora e data marcada através de indução, favorecendo o uso da IA economizando a mão-de-obra e visando o momento de nascimento dos bezerros. Assim, consegue reduzir o intervalo entre partos e elevar a eficiência reprodutiva (EMBRAPA, 2002).

Utilizando a técnica de IATF corretamente cerca de 50% das fêmeas sincronizadas ficam gestantes com uma inseminação, e os animais que não conceberam podem ser novamente sincronizados para uma nova inseminação (GODOI *et al.*, 2010).

A desvantagem da IATF está relacionada a disponibilidade econômica dessa técnica, de modo que o custo benefício poderá ser desfavorável, presumindo o custo dos medicamentos utilizados. Para que se tenha um bom retorno econômico para a propriedade é necessário fazer uma seleção de matrizes com a finalidade de obter excelentes progênies (GODOI *et al.*, 2010).

2.2. Regulação Hormonal do Ciclo Estral da Vaca

Para o entendimento do protocolo de IATF é necessário conhecer o número de ondas foliculares durante o ciclo da fêmea bovina. Geralmente, são identificadas três ondas foliculares, embora, algumas vacas apresentem apenas duas ondas de desenvolvimento folicular (NOSEIR, 2003), e outras possuem a capacidade de apresentar até quatro ou mais ondas foliculares (BLEACH, 2004). Segundo Adams *et al.*, (2008) em média as primeiras ondas foliculares iniciam logo após a ovulação, no dia 0 do ciclo estral, a segunda no dia 8 ou 9 já a terceira no dia 15 e 16.

O ciclo estral das vacas é dividido em duas fases, folicular e luteal. A fase folicular compreende o proestro e o estro. O proestro inicia-se após a luteólise, induzida pela liberação de prostaglandina (PGF₂α) resultando na diminuição de progesterona (P₄) e o aumento da produção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH)

produzido pelo hipotálamo sendo concomitante para a produção de hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) pela hipófise, desempenhando função de estimulação das ondas foliculares e crescimento folicular. O estro possui duração nas vacas de 12 a 18 horas, a elevação de estrógeno produzida pelos folículos principalmente o dominante é responsável pelo comportamento de estro, produção de secreções do muco vaginal e uterino, abertura da cérvix para a passagem do sêmen. Já a fase luteal compreende o metaestro e diestro. O metaestro tem duração de dois a três dias, fase esta que ocorre a ovulação, geralmente de 12 a 16 horas após seu início, tendo formação assim do corpo hemorrágico. O diestro possui duração em média de 15 dias, é a fase que tem o desenvolvimento do corpo lúteo (CL) e aumento da produção de P4. Caso não houver a fecundação o útero produz PGF2 α que tem ação no CL promovendo a luteólise, permitindo assim uma nova ovulação (MUKASA-MUGERWA, 1989; GONÇALVES *et al.*, 2008; GODOI *et al.*, 2010).

O protocolo de IATF tem como objetivo sincronizar o surgimento da onda folicular e terminar a fase luteínica de forma uniforme, assim como induzir a ovulação sincronizada do folículo dominante ao final do tratamento hormonal (MENEGUETTI *et al.*, 2009).

2.3. Hormônios Utilizados na IATF

2.3.1. Progestágenos

As substâncias farmacológicas utilizadas para produzir um efeito similar à progesterona recebem o nome de progestágenos. Essas substâncias podem ser administradas por via oral, por meio de implantes subcutâneos, ou através de dispositivos intravaginais da própria P₄ (BÓ, 2000).

A P₄ atua sobre o hipotálamo regulando a liberação de gonadotrofina (GnRH), sendo responsável pela inibição do estro, da estimulação da ovulação e altera a dinâmica folicular (PETERS *et al.*, 2000). A utilização desses progestágenos por um determinado tempo poderá levar ao estro sincronizado, parando o tratamento progestacional faz com o que ocorra o pico de LH e ovulação (COLAZO *et al.*, 2008).

2.3.2. Estradiol (E2)

O estradiol desempenha uma grande influência na atividade folicular e na dinâmica folicular. Elevadas concentrações de E2 têm importância no comportamento da fêmea e acontecimentos copulatórios (GINTHER *et al.*, 1999).

O uso de E2 no início do protocolo inibe a secreção tanto de LH quanto de FSH (MARTINEZ *et al.*, 2003) fazendo com que os folículos entrem em atresia. A liberação posterior de FSH, faz com que haja o recrutamento de uma nova onda folicular (BINELLI *et al.*, 2006). Ao surgir folículos novos com a administração deste medicamento os animais podem ser submetidos ao protocolo de sincronização em dias aleatórios do ciclo estral e receberem um dispositivo intravaginal de P4 (LOIOLA, 2015). De acordo com Atkins *et al.*, (2013) citado por Loiola (2016), as taxas de concepção são favorecidas ao associar a concentração circulante de E2 no momento da inseminação e os níveis séricos de P4 após a ovulação.

Existem resultados que podem atender a fundamentação, a respeito da taxa de concepção de animais observados em estro durante o protocolo de sincronização e que possuem maiores folículos no momento da inseminação artificial. Com base em Vasconcelos *et al.* (2001), isto está associado a maiores níveis circulantes de E2 durante o estro e proestro. Assim, diversos ésteres de E2 têm sido utilizados para sincronizar o estro, na maioria são soluções injetáveis.

Concentrações adequadas de E2 durante o crescimento do folículo são necessárias para aumentar a responsividade da hipófise e proporcionar um adequado ambiente tubárico e uterino, assim como favorecer o estabelecimento e manutenção da gestação (BARATTA *et al.*, 2001; MANN e LAMMING, 2001; NETT *et al.*, 2002; LOIOLA, 2016).

2.3.3. Prostaglandina

O útero é o principal responsável pela produção de PGF₂ α sendo produzida também pelo próprio CL, que é responsável em fazer a luteólise. Seu principal mecanismo luteolítico é favorecer a vasoconstrição consequentemente uma cascata apoptótica (LOPEZ, 2005).

A PGF₂ α precisa de um CL demanda para que se tenha sucesso na sincronização do estro. Durante o uso da PGF₂ α necessita de um CL maduro para que

se tenha a resposta luteólica, visto que dentre os cinco a seis primeiros dias após a ovulação o CL não tem receptores para a ação da PGF2 α (RATHBONE *et al.*, 2001).

Após a administração de PGF2 α nas fêmeas cíclicas, pode ocorrer variação da ocorrência do estro em dois ou mais dias. Esta variação ocorre devido a grandes variações do tempo de resposta a ovulação, o que dificulta a detecção do estro. Assim, com a utilização somente da PGF2 α não se torna viável os programas de IA e transferência de embriões em tempo fixo (TETF) (BO *et al.*, 2002).

Com os fundamentos de Santos (2002), pode-se entender que o uso de agentes luteolíticos como a PGF2 α , ou os seus análogos, que têm sido largamente empregados, tanto na monta natural, como na inseminação artificial e na técnica de transferência de embriões, ao considerar ter sido uma metodologia prática que propicia um estro de fertilidade comparada ao natural.

2.3.4. Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG)

O rebanho bovino brasileiro tem demonstrado um número significativo de animais com baixo escore de condição corporal e amplo período de anestro pós-parto. Isto significa uma baixa eficiência reprodutiva do rebanho nacional, ao considerar que a condição nutricional do animal e a ciclicidade são fatores que podem ter interferência no desempenho reprodutivo. Neste foco, tratamentos hormonais, associados com eCG, têm sido utilizados em rebanhos sob essas condições, com a finalidade de aumentar a pulsatilidade de LH para crescimento folicular e sincronização da ovulação (MELLO *et al.*, 2014).

O eCG auxilia no crescimento folicular e ovulação, por isso ele tem sido usado nos protocolos de IATF. O eCG tem função de FSH e LH, tendo assim a capacidade de desenvolver um ou vários folículos, conforme a dose usada e momento da aplicação (BARUSELLI *et al.*, 2004). O eCG vem sendo utilizado para promover o desenvolvimento de folículos em vacas de baixa condição corporal, em anestro e em vacas recém paridas.

Na fase final de crescimento do folículo dominante quando o eCG é administrado, é capaz de provocar ovulação e/ou luteinização devido sua atividade de LH (BARUSELLI *et al.*, 2004).

Nas fêmeas bovinas poderá ter ação no FSH e LH, quando administrado depois da fase de divergência folicular poderá levar a um folículo dominante maior, maior taxa

de crescimento folicular e maior CL, aumentando a eficiência do protocolo, em comparação às fêmeas que não foram sincronizadas com a utilização do eCG (BARUSELLI *et al.*, 2003).

3. METODOLOGIA

3.1. Animais

O presente estudo foi realizado no período de fevereiro a abril de 2017, no município de Matipó, Minas Gerais. Foram utilizadas 16 vacas cíclicas da raça Tabapuã, com mais de 90 dias pós-parto, não lactantes. As vacas selecionadas para realização do protocolo de IATF foram classificadas de acordo com o escore de condição corporal – ECC, em uma escala de 1,0 a 5,0 apresentando uma variação entre 2,25 a 4,5. Os animais protocolados na IATF são criados em condições de manejo extensivo com pastagens de *Brachiaria decumbens* com fornecimento de sal mineral e água *ad libitum* de boa qualidade.

3.2. Protocolo

No dia zero (D0) às 8 horas foi realizado a administração por via intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (Bioestrogen; Biogénis Bagó), inserção do dispositivo intravaginal com 0,558 g de Progesterona natural (Cronipres[®] Mono dose M-24; Biogénis Bagó) e 10 ml de suplemento vitamínico injetável (Aminoforte; Vitaforte).

No oitavo dia (D8) às 8 horas, retirou-se o dispositivo intravaginal de progesterona, aplicação de 10 mg de D-Cloprostenol (Prolise[®]; TECNOPEC), mais 1 mg de cipionato de estradiol (ECP[®]; Zoetis), 300 UI eCG (Folligon[®]; Intervet) e outra aplicação do suplemento vitamínico por via intramuscular.

No décimo dia (D10), quarenta e oito horas após a retirada do dispositivo intravaginal, foi realizada a Inseminação Artificial. Protocolo:



FIGURA 1: Representação esquemática do protocolo de sincronização de IATF.

3.3. Mensuração do diâmetro folicular

O diâmetro do maior folículo encontrado nos ovários foi mensurado nos dias 8 e 10 do protocolo em cada animal, utilizando um ultrassom (*Chison D600 VET*), com uma probe linear transretal de 7 MHz.

3.4. Inseminação artificial

No D9 foi observado a antecipação geral do cio nas vacas, então foi adiantado o momento da IA. Pela manhã do D10 ao chegar à fazenda, foi organizado sobre uma mesa todo o material da IA dentre eles, o botijão de sêmen, caixa de luvas de palpação, papel toalha, tesoura, aplicador, termômetro digital, pinça, camisa sanitária, bairhas e recipiente com água na temperatura de 35°C a 37 °C.

Após colocar as vacas no tronco foram avaliadas novamente com ultrassom (*Chison D600 VET*) para mensuração do FD. Logo depois, fez-se a higienização da região perineal. Uma paleta foi retirada do botijão com auxílio da pinça e mergulhada na água de 35°C a 37 °C por no mínimo 30 segundos para descongelar o sêmen, em seguida foi feito a retirada da paleta da água com a pinça e realizou-se a secagem com papel toalha e cortada a ponta da paleta na extremidade oposta à bucha em forma de bisel. A palheta foi introduzida na bairha e colocado o aplicador levando-a até a ponta da bairha, que foi revestida com a camisa sanitária. Logo depois realizou a abertura da vulva e colocado o aplicador, inserindo a mão no reto para fazer a captura da cérvix e transpô-la, e assim depositar o sêmen no corpo do útero. Após a retirada do aplicador foi realizada uma massagem no clitóris.

3.5. Diagnóstico de gestação

O diagnóstico de gestação dos animais em experimento foi realizado 45 dias após a inseminação com auxílio de um ultrassom (*Chison D600 VET*), acoplado a uma probe linear transretal de 7 MHz.

3.6. Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância e teste de Tukey a 5% de significância, utilizando o programa BioEstat 5.3.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a idealização do delineamento experimental, foi previsto a retirada do implante intravaginal de P4 no D8 às 8:00 horas da manhã e realizar a inseminação no D10, 54 horas após a retirada do implante. Conforme explica Rossa *et al.* (2009) em suas pesquisas a respeito de vacas Nelore, a IATF com protocolo semelhante ao utilizado neste experimento, deve ser realizada 54 horas após a retirada do implante. No entanto, neste trabalho foi notada a antecipação da ocorrência do estro no D9 no período da tarde, por isso, foi necessário antecipar a inseminação em 6 horas, o que representou 48 horas após a retirada do implante de P4. Dessa forma, como pode-se perceber uma diferenciação das respostas das fêmeas ao comparar com os estudos de Rossa *et al.* (2009). Esse adiantamento de estro pode ter se dado devido ao bom escore corporal do rebanho, utilização do eCG e fisiologia da raça, mais não se sabe ao certo o que pode ter levado a essa alteração em horas da manifestação do estro.

A mensuração do Folículo Dominante (FD) no dia 8 teve média de $10,13 \pm 2,76$ mm e no dia 10 de $11,15 \pm 1,99$ mm. Das 16 vacas utilizadas neste experimento, foi confirmada a gestação em 11 delas, obtendo uma taxa de concepção 68,75%, e escore de condição corporal médio de 3,45 (TABELA 1).

Tabela 1 – Avaliação da média e desvio-padrão do diâmetro do FD no dia 8 e 10 do protocolo, taxa de concepção e ECC em vacas da raça Tabapuã.

N	Diâmetro FD (mm) D8	Diâmetro FD (mm) D10	Taxa de Concepção (%)	ECC
16	$10,13 \pm 2,76$	$11,15 \pm 1,99$	68,75	$3,45 \pm 0,68$

Valores são mostrados como média \pm desvio padrão. FD: Folículo Dominante; ECC: Escore de Condição Corporal

A média do FD no D8 e D10 nas vacas gestantes foi de $9,68 \pm 3,09$ mm e $11,3 \pm 1,95$ mm, respectivamente, com escore médio de $3,34 \pm 0,74$. Nas vacas não gestantes, a média do FD no dia 8 de $11,11 \pm 1,75$ mm, no dia 10 de $10,64 \pm 2,48$ mm e com ECC $3,7 \pm 0,43$. Na comparação entre o FD no dia 8 e 10 do protocolo, não foi verificada diferença entre as vacas que ficaram gestantes e a não gestantes ($P > 0,05$), entre vacas gestantes e não gestantes (TABELA 2).

Tabela 2 - Avaliação da média e desvio-padrão do diâmetro do FD no dia 8 e 10 do protocolo das vacas gestantes e não gestantes e ECC.

	Diâmetro FD (mm) D8	Diâmetro FD (mm) D10	ECC
Gestantes	$9,68 \pm 3,09^a$	$11,3 \pm 1,95^a$	$3,34 \pm 0,74^a$

Não gestantes $11,11 \pm 1,75^a$ $10,64 \pm 2,48^a$ $3,7 \pm 0,43^a$
Valores são mostrados como média \pm desvio padrão. (P> 0,05).

Ao contrário dos achados desta pesquisa, Ribeiro Filho *et al.* (2013) identificaram uma diferença significativa no tamanho do FD em novilhas Nelore que ficaram ou não gestantes após a realização de um protocolo de IATF. As vacas gestantes tiveram média de $13,33 \pm 2,40$ mm e as não gestantes $11,27 \pm 2,75$ mm.

Outros autores como Borsato *et al.* (2004) *apud* Ribeiro Filho *et al.* (2010) também confirmam que a diferença no tamanho do folículo dominante influencia a taxa de concepção na IATF. Os autores em questão afirmam que novilhas (*Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*) que apresentaram folículos com média de $12,31 \pm 2,03$ mm de diâmetro obtiveram maior taxa de concepção que novilhas com folículos com média de $6,57 \pm 4,59$ mm de diâmetro.

Segundo Butler *et al.* (2011) a melhor resposta ovulatória está relacionada ao folículo de maior diâmetro, constatando que em novilhas de corte que apresentam folículos de maior diâmetro têm maior taxa de concepção, sugerindo assim, um maior sucesso nos protocolos de IATF.

Sá Filho *et al.* (2010a) dividiram os animais de acordo com o diâmetro do FD e relacionaram com a taxa de concepção obtida em vacas da raça Nelore com 50,5% e Nelore/Angus com 54,7%. Os grupos de diâmetros analisados foram de <7,5mm; de 7,5 a 11mm; de 11,1 a 14,4mm e >14,4mm, que corresponderam as taxas de concepção de 27,5%, 46,6%, 57,9% e 63,3%, respectivamente. Dessa forma, foi verificado que quanto maior o diâmetro do folículo dominante no momento da IA, maior foi a taxa de concepção alcançada.

Também foi verificado por Sá Filho *et al.* (2010b) perante um estudo em vacas da raça Nelore submetidas a um protocolo de IATF com utilização de eCG, que ocorreu relação do diâmetro do FD e a maior probabilidade de concepção.

No entanto, na pesquisa realizada não foi observado um resultado significativo entre o diâmetro dos folículos das vacas que ficaram ou não gestante. Assim como observado por Meneguetti *et al.* (2009), que também confirmou que o diâmetro do folículo dominante afetou positivamente a taxa de ovulação mais não teve influência na taxa de concepção em vacas nelore com ECC entre 3 e 4.

Neste trabalho, apesar do folículo dominante não ter atingido um diâmetro superior ao encontrado em outros relatos na literatura, a taxa de concepção obtida foi

elevada. Conforme dito por Simões *et al.* (2012), as vacas que atingem diâmetro do FD igual ou superior a 7,0mm aumenta a possibilidade de concepção com o aumento do diâmetro folicular.

Ao considerar os avanços da IATF utilizando vários tipos de protocolos, notam-se índices médios de concepção entre 45 a 65% em rebanhos de corte (MENEGUETTI *et al.*,2009; SÁ FILHO *et al.*, 2010a). Neste trabalho o índice de concepção obteve uma média de 68,75% em vacas da raça Tabapuã, superior aos resultados encontrados por outros autores. Dias *et al.* (2013) relataram que em seu trabalho obtiveram uma taxa concepção de 50,2% em vacas Nelore, que é um resultado aceitável de acordo com Meneguetti *et al.* (2009) e Sá Filho *et al.* (2010a). Já Ribeiro Filho *et al.* (2013) alcançou uma média de 57,47% no seu estudo em vacas Nelore.

Em nosso trabalho com a utilização do eCG obtivemos uma taxa de concepção elevada (68,75%) próximo aos resultados de Freitas *et al.* (2007). No entanto, foi utilizado um protocolo de resincronização para obter uma taxa de concepção 75% em seu estudo.

Portanto, vale destacar que o resultado deste trabalho incidiu acima da média descrita na literatura. No entanto, se fossem seguidas as orientações determinadas na literatura para a hora da IA em vacas de corte, este resultado não seria alcançado. Assim, novas pesquisas deverão ser realizadas com base nestes resultados para que possa elucidar com base na dinâmica folicular da raça Tabapuã, o melhor momento de resposta a cada hormônio empregado na IATF.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Assim, a eficiência do protocolo de IATF com o uso de eCG associado ao bom escore corporal pode fazer o adiantamento do estro. Foi notado que a concepção acontece mesmo que a ovulação ocorra em folículos com menor diâmetro.

6. REFERÊNCIAS

ADAMS, G. P.; JAISWAL, R.; SINGH, J.; MALHI, P. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. **Theriogenology**, v. 69, p. 72-80, 2008.

ATKINS, B. D.; SMITH, M. D.; MACNEIL, E. M.; JINKS, F. M.; ABREU, L. J.; ALEXANDER, T. W.; GEARY apud LOIOLA, M. V. G. **Marcadores de fertilidade e associação da suplementação exógena com progesterona a protocolos de IATF em gado de corte**. Salvador: Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos, 2016 p.77.

BARATTA *et al.*, 2001; MANN e LAMMING, 2001; NETT *et al.*, 2002; LOIOLA, 2016.
Concentração hormonal no organismo da vaca durante protocolos de IATF.
Salvador, Bahia: UFBA -Universidade Federal da Bahia, 2001

BARUSELLI, P. S.; AYRES, H.; SOUZA, A. H.; MARTINS, C. M.; GIMENES, L. U.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S. Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em bovino de corte. In: **2º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada - Biotecnologia da Reprodução de Bovinos.** Londrina, Paraná. Anais. p. 113 -132, 2006.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; REIS, E. L.; BÓ, G. A. Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with CIDR-B devices for timed artificial insemination. **Theriogenology**, v.59, n.1, p.214, 2003.

BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; BO, G. A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 479-486, 2004.

BARUSELLI, P. S.; SALES, J. N. S.; SALA, R. V.; VIEIRA, L. M.; SÁ FILHO, M. F. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Animal Reproduction**, v. 9, p. 139-152, 2012.

BINELLI, M.; IBIAPINA, B. T.; BISINOTTO, R. S. Bases fisiológicas, farmacológicas e endócrinas dos tratamentos de sincronização do crescimento folicular e da ovulação. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, n. Supl 1, p. 1-7, 2006.

BLEACH, E.C.L.; GLENCROSS, R.G.; KNIGHT, P.G. Association between ovarian follicle development and pregnancy rates in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycles. **Reproduction**, 127:621-629; 2004.

BÓ, G. A.; CUTAIA, L.; TRIBULO, R. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. **Taurus**, v. 15, n. 15, p. 17-32, 2002.

BORSATO, E. A.; LUDWIG JR., H. E.; RUBIN, K. C. P.; SAUT, J. P. E.; BARREIROS, T. R. R.; SENEDA, M. M. Relação entre o tamanho do folículo ovulatório e taxa de concepção em novilhas *Bos taurus* x *Bos indicus* submetidas a inseminação artificial em tempo fixo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 28, n. 3, p. 137-142, 2004.

BUTLER, S. A. A.; PHILLIPS, N. J.; BOE-HANSEN, G. B.; BO, G. A.; BURNS, B. M.; DAWSON, K.; MCGOWAN, M. R. Ovarian responses in *Bos indicus* heifers treated to synchronise ovulation with intravaginal progesterone releasing devices, oestradiol benzoate, prostaglandin F_{2α} and equine chorionic gonadotrophin. **Animal Reproduction Science**, v. 129, p. 118-126, 2011.

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; DAVIS, H.; RUTLEDGE, M. D.; MARTINEZ, M. F.; SMALL, J. A.; MAPLETOFT, R. J. effects of progesterone concentration on LH release and ovulation in beef cattle given GnRH. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 34, p.109-117,2008.

DIAS, E. A. R.; ARRUDA, R. P.; VIDESCHI, R. A.; GRAFF, H. B.; SOUSA, A. M.; MONTEIRO, F. M.; RIBEIRO, E. G.; CARREIRA, J. T.; ATIQUE NETTO, H.; PERES, R. F. G.; OLIVEIRA, L. Z. O uso de eCG influencia a taxa de concepção em vacas nelore de diferentes condições corporais submetidas ao mesmo protocolo de IATF. **Boletim Indústria animal**, Nova Odessa, v.70, n.3, p.215-220, 2013.

EMBRAPA. Nelore: Base genética e evolução seletiva no Brasil. Planaltina: Embrapa, 2002. 50p.

FERNANDES, C.A.C. **Efeito do tratamento com hormônio folículo estimulante (FSH) sobre a taxa de gestação de novilhas mestiças usadas como receptoras de embrião**. Viçosa, MG: UFV. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1994, 63 p.

FERREIRA, A. M.; VIANA, J. H. M.; SA, W. F. **Restrição alimentar e atividade ovariana luteal cíclica pós-parto em vacas girolando**. Brasília: Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 35, n. 12, p. 2521-2528, out. 2000.

FREITAS, D. S.; CHALHOUB, M.; ALMEIDA, A. K. C.; SILVA, A. A. B.; SANTANA, R. C. M.; RIBEIRO FILHO, A. L. Associação do diagnóstico precoce de prenhez a um protocolo de ressincronização do estro em vacas zebuínas. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v.8, n.3, p. 170-177, julho/setembro, 2007.

GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R.; KULICK, L. J.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle: establishment of follicle deviation in less than 8 hours through depression of FSH concentrations. **Theriogenology**, v. 52, n. 6, p. 1079-1093, 1999.

GODOI, C. R., SILVA, E. F. P. e PAULA, A. P. Inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos de corte. **PUBVET**, Londrina, v. 4, n. 14, Ed. 119, Art. 807, 2010.

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. 2.ed. São Paulo: Editora ROCA, p.270. 2008.

GOTTSCHALL, C. S.; ALMEIDA, M. R.; TOLOTTI, F.; MAGERO, J.; BITTENCOURT, H. R.; MATTOS, R. C.; GREGORY, R. M. Avaliação do desempenho reprodutivo de vacas de corte lactantes submetidas à IATF a partir da aplicação do GnRH, da manifestação estral, da reutilização de dispositivos intravaginais e da condição corporal. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 40, n1, p.1-10. 2012.

HENRIQUE, E. A. **Superovulação para transferência de embriões em Bos Taurus e Bos Indicus** 2007, p. 56. Monografia (medicina veterinária). Pontifícia universidade católica de minas gerais campus de poços de caldas.

LEMES, A. P. **Taxa de prenhez em vacas Nelore pós-parto, submetidas ou não a aplicação de ECG 2 dias antes e/ou 14 dias após a IATF**. Piracicaba, 2012. 78p. Dissertação/Mestrado. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

LOIOLA, M. V. G. **Comparação de dois ésteres de estradiol como indutores da ovulação sobre o diâmetro folicular e a taxa de gestação de bovinos leiteiros submetidos a programa de Inseminação Artificial em Tempo Fixo**. Salvador: UFB,

Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Anatomia, Patologia e Clínicas, 2015.

LOIOLA, M. V. G. **Marcadores de fertilidade e associação da suplementação exógena com progesterona a protocolos de IATF em gado de corte.** Salvador Bahia: Universidade Federal da Bahia Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos, 2016.

LOPEZ, J. P. S. **Ovarian and hormonal events during synchronization of ovulation and timed appointment breeding of Bos indicus- influenced cattle using intravaginal progesterone, GnRH and prostaglandin F2alfa.** 2005. 96 f. (Master of Science) - Texas A&M University 2005.

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

MANN, G.E.; LAMMING, G.E., NETT, C, et al. **Fatores nutricionais associados à reprodução da fêmea bovina.** Viçosa: Reproduction, 2002

MAPLETOFT, R. J.; BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. **Control of ovarian function for assisted reproductive technologies in cattle.** São Paulo, SP: USP, Departamento de Reprodução Animal, p. 114-124, 2009.

MARTINEZ, M. F.; COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. Effects of estradiol and progesterone on plasma steroid and gonadotropin concentrations in CIDR-treated ovariectomized cows. **Theriogenology**, v. 59, p. 224, 2003.

MELLO, R. R. C.; FERREIRA, J. E.; MELLO, M. R. B.; PALHANO, H. B. Utilização da gonadotrofina coriônica equina (eCG) em protocolo. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, n. 38, 2014

MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F. G.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for Bos indicus cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenology**, v. 72, p. 179-189, 2009.

MENEGHETTI, M. **Mês de Parição, Condição Corporal e Resposta a Protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo de Vacas de Corte Primíparas.** Dissertação/Pós-Graduação Universidade Estadual Paulista Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Campos de Botucatu. Botucatu, São Paulo, 2006. 58p.

MONTOVANI, A. P. **Utilização prolongada de dispositivo intravaginal contendo progesterona (CIDR) para indução de folículos persistentes em receptoras de embrião bovino.** São Paulo: Universidade de São Paulo, 2003 p. 41

MONTOVANI, A. P. **Função ovariana e produção de embriões em novilha de raça Nelore submetidas a baixa ou alta ingestão alimentar.** Brasília: UnB, Medicina Veterinária, 2003

MUKASA-MUGERWA, E. A. Review of reproductive performance of female Bos indicus (Zebu) cattle. **ILCA monograph**, v.6, p. 1-34, 1989.

NOSEIR, W. M. B. Ovarian follicular activity and hormonal profile during estrous cycle in cows: the development of 2 versus 3 waves. **Reproduction and Endocrinology**, v.10, p. 1-50, 2003.

PETERS, A. R.; MARTINEZ, T. A.; COOK, A. J. **A meta-analysis of studies of the effect of GnRH 11-14 days after insemination on pregnancy rates in cattle.** *Theriogenology*, v. 54, n. 8, p. 1317-1326. USA: *National Library of Medicine*, 2000.

RABASSA, R. R.; PFEIFER, L. F. M.; SCHNEIDER, A.; LUZ, E. M.; COSTA, E. R. M.; CORRÊA, M. N. Anestro pós-parto em bovinos: Mecanismo fisiológico e alternativa hormonais visando reduzir este período – uma revisão. **Revista da FZVA**, Uruguaiiana, v 14, n1, p. 139-161. 2007.

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. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 50, n. 3, p. 277-320, 2001.

RIBEIRO FILHO, A. L.; FERRAZ, P. A.; RODRIGUES, A. S.; BITTENCOURT, T. C. B. S. C.; LOIOLA, M. V. G.; CHALHOUB, M. Diâmetro do folículo no momento da inseminação artificial em tempo fixo e taxa de concepção em vacas nelore. **Ciência animal**, Goiânia. v.14, n.4, p.501-507, outubro/dezembro. 2013.

ROSSA, L. A. F.; BERTAN, C. M.; ALMEIDA, A. B. de; G., P. dos Santos; RODRIGUES, P. H. M.; BINELLI, M.; BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H. Efeito do 128CG ou benzoato de estradiol associado ao norgestomet na taxa de concepção de vacas de corte submetidas à IATF no pós-parto. São Paulo: **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, n. 3, p. 199-206, 2009.

SÁ FILHO, M. F.; CRESPILO, A. M.; SANTOS, J. E. P.; PERRY, G. A.; BARUSELLI, P. S. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin- based protocols in suckled *Bos indicus* cows. **Animal Reproduction Science**, v. 120, p. 23-30, 2010a.

SÁ FILHO, M. F.; TORRES-JUNIOR, J. R. S.; PENTEADO, L.; GIMENES, L. U.; FERREIRA, R. M.; AYRES, H.; CASTRO E PAULA, L. A.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S. **Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers.** *Animal Reproduction Science*, v. 118, p.182-187, 2010b.

SANTOS, B. R. C. dos. **Hormonioterapia na reprodução.** Porto Alegre: Seminário apresentado na disciplina Endocrinologia da Reprodução do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRGS, 2002.

SIMÕES, R. A. L.; SATRAPA, R.A.; ROSA, F. S.; PIAGENTINI, M.; CASTILHO, A. C. S.; ERENO, R. L.; TRINCA, L. A.; NOGUEIRA, M. F. G.; BURATINI JR, J.; BARROS, C. M. Ovulation rate and its relationship with follicle diameter and gene expression of the LH receptor (LHR) in Nelore cows. **Theriogenology**, v. 77, p.139-147, 2012.

VASCONCELOS, J. L. M.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H. N.; GUNTHER, J. G.; WILTBANK, M. C. **Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate.** Salvador, Bahia: Theriogenology, v. 56, p. 307314, 2001.

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE RECUPERAÇÃO OVOCITÁRIA E PRODUÇÃO DE EMBRIÕES EM DOADORAS DAS RAÇAS GIR E GIROLANDO SUBMETIDAS À ASPIRAÇÃO FOLICULAR GUIADA POR ULTRASSOM

Acadêmicos: José Camilo Vaz Pedrosa e Jean Pedro Cordeiro Silva

Orientadora: Vívian Rachel de Araújo Mendes

RESUMO

Com o desenvolvimento da técnica de aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassom (OPU) em doadoras potenciais, o processo de produção *in vitro* de embriões (PIVE) gerou um avanço na multiplicação de descendentes por animal. O objetivo do trabalho foi avaliar a taxa de recuperação ovocitária e a produção de embriões de animais submetidos a aspiração folicular guiada por ultrassonografia. Foram utilizados 44 animais das raças Gir e Girolando, com diferentes idades, todos os animais foram submetidos aos cuidados sanitários adequados, vacinados contra febre aftosa, leptospirose, brucelose, clostridiose e fármacos para controle de ectoparasitas e endoparasitas, não sendo submetidas a nenhum tipo de estimulação hormonal. A aspiração folicular foi realizada com auxílio de ultrassom usando o transdutor microconvexo de 5 ou 7,5 MHz conectado a uma guia transvaginal. Os resultados obtidos representaram um total de 1724 ovócitos recuperados e 3,92% de embriões por vaca, sendo que as doadoras da raça Gir 1523 ovócitos e 4,58% embriões e na raça Girolando 271 ovócitos e 1,84% embriões. Houve animais com índice inferiores de embriões, já outros tiveram excelente desempenho. É que quanto maior número de ovócito recuperados, maior a média de embriões em relações as que produziram menos.

PALAVRAS - CHAVE: Aspiração; Biotecnologia; Bovino; Embrião.

1- INTRODUÇÃO

O agronegócio brasileiro tem como destaque a bovinocultura (RUNPF, 2007). E Brasil é o primeiro na lista de produção de embrião bovinos do mundo (THIBIER, 2008). A importância deste setor desperta o interesse de pesquisadores em buscar novas biotecnologias para o melhoramento genético e aproveitamento destes animais (FONSECA *et al.*, 2001). Com o desenvolvimento da técnica de aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassom (*ovum pick up* - OPU) em doadoras potenciais, o processo de produção *in vitro* de embriões (PIVE) gerou um avanço na multiplicação de descendentes por animal (RUMPF *et al.*, 2000). A OPU vem sendo utilizada desde 1988 (KRUIP *et al.*, 1994) com intuito de melhorar a recuperação de ovócitos chegando ao maior número de embriões produzidos por animal. Adicionalmente, expandir o potencial reprodutivo aumentando número de animais de alto valor genético e zootécnico (RENESTO e COELHO, 2004).

Na vida reprodutiva normal de uma vaca ela sendo inseminada ou coberta por monta natural ela vai obter no máximo um bezerro por ano (SAUMANDE *et al.*, 1984). Quando se realiza a técnica de aspiração folicular para produção de embrião (PIVE) a média de produção pode chegar a 1,5 embriões por semana (KRUIP *et al.*, 1994).

A OPU é uma etapa que está relacionada com o resultado final de todo o processo de produção de embriões (SENEDA *et al.*, 2005). Portanto, as pesquisas relacionadas à técnica visam melhorar o aproveitamento na recuperação de ovócitos, aumentar o aproveitamento reprodutivo dos animais em um intervalo de tempo menor que o natural. Desta forma, deve se ter o conhecimento e bom desempenho na realização da técnica visando o melhor aproveitamento e conseqüentemente melhores resultados (SENEDA *et al.*, 2005). Objetivo avaliar o desempenho reprodutivo de animais submetidos a aspiração folicular guiada por ultrassonografia. Trabalho como este tem como importância demonstra a eficiência de novas biotécnicas aplicadas à reprodução, visando melhor aproveitamento reprodutivo de animais com autovalor zootécnico.

2- FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A foliculogênese inicia-se na vida fetal, aproximadamente aos 90 dias de gestação com a produção de folículos primordiais, considerados uma unidade funcional do ovário que consiste do ovócito primário circundado por uma camada de célula da pré-granulosa (MAYES; SIRAND, 2002). Os folículos primordiais consistem em uma reserva de folículos que são ativados ao crescimento, dando seqüência ao desenvolvimento dos folículos. Durante este desenvolvimento, são observadas algumas modificações, como a transição do formato das células da granulosa de achatadas para cuboides e o aumento do número de camadas de células que envolvem o ovócito, denominados dessa forma de folículos primários. O folículo secundário apresenta duas camadas de célula cuboides e neste estágio ocorre o surgimento da zona pelúcida em volta do ovócito (FAIR *et al.*, 1995).

Zona pelúcida começa a se formar em volta do ovócito e as células da teca podem ser visualizadas em torno da lâmina basal (KACINKIS *et al.*, 1994).

No desenvolvimento do folículo pré-antral surge à junção gap, que faz a ligação com as células da granulosa, permitindo levar aminoácidos, metabolitos e moléculas sinalizadoras que auxilia na formação do ovócito (GILCHRIST *et al.*, 2008). É

necessário que haja a célula do cúmulo que nutri o ovócito (DUMESIC *et al.*, 2015). Folículos terciários se diferem por presença do antro, o líquido presente no antro tem função controladora de secreção como esteroides, enzimas, glicoproteínas, lipoproteínas e fator de crescimento (VAN DEN HURK; ZHAO, 2005). Na fase antral o folículo necessita das gonadotrofinas em que consiste em crescimento de ondas foliculares, que se difere em três etapas, recrutamento, seleção e dominância. Na fase de recrutamento os folículos se encontram ativos havendo um grupo recrutado para crescer sendo dependentes de hormônio estimulante folicular (FSH), (MARTINS *et al.*, 2008). Em fêmeas bovinas os folículos a partir de 4 mm passam para fase de recrutamento e quando atinge de 7-8 mm continua o crescimento de apenas um dos folículos selecionado sendo aquele que tiver o maior número de receptores LH, impedindo o desenvolvimento dos demais folículos subordinados (FAIR, 2003). O folículo selecionado atinge tamanho de 8 mm e passa a ser dominante, ou folículo pré-ovulatório, que irá ovular dependente do pico de LH (HYTTEL *et al.*, 1997), (SIRARD *et al.*, 2006) .

Aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassom (*ovum pick up* - OPU) é um método de recuperação de ovócitos assistida de fêmeas bovinas vivas, com objetivo de produzir embriões *in vitro* (PIVE). Hoje este método se encontra em diversos países sendo o Brasil uma referência nesta técnica (STROUD e CALLESEN, 2012). Esta biotecnologia vem sendo o pilar do melhoramento do rebanho bovino, sendo a cada dia mais necessário para vencer os problemas que vem surgindo ao longo dos anos. Com o uso da (OPU-PIVE) podemos produzir inúmeros descendentes ao ano, tendo um aproveitamento maior de animais com alto valor zootécnico e genético (VISHWANATH, 2003). Pode se dizer que o método de produção *in vitro* de embriões em laboratório é uma biotecnologia nova e de grande interesse que vem auxiliando o aumento do números de animais geneticamente superiores. Este método fica reconhecido em 1978 com o nascimento de Louise Brown primeiro bebê de proveta (STEPTOE e EDWARDS, 1978). Mas o pioneiro na espécie bovina foi o nascimento de bezerros por uma fecundação *in vitro* em 1981 (BRACKETT *et al.*, 1982). No entanto, a PIVE para o mercado só veio ser realizado com o auxílio da técnica de obtenção de ovócitos de vacas vivas através da aspiração folicular guiada por ultrassom. Os benefícios da OPU-PIV foram descritos por Pieterse *et al.*, (1988), que despertou interesse de pesquisadores sobre a técnica com o objetivo de otimizar a PIVE (HASLER, 2003)

Produção *in vitro* de embriões (PIVE) tem como benefício a possibilidade de escolha do sexo, maior aproveitamento genético, proliferação de raças, auxiliar na venda de material genético, armazenamento de material, melhor aproveitamento do gameta masculino (GONÇALVES *et al.*, 2002). Nos últimos anos o número de embriões produzidos *in vitro* cresceu no Brasil. Empresas especializadas na venda de embriões destacaram-se no mercado com a disseminação da biotécnica e um grande número de embriões produzidos e transferidos, chegando a ter uma produção no Brasil, mas de 450 mil embriões produzidos em 2015 segundo a Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (RODRIGUES *et al.*, 2016). Na aplicação da técnica de aspiração folicular é realizada uma avaliação prévia das doadoras que consiste na avaliação dos ovários, supondo que este animal terá uma boa resposta na futura aspiração. Após a avaliação, o animal pode estar ou não apto a ser aspirado. Pela monta natural ou inseminação artificial (IA) conseguimos ter no máximo um descendente a cada ano, e com o avanço das biotecnologias da reprodução surgiram novos métodos para o melhor aproveitamento genético. Um destes métodos é a superovulação e a transferência de embrião (SOV-TE), que pode ter um aproveitamento de cerca de 25 embriões ao ano chegando ao um somatório de 100 embriões ao longo da vida de uma doadora (SAUMANDE *et al.*, 1984). Com o uso da OPU-PIVE pode se obter uma média de ovócitos aspiração de $(1,1 \pm 0,9$ a $38,6 \pm 12,9)$ dando uma média de 0,6 e 3,5 embriões coletados por aspiração, dando cerca de 1,5 embriões por semana (WATANABE *et al.* 1998a). Temos a vantagem reduzir o espaço de tempo entre as gerações sendo uma importante ferramenta para o melhoramento genético em bovinos (BETTERIDGE *et al.*, 1989). Este método pode ser realizado também em vacas até o 3º mês de gestação (KRUIP *et al.*, 1994), animais a partir dos oitos meses de idade (SAUVÉ *et al.*, 1998), doadoras com anomalias reprodutiva como cisto, metrites crônica (LOONEY *et al.*, 1994),

Existe uma diferença entre doadoras em resposta à OPU, podendo ter animais com melhor desempenho e outros não tão favoráveis (NIBART *et al.*, 1995). Existe uma grande influência em relação à raça da doadora, as fêmeas *Bos taurus taurus* possuem em média 2 a 3 ondas foliculares enquanto os *Bos taurus indicus* possuem 3 a 4 ondas foliculares. As raças *Bos taurus indicus* ainda exibem um maior número de folículos recrutados a cada onda folicular comparado às *Bos taurus taurus*, o que fazem que estas fêmeas de origem zebuína tenham uma melhor resposta na OPU (BARUSELLI *et*

al., 2007). O desempenho individual de cada doadora também reflete um número diferente de ovócitos recuperados mesmo tratando-se de animais de uma mesma raça (BONI *et al.*, 1997). Outros fatores como idade, escore de condição corporal (ECC), utilização de hormônios e também fatores relacionados a técnica como mobilização não suficiente para o procedimento, ausência de habilidade do aspirador, tipo e formato do transdutor, intensidade do vácuo, tipo de agulha para punção também podem influenciar a taxa de recuperação de ovócitos aspirados (BOUSQUET *et al.*, 1999; BOLS *et al.*, 2004; SENEDA *et al.*, 2005).

A frequência de aspiração pode influenciar diferentes resultados dependendo do intervalo de tempo entre aspiração (KRUIP *et al.*, 1994), podendo chegar a uma frequência de até 2 vezes por semana (REICHEMBACH *et al.*, 1994).

O ovócito pode apresentar sua capacidade de maturação, fecundação e potencial de desenvolvimento embrionário visto que pela (CCO) células do *cumulus* ovócito. Aparentemente, os ovócitos que tem maior capacidade de viabilidade devem apresentar o plasma homogêneo com granulações finas de coloração marrom e completamente envolvidas por várias camadas de células do *cumulus* dispostas de forma compacta. (MIRANDA *et al.*, 2010).

Grau I: CCO compacto, mais do que 3 camadas de células do *cumulus* e ovócito com citoplasma homogêneo.

Grau II: CCO compactos, com 3 ou menos camadas de células do *cumulus*, ou ovócito com citoplasma levemente heterogêneo.

Grau III: Ovócitos mostrados remoção completa das células do *cumulus* em menos de 1/3 da superfície da zona pelúcida.

Desnudo e/ou degenerado: Ovócitos com nenhuma célula do *cumulus* sobre a maior parte da zona pelúcida e/ou vacuolização retração do citoplasma

Cumulus expandido: CCO mostrando expansão das células do *cumulus*. Grázia *et al.*, (2014).

A maturação *in vitro* ocorre para que os ovócitos atinjam a sua capacidade de serem fecundados e de atingir forma estágio de blastocisto. Nesta etapa ocorrem várias modificações no seu citoplasma e no núcleo. Durante o desenvolvimento, os ovócitos encontram-se na fase diplóteno da prófase I ou fase de vesícula germinativa. *In vivo* a progressão do desenvolvimento meiótico recomeça logo após um pico de LH, e *in vitro* a remoção ovócito do ambiente folicular é necessário para iniciar a maturação nuclear.

A maturação nuclear do ovócito é o desenvolvimento da fase diplóteno da primeira prófase meiótica AA fase de metáfase II. Em bovinos a maturação tem duração que varia de 18 a 24 horas, realizada em atmosfera controlada 5% de CO₂ com umidade saturada (GONÇALVES *et al.*, 2002).

A fertilização *in vitro* ocorre através da incubação dos ovócitos maduros com espermatozoides capacitados ocorrendo a junção do material genético masculino e feminino para a formação do zigoto. Nesta etapa é realizada uma seleção dos espermatozoides eliminando aqueles não viáveis e as impurezas, aumentando a quantidade de espermatozoides aptos a fecundar o ovócito. A incubação dos ovócitos junto aos espermatozoides dura em média 18 a 22 horas nas mesmas condições de maturação (GONÇALVES *et al.*, 2002). O cultivo *in vitro* é o período de desenvolvimento embrionário até o estágio de blastocisto, com duração de sete dias (HOLM *et al.*, 1999).

3- METODOLOGIA

O experimento foi realizado em uma fazenda, no município de Miradouro Minas Gerais na Zona da Mata, latitude 20° 53'26"S e longitude 42° 20'33" w no período de 14 de abril de 2014 até 12 de agosto de 2016. Foram utilizados 44 animais das raças Gir leiteiro e Girolando, com idades diferentes. Os animais são mantidos em regime de pastejo rotacionado com capim Mombaça, entre os meses de maio a outubro foi fornecido silagem de milho, além de água e sal mineral *ad libitum*. Todos os animais foram submetidos aos cuidados sanitários adequados, vacinados contra febre aftosa, leptospirose, brucelose, clostridiose e drogas para controle de ectoparasitas e endoparasitas. As fêmeas estudadas apresentam um alto valor genético, não sendo submetidas a nenhum tipo de estimulação hormonal.

O procedimento foi realizado por um Médico Veterinário de uma empresa especializada em produção *in vitro* de embriões. Foi realizada a avaliação ultrassonográfica do ovário, visando a seleção de animais com maior número de folículos. Os animais selecionados foram contidos em tronco de contenção apropriado, sendo realizada tricotomia e antissepsia com iodo a 2% e álcool 70% na região da 2^o e 3^o vertebra coccígeas, e submetidos anestesia epidural intercoccígea neste local, com a administração de 2 a 4 ml de cloridato de lidocaína 2%, o volume administrado

dependeu do peso e raça do animal, tendo como objetivo facilitar o manuseio dos ovários através do reto durante aspiração folicular. Em seguida, foi realizada a limpeza do reto retirando todas as fezes seguido de lavagem do períneo e vulva desinfecção com álcool e secagem com papel toalha.

A aspiração folicular foi realizada com auxílio de ultrassom usando o transdutor microconvexo de 5 ou 7,5 MHz conectado a uma guia transvaginal. Com auxílio de uma agulha 18G conectada a uma linha de aspiração e bomba de vácuo ajustada a uma pressão de vácuo de 72 a 78 mmHg, com vazão de 15 ml de meio de coleta por minuto. Como meio de coleta foi utilizado o PBS suplementado com heparina e soro fetal bovino, que deverá estar a uma temperatura de aproximadamente 36°C, assim como o tubo coletor. Os folículos aspirados foram posicionados no percussor da linha de punção indicada no monitor do ultrassom, possuíam ter entre 2 a 8mm de diâmetro.

O material aspirado foi transferido para o filtro de coleta de embriões e lavado com a mesma solução utilizada na aspiração, o sedimento restante no filtro foi observado em placas com a utilização de um estereomicroscópio, sendo selecionados os ovócitos que apresentarem grau de qualidade ótima ou boa. Os ovócitos foram transportados ao laboratório em meio de maturação TCM 199 com sais de Earle suplementado com SFB e 1,0µg/mL de FSH, 50UI/mL de hCG, 1,0µg/mL de estradiol, 0,2mM de piruvato de sódio, 83,4µg/mL de amicacina à temperatura de 38,5°C e atmosfera de 5% de CO₂ em ar, acondicionado em caixa transportadora adaptada, sendo ideal não ultrapassar 8 horas após o início da aspiração da fazenda até o laboratório. Chegando ao laboratório os ovócitos foram transferidos para as microgotas cobertas por óleo mineral montadas em placas descartáveis de 30 cm de diâmetro e maturados por 24 horas a partir do horário da aspiração incubadas em estufa a 38,5°C em atmosfera de 5% de CO₂ e 95% de umidade. Após a maturação foi realizada a fecundação *in vitro* dos ovócitos. O sêmen utilizado foi preparado pelo método gradiente de densidade de Percoll, onde foram separados os espermatozoides viáveis. Após o tempo de fecundação os prováveis zigotos foram cultivados por 7 dias em meio CR2aa acrescido de 10% de soro fetal bovino em gotas de 50µL sob óleo mineral e cultivados com células granulosas nas mesmas condições de fecundação. No dia 6 e 7 serão avaliados os estágios de desenvolvimento dos embriões formados, em blastocisto inicial, blastocisto, blastocisto expandido, blastocisto eclodido. O meio de cultivo é renovado em cada microgota no 4º dia de cultivo.

4- RESULTADOS

Para o experimento foram utilizados dados de 11 sessões de aspiração de 44 doadoras da fazenda Alegria, totalizando 108 aspirações no período do experimento. Foram recuperados no total de 1794 ovócitos, uma média de 16,61 ovócitos por aspiração, sendo 1179 viáveis e média de 10,91 ovócitos por aspiração. 429 embriões foram produzidos, o que representou uma média de 3,92 embriões por aspiração (TABELA 1).

Tabela 01. Número total e médias de ovócitos recuperados, ovócitos viáveis e embriões produzidos de 108 aspirações foliculares guiadas por ultrassom.

	Ovócitos	Ovócitos viáveis	Embriões
Média	16,61	10,91	3,92
Total	1794	1179	429

Das 44 doadoras submetidas a aspiração folicular, 26 eram vacas da raça Girolando que proporcionaram um total de 271 ovócitos com média de 10,42 ovócitos por aspiração. Destes ovócitos recuperados, 164 foram classificados como viáveis, com média de 6,3 por aspiração, e resultando uma produção de 48 embriões com média de 1,84 por aspiração. As outras 18 doadoras aspiradas eram vacas da raça Gir que foram responsáveis por 1523 ovócitos coletados, com uma média de 18,42 por aspiração, sendo 1015 destes viáveis com média de 12,37 por aspiração, obtendo 376 embriões produzidos, em média de 4,58 por aspiração (TABELA 2).

Tabela 02. Número total e médias de ovócitos recuperados, ovócitos viáveis e embriões produzidos de doadoras da raça Gir e Girolando submetidas à aspiração folicular guiada por ultrassom.

	Gir		Girolando		Fora m
	Média	Total	Média	Total	
Ovócitos	18,42	1523	10,42	271	
Ovócitos viáveis	12,37	1015	6,3	164	
Embriões produzidos	2,58	376	1,84	48	

analisados os dados de doadoras que foram submetidas a repetidas sessões de aspiração folicular durante o período do estudo. Duas vacas foram aspiradas 9 vezes cada, totalizando 18 aspirações das quais foram recuperados um total de 382 ovócitos com média de 21,22 por aspiração, sendo 267 viáveis com uma média de 14,38 e produziram 133 embriões média de 7,38 por aspiração. As duas doadoras apresentaram uma variação de 7 a 50 ovócitos aspirados em seções diferentes. Duas vacas foram aspiradas 6 vezes cada, dando um total de 12 aspirações, sendo

coletados 214 ovócitos com uma média de 17,83 por aspiração, sendo 135 viáveis com média de 12,25, e produziram 39 embriões uma média de 3,25 por aspiração, e apresentaram uma variação de 15 a 40 ovócitos. Seis vacas foram aspiradas 5 vezes totalizando 30 aspirações, das quais foram coletados 614 ovócitos uma média de 20,46 sendo que 401 viáveis com média de 13,36 produzindo 136 embriões uma média de 4,53 por aspiração tendo a variação de 35 a 10. Para três vacas que foram aspiradas 3 vezes foram obtidos 111 ovócitos, uma média de 12,33 ovócitos por aspiração, sendo 71 ovócitos viáveis, com média de 7,88, produzindo 39 embriões uma média de 4,33 por aspiração. Estes três animais apresentaram uma variação de 13 a 22 ovócitos. Sete doadoras foram aspiradas 2 vezes, representando 14 aspirações, das quais foram coletados 185 ovócitos, e uma média de 13,21 sendo selecionados 111 viáveis, em média 7,92 por aspiração, que produziram 25 embriões uma média de 1,78 por aspiração. Também foram contabilizados os dados de aspiração folicular de vinte e duas doadoras submetidas a uma única sessão. O total de ovócitos obtidos dessas doadoras foi de 269 ovócitos, uma média de 12,22, sendo 174 viáveis, média de 7,9, e produzindo 42 embriões, média de 1,9 por aspiração (TABELA 03).

Tabela 03. Análise do número de aspirações por vaca.

Nº animais	Nº vezes aspiradas	Ovócitos		Ovócitos viáveis		Embriões produzidos	
		Total	Média	Total	Média	Total	Média
02	09	382	21,22	267	14,83	133	7,38
02	06	214	17,83	135	12,25	39	3,25
06	05	614	20,46	401	13,36	136	4,53
03	03	111	12,33	71	7,88	39	4,33
07	02	185	13,21	111	7,92	25	1,78
22	01	269	12,22	174	7,90	42	1,9

Dados da produção de embriões mostraram que não houve o desenvolvimento de nenhum embrião proveniente de ovócitos coletados em 17 aspirações. As aspirações que não resultaram na produção de embriões foram de 16 doadoras diferentes, que totalizaram 147 ovócitos, uma média de 8,64, sendo 93 viáveis uma média de 5,47 ovócitos por aspiração (TABELA 04).

Tabela 04. Número total e médias de ovócitos recuperados e ovócitos viáveis de doadoras submetidas à aspiração folicular guiada por ultrassom que não produziram embriões.

	Total	Média
Ovócitos	147	8,64
Ovócitos viáveis	93	5,47
Embriões produzidos	0	0

Onze aspirações provindas de 10 vacas obtiveram uma produção de 100% de embriões. Dessa forma, os 36 ovócitos viáveis selecionados à partir dos 59 ovócitos coletados, produziram 36 embriões, uma média de 3,27 embriões por aspiração (TABELA 05).

Tabela 05. Número total e médias de ovócitos recuperados e ovócitos viáveis de doadoras submetidas à aspiração folicular guiada por ultrassom que produziram 100% de embriões.

	Total	Média
Ovócitos	59	5,36
Ovócitos viáveis	36	3,27
Embriões produzidos	36	3,27

As aspirações foram divididas de acordo com o número de ovócitos coletados das doadoras em: mais de 30, de 20 e 29, de 12 a 19 e menos de 12 ovócitos. Treze aspirações realizadas em 6 doadoras obtiveram 515 ovócitos, com média de 39,61 que produziram 124 embriões com média de 9,53 embriões por aspiração. Aspirações que foram coletados 20 a 29 ovócitos foram provenientes de 13 doadoras em 16 aspirações, onde foram coletados 381 ovócitos, que resultou numa média de 23,81 e produzindo 89 embriões com uma média de 5,56 embriões por aspiração. De 38 aspirações utilizando 25 vacas foram coletados entre 12 a 19 ovócitos, uma média de 15,78 de um total de 600 ovócitos, dos quais foram produzidos 128 embriões com uma média de 3,36 por aspiração. Os procedimentos que resultaram na coleta de menos que 12 ovócitos, foram provenientes de 41 aspirações em 29 vacas com obtenção de 298 ovócitos, com uma média de 7,26, e produzidos 83 embriões tendo uma média de 2,02 por aspiração (TABELA 06).

Tabela 06. Número total e médias de ovócitos recuperados e ovócitos viáveis de doadoras divididos em grupos de acordo com o número de ovócitos coletados por aspiração folicular guiada por ultrassom.

	N° aspirações	Ovócitos		Ovócitos viáveis		Embriões produzidos	
		Total	Média	Total	Média	Total	Média
>30	12	515	39,61	341	26,23	124	9,53
20-29	17	381	23,81	263	16,43	89	5,56
12-19	38	600	15,78	393	10,34	128	3,36
<12	41	298	7,26	182	4,43	83	2,02

5- DISCUSSÕES

Avaliando a média do total de ovócitos coletados nas 108 aspirações realizadas, que resultou em 16,61 ovócitos por aspiração, foi constatado médias semelhantes na literatura. Oliveira *et al.*, (2011), encontraram uma média de 17,8 ovócitos por aspiração em vacas da raça Gir, mesmo sendo utilizado hormônios na sincronização das doadoras. No presente experimento não houve uma pré-sincronização das doadoras submetidas à aspiração folicular. A utilização dos hormônios em bovinos resulta no aumento do número de folículos em crescimento nos ovários, no qual os animais da raça gir do experimento apresentou de 18,57 sendo próximo a de 17,8 segundo Oliveira *et al.*, (2011), o valor do experimento que foi média de 16, 61 por aspiração, comparando com a raça Girolando segundo o Zanin *et al.*,(2013) que apresentou valor de 16,7 foi semelhante ao do estudo mas em relação as doadoras Girolando do trabalho que apresentou média de 10,42 foi inferior segundo Zanin *et al.*,(2013) .

O número de ovócitos viáveis coletados neste trabalho apresentou uma média de 10,91 por aspiração que foi inferior comparado ao valor de 12,7 na raça Gir (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Esta diferença pode ser devido a utilização de hormônios na sincronização das doadoras, é também devido os animais da raça Girolando do experimento ter tido uma média inferior de 6,3 ovócitos viáveis fazendo com que a média geral do experimento fosse menor. Os animais da raça Gir deste experimento apresentaram uma média de 12,37 sem utilização de hormônios próximo o valor de 12,7 ovócitos viáveis em vacas Gir com a utilização de hormônios na sincronização nas doadoras segundo Oliveira *et al.*, (2011). A média de ovócitos viáveis em vacas

Girolando no presente trabalho foi de 6,3 por aspiração, sendo inferior o valor de 9,0 encontrado por Zanin *et al.*, (2013), que pode estar relacionado às condições ambientais inadequadas, manejo e dieta.

Os embriões produzidos no experimento representaram uma média total de 3,92 por aspiração, sendo inferior o valor de 2,1 encontrado em vacas da raça Holandesa por Zago *et al.*, (2011). A média de embriões produzidos na raça Gir foi superior, alcançando 4,58 por aspiração. Diferente das raças *Bos taurus*, os animais da raça Gir, que é a maior parte dos animais utilizados no experimento, apresentam maior número de folículos recrutados por onda de crescimento folicular, e dessa forma apresentam um maior número de ovócitos coletados e conseqüentemente a possibilidade de um maior número de embriões produzidos a partir destes ovócitos. As vacas Girolando do experimento obtiveram uma média de 1,84 embriões semelhante ao de 2,3 para vacas Girolando segundo Zanin *et al.*, (2013). Os animais com uma produção superior a 30 ovócitos tiveram uma média total e de ovócitos viáveis e embriões produzidos por aspiração de 39,61; 26,23 e 9,53 a categoria de animais que produziram de 20 a 29 ovócitos tiveram a produção total de 23,81 ovócitos com a média de 16,41 ovócitos viáveis e 5,56 embriões na categoria de 12 a 19 teve a produção de 15,78 ovócitos totais sendo 10,34 viáveis e produzindo 3,36 embriões.

Os animais que obtiveram uma produção abaixo de 12 ovócitos produziram 7,26 ovócitos totais sendo 4,43 viáveis produzindo 2,02 embriões sendo Oliveira *et al.* (2011) também separou as doadoras em categorias de acordo com a quantidade de ovócitos coletados por aspiração e que as médias obtidas para número total de ovócitos, ovócitos viáveis e embriões produzidos foi semelhante entre os grupos. O desempenho dos animais do experimento em relação à eficiência de acordo com a produção de embriões para avaliar o aproveitamento de 80%- 100% de ovócitos viáveis na produção de embriões, e de animais que tiveram aproveitamento de 0 -20% na produção. Segundo o estudo realizado as doadoras que obtiveram de 80- 100% de aproveitamento tiveram uma produção média por vaca de 6,23 ovócitos referindo-se 3,92 ovócitos viáveis obtendo o aproveitamento de 80 -100% ou seja de média de 3,77 embriões produzidos sendo um valor inferior ao de 17 ovócitos totais que produziram 9,7 ovócitos viáveis tendo o aproveitamento de 80-100% de embriões segundo Grázia *et al.*,(2014), segundo esta variação pode ser devido os animais de diferentes regiões, tendo relação sobre o histórico reprodutivo, idade, número de aspiração. As doadoras

que obtiveram a produção de 0- 20% de embriões teve uma média de ovócitos 13,86 sendo 9,08 de ovócitos viáveis produzindo 0-20% de embriões produzidos valor aproximado o valor de 13,6 de ovócitos total e de 7.9 para ovócitos viáveis tendo um aproveitamento de 0-20% Grázia *et al.*,(2014), segundo esta pequena diferença pode ser devido o autor citar vacas gir é no experimento ter vacas Gir e Girolando.

6- CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento do presente estudo concluímos que as doadoras da raça Gir obtiveram uma maior média de ovócitos recuperados e maior produção de embriões em relação as doadoras da raça Girolando.

7- REFERÊNCIAS

ANTONIAZZI, A. Q. Produção in vitro de embriões bovinos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.31, p.212-217, 2007.

BARBOSA, C. P. **PRODUÇÃO *in vitro* DE EMBRIÕES DE BOVINOS DA RAÇA NELORE ORIUNDOS DE OVÓCITOS DE OVÁRIOS COM E SEM CORPO LÚTEO:** JABOTICABAL – SAO PAULO, 2011.66p. Tese, Campus de Jaboticabal, Doutorado em Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp.

BARUSELLI, P. S. Revista Brasileira de Reprodução animal. **Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas**, Belo Horizonte,v.31, n.2,p.205-211,abr.jun. 2007.

BETTERIDGE, K. J., SMITH, C. STUBBINGS R. B. XY, K. P. KING, W. A. Potencial genético de melhoria do gado bovino por fertilização de ovócitos *in vitro*. **J. Reprod. Fertil.** v.38 p.87-98, 1989.

BOLS, P.E.J.; VAN SOOM A.; YSEBAERT, M.T.; VANDENHEEDE, J.M.M.;KRUIF,A.Effectsofaspiracioncavuumandneedlediameteroncumulusoocytecomplex morphologyanddevelopmentalcapacityofbovineoocytes. **Theriogenology**, v.45, p.1001-1014, 2004.

BONI, R.; ROELOFSEN, M.W.M.; PIETERSE, M.C.; KOGUT, J.; KRUIP, T.H.A.M.Follicular dynamics, repeatabilityandpredictabilityoffollicularrecruitment in cowsundergoingrepeatedfollicularpuncture. **Theriogenology**, v. 48, n. 2, p. 277-289, Jul.1997.

BONI, Ret. *al.* Folliculae dynamics, repeatabilityandpredictabilityof follicular recruitment in: cowsundergoingrepeated follicular puncture. Theriogenolgy, v.48,p.277-289, 1997.

BORGES, M.S.M. **PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES BOVINOS.** JATAÍ, 2008. 56p. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado para a obtenção do título de Médico Veterinário junto à Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí.

BOUSQUET, D.; TWAGIRAMUNGU, H.; DUROCHER, J.; BARNES, F. L.; boticabal, Doutorado em Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp.

BRACKETT, B. G.; *et. al.* Normal development following *in vitro* fertilization in the cow. **Biology of Reproduction**, v.27, p. 147-158, 1982.

DAYAN, A. **Fatores que interferem na produção de embriões bovinos mediante aspiração folicular e fecundação *in vitro***. Botucatu, 2001. 55p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, área de Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

DE LOOS, F.; KASTRUP, P.; VAN MAURIK, P.; VAN BENEDEN, T.H.; KRUIP, T.A. Heterologous cell contacts and metabolic coupling in bovine cumulus oocyte complexes. **Molecular Reproduction and Development**, v. 28, n. 3, p. 255-259, Mar. 1991.

DUMESIC, D. A.; MELDRUM, D. R.; KATZ-JAFFE, M. G.; KRISHER, R. L.; SCHOOLCRAFT, W. B. Oocyte environment: follicular fluid and *cumulus* cells are critical for oocyte health. **Fertility and Sterility**, v. 103, p. 303-316, 2015.

FAIR, T. Follicular oocyte growth and acquisition of developmental competence. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 203-216, 2003.

FAIR, T. P.; HYTTEL, T. G. Bovine oocyte diameter in relation to maturation al competence and transcriptional activity. **Molecular Reproduction and Development**, v. 42, p. 437-442, 1995.

FONSECA J.F., SILVA J.M. F., PINTO A. N., PALHARES M.S., **Estádios de desenvolvimento embrionário de vacas zebuínas superovuladas**. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.53, n.6, p.671-676, 2001.

FORTUNE, J. E.; RIVERA, G. M.; YANG, M. Y. GILCHRIST, R. B.; LANE, M.; THOMPSON J. G. Oocyte-secreted factors: GIMENES, Lindsay Unno. **Taxa de recuperação *in vivo* e competência *in vitro* de oócitos bubalinos, zebuínos e taurinos aspirados em diferentes fases da onda de crescimento folicular**. São Paulo, 2010. P. 123. Tese, Doutorado – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

GONÇALVES, P. B. D.; BARRETA, M. H.; SANDRI, L. R.; FERREIRA, R.;

GONÇALVES, P. B. D.; VISINTIN, J. A.; OLIVEIRA, M. A. L.; MONTAGNER, M. M.; COSTA, L. F. S. Produção *in vitro* de embriões. In: GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Varela, p. 195-226, 2002.

GOUVEIA, F. F. **A PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES BOVINOS**, Brasília DF, 2011. 35p. Monografia - Faculdade de agronomia e veterinária, universidade de Brasília.

GRÁZIA, João Gabriel Viana de. **Caracterização e investigação das bases moleculares de fenótipos associados à produção *in vitro* de embriões em raças leiteiras taurinas e zebuínas.** Juiz de Fora, 2014. P. 96. Dissertação, Mestrado – Universidade Federal de Juiz de Fora.

GILCHRIST, R.B.,LANE,M.L.,THOMPSON,J.G.2008 Oocyte-secreted factors: regulators of cumulus cell function and oocyte quality. *Human reproduction update*, 14 (2): 159-177.

HASLER, J. The current status and future of commercial embryo transfer in cattle. ***Animal reproduction Science***, v.79,p.245-264,2003.

HOLM, P.; BOOTH, P.J.; SCHMIDT, M.H.; GREVE, T.; CALLESEN, H. High bovine blastocyst development in a static *in vitro* production system using zona medium supplemented with sodium citrate and myo-inositol with or without serum-proteins ***Theriogenology***, v. 52, n. 4, p. 683-700, Sep. 1999.

HYTTEL, P.; FAIR, T.; CALLESEN, H.; GREVE, T. Oocyte growth capacitation and final maturation in cattle. ***Theriogenology***, v. 47, p. 23-32, 1997.

KACINKIS, M. A.; LUCCI, C. M.; LUQUE, M. C. A.; BÁO, S. N. KRUIP TH, A.M. Potential use of ovum pick-up for embryo production and breeding in cattle. ***Theriogenology***, v.42, p.675-684, 1994.

KRUIP TH, A.M.; BONI, R.; WURTH, Y.A.; ROELOFSEN, M.W.M.; PIETERSE, M.C. Potential use of ovum pick-up for embryo production and breeding in cattle. ***Theriogenology***, v.42, p.675-684, 1994.

LOONEY, C.R.; *et. al.* D.L. Commercial aspect of oocyte retrieval and *in vitro* fertilization (IVF) for embryo production in problem cows. ***Theriogenology***, v.41,p.67-72, 1994.

MACHATKOVA, M.; JOKESOVA, E.; PETELIKOVA, J.; DVORACEK, V. Developmental competence of bovine embryos derived from oocytes collected at various stages of the estrous cycle. ***Theriogenology***, v. 45, n. 4, p. 801-810, Mar. 1996.

MAINARDES, G. A. **ASPIRAÇÃO FOLICULAR, PRODUÇÃO *IN VITRO* E MANIPULAÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS.** Curitiba 2010. 93p. Monografia-Faculdade de ciências biológicas e da saúde do curso de medicina veterinária, universidade tuituti do Paraná.

MARTINS, F. S.; VIANA, J. R. S.; RODRIGUES, A. P. R.; FIGUEIREDO, J. R. Fatores reguladores da foliculogênese em mamíferos. ***Revista Brasileira de Reprodução Animal***, v. 32, p. 36-49, 2008.

MAYES, M. A.; SIRARD, M. A. Effect of type 3 and type 4 phosphodiesterase inhibitor on the maintenance of bovine oocytes in meiotic arrest. ***Biology of Reproduction***, v. 66, p. 180–184, 2002.

MIRANDA, R. C. **EFEITOS DO INTERVALO ENTRE ASPIRAÇÕES FOLICULARES NA QUALIDADE DE OÓCITOS BOVINOS DA RAÇA GIR.** Formiga –MG2010. 51p.

Monografia, Trabalho de conclusão de curso, Instituto ciências da saúde, centro universitário de formiga-Unifor.

Morphometric and ultrastructural characterization of *Bos taurus indicus* preantral follicles. **Animal Reproduction Science**, v. 87, p. 45-57, 2005.

NIBART, M.; SILVA PEIXER, M.; THUARD, J.M.; DURANT, M.; GUYADER-JOLY, C.; PONCHON, S.; MARQUANT-LE GUIENNE, B.; HUMBLLOT, P. Embryo production by OPU and IVF in dairy cattle. In: Réunion A.E.T.E., XI, Hannover, **Proceedings**, p.216., 1995.

OLIVEIRA, E. R. **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE RECUPERAÇÃO OOCITÁRIA, PRODUÇÃO DE EMBRIÃO E GESTAÇÃO EM DOADORAS DA RAÇA GIR**: Alfenas-MG, 2011. 51p. Dissertação, Curso de Mestrado em reprodução Animal - Universidade José Rosário Vellano, Unifenas.

PIETERSE, M.C.; *et. al.*, Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasounds during the ovaries. **Theriogenology**, v.30, p.751-762, 1988. Production with oocytes collected at different intervals after the last FSH injection. **Theriogenology**, Stoneham, v. 53, n. 1, p. 347, 1999. Regulation of *cumulus* cell function and oocyte quality. **Human Reproduction Update**, v. 14, n. 2, p. 159-177, 2008.

REICHENBACH, H. D., WIEBKE, N.H., MÖDL, J., ZHU, J., BREM, G., Laparoscopy through the vaginal fornix of cows for the repeated aspiration of follicular oocytes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.101, p.547, 1994.

RENESTO, A.; COELHO, L.A. Associação das biotecnologias: Aspiração folicular guiada por ultrassonografia e superovulação na produção *in vivo* e *in vitro* de embriões bovinos. Tese (Mestrado). Arquivo da faculdade de ciências agrária UNESP. p.17-31, 2004.

RODRIGUES, V. S. **PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES BOVINOS EM MEIO SUPLEMENTADO COM CAPTOPRIL**. TERESINA, 2016. 49p. Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal.

RUMPF, R. **Avanços metodológicos na produção *in vitro* de embriões**. Revista Brasileira de Zootecnia, v 36, 2007.

RUMPF, R. Avanços na biotecnologia da reprodução dos bovinos. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE MELHORAMENTO ANIMAL, 3, 2000, Belo Horizonte: **Anais...** Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 2000. p. 248-253.

SAUMANDE, J. PROCUREUR, R., CHUPIN, D. Effect of injection time and anti-PMSG serum on ovulation rate and quality of embryos in superovulated cow. **Theriogenology**, v.21 p.727, 1984.

SAUVE, R. Ultrasound guided follicular aspiration and *in vitro* fertilization. In: **Anais da XIII Reunião Anual da SBTE**, v. 26, n. 1, p. 141-145, 1998.

SENEDA, M.M., *et. al.*, Aspiração folicular *in vivo*: metodologias, eficiência e sequelas, in: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16, 2005, Goiânia, GO. Anais

SIRARD, M. A. Effect of LH injection before ovum pick-up on in vitro embryo STEPTOE, P.C.; EDWARDS, R.G. Birth after there implantation of a human embryo. **Lancet**, v.2, p.366, 1978.

STROUD, B; CALLESEN, H. IETS statement on world wide ET statistics for 2010. **Animal Reproduction**, [S.l.], v. 9, n. 3, p. 210-216, 2012.

VANDENHURK,R.;ZHAO,J. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation with in ovarian follicles. **Theriogenology**, v. 63, n. 6, p. 1717-1751, 2005.

THIBIER, M. The worldwide activiy in farm animals embryo trasfer. embryo transfes newsllett, v 26 n 4,p. 4-9, 2008

VIANA J.H.M.; *et.al.*, Ovarian follicular, follicle deviatin, band oocyte yield in Gyr breed (Bos inducus) cows undergoin grepeatedovum pick-up **Theriogenology**_Disponivel em ww.sciencedirect.com Acesso 02mar.2010

WATANABE, M.R.; ; LÔBO, R.B.; FRANCESCHINI, P.H.; DAYAN, A.; VILA, R.A.; GALERANI, M.A.V.; WATANABE, Y.F. Produção *in vitro* de embriões por sessão de aspiração em fêmeas nelore. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v.26, n.1, p.382-383, 1998.

Vishwanath, R, Artificial insiminatil: the state of thae art. *Thaeriogenology*, v 59,p. 571-584, 2003.

ZAGO, Fabiano Carminatti. **EFICIÊNCIA DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO *IN VIVO* E *IN VITRO* DE EMBRIÕES BOVINOS DA RAÇA FLAMENGO**. Lage, 2011. P.98. Dissertação, Mestrado – Universidade do Estado de Santa Catarina.

ZANIN, R. **EFICIÊNCIA DA PRODUÇÃO DE EMBRIÕES *IN VITRO* ATRAVES DA ASPIRAÇÃO FOLICULAR TRANSVAGINAL EM BOVINOS DA RAÇAS GIROLANDO, BRANGUS, NELORE**. São Paulo 2013. 60p. Dissertação - Faculdade de medicina veterinária e zootecnia, Universidade de São Paulo.

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE LEITE CRU REFRIGERADO DA REGIÃO DE SÃO JOÃO DO ORIENTE, MG

Acadêmicos: Israel Viana Amaral e Pamella Felipe Silva Benevides

Orientador: Leandro Silva de Araújo

RESUMO

O leite é um dos alimentos mais consumidos pela população e traz diversos benefícios à saúde. Entretanto, aqueles que exibem uma má qualidade podem ser a origem de transtornos como a veiculação de patógenos, tornando-se um risco à saúde pública. As análises microbiológicas dos leites destinados ao consumo humano são de grande importância à medida que garantem a segurança e qualidade dos alimentos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do leite cru refrigerado da região de São João do Oriente - MG. Para este fim, foram analisadas 10 amostras de leite cru refrigerado, coletados em propriedades da região, das quais oito apresentaram contagem de aeróbios mesófilos acima do limite permitido pela Instrução Normativa 62. Realizou-se também o teste presuntivo de coliformes onde 6 das 10 amostras foram positivas, 2 confirmadas para presença de coliformes a 35°C e ausência de coliformes a 45°C em todas as amostras. Os resultados reafirmam a necessidade de medidas higiênico-sanitárias na coleta e processamento do leite para que a melhoria na qualidade microbiológica seja alcançada.

PALAVRAS-CHAVE: Qualidade do leite, produtos de origem animal, análise do leite

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, o leite é um dos alimentos de consumo diário da população que traz benefícios à saúde. Possui ótimo valor nutricional, sendo fonte de nutrientes essenciais à alimentação humana por apresentar alto teor de proteínas, gorduras e sais minerais. Trata-se de produto perecível e possível veículo de patógenos, portanto merece atenção especial na sua produção (DOMARESKI *et al.*, 2010).

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) iniciou há 10 anos uma discussão nacional envolvendo os setores científicos e econômicos do setor leiteiro, buscando alternativas para melhoria na qualidade do leite produzido no país. Esse grupo desenvolveu o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL), cuja versão definitiva foi publicada na Instrução Normativa nº 62 (IN62), de 29 de dezembro de 2011 que determina regras de estocagens, transporte e exigências de qualidade (BRASIL, 2011).

Em certas regiões do Brasil, o leite é obtido em condições higiênico-sanitárias precárias que geram a presença de micro-organismos acima do limite da Legislação da Normativa 62 (BRASIL, 2011). Os cuidados de higiene, manipulação e transporte do leite influenciam diretamente na sua qualidade microbiológica e de seus derivados, sendo assim considerado de importância à saúde pública, pois pode oferecer riscos à saúde do consumidor (GIOMBELLI *et al.*, 2011).

Os principais micro-organismos encontrados no leite pertencem ao grupo dos coliformes termotolerantes, coliformes totais, mesófilos aeróbios e psicotróficos (SILVA *et al.*, 2010). Estes são os principais causadores de alterações físico-químicas no leite, produzindo ácido láctico a partir da lactose ou causando danos à caseína e aos triglicerídeos a partir de suas enzimas proteolíticas e lipolíticas que colaboram para a diminuição da qualidade e vida de prateleira do produto e seus derivados (GIOMBELLI *et al.*, 2011).

Além do método de coleta e manipulação, as condições de armazenamento do leite fresco influenciam na sua contaminação. Um dos métodos para minimizar a multiplicação microbiana é a refrigeração imediata após a ordenha, dificultando a multiplicação dos micro-organismos mesófilos, maioria dos contaminantes. Entretanto, em baixas temperaturas pode ocorrer a proliferação de outro grupo de micro-organismos, os psicotróficos, que são capazes de se desenvolver em temperaturas de refrigeração, por este fato é obrigatório o recolhimento do leite refrigerado pelos caminhões isotérmicos em até 24h à 48h (DOMARESKI *et al.*, 2010).

Levando em consideração o exposto acima, o objetivo deste trabalho foi analisar a qualidade do leite cru refrigerado da Região de João do Oriente - MG, através da avaliação de indicadores microbiológicos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Leite e qualidade

Leite é uma secreção animal produzida pelas glândulas mamárias, que tem sua qualidade influenciada pela sanidade dos animais (DUARTE *et al.*, 2002). Possui excelente valor nutricional, é rico em vitaminas, proteínas, sais e gorduras e por isso apresenta alto índice de consumo nacional e internacional o que gera a necessidade de uma avaliação que garanta segurança e qualidade (GUERREIRO *et al.*, 2005).

A qualidade do leite é definida por parâmetros de sua composição física-química, biológica e microbiológica. O mercado está se tornando cada vez mais exigente, graças à percepção do papel exercido pelos alimentos e seus componentes sobre a saúde do consumidor. O leite deve apresentar composição química (sólidos totais, gordura, proteína, lactose e minerais), microbiológica (contagem total de bactérias), organoléptica (sabor, odor, aparência) e número de células somáticas que atendam os parâmetros exigidos internacionalmente (ZANELA *et al.*, 2006).

Devido ainda ao seu alto valor nutricional, trata-se de um ambiente favorável ao crescimento de micro-organismos indesejáveis que podem contaminá-lo por problemas na higienização da ordenha, armazenamento e manuseio, o que diminui consideravelmente a sua qualidade final (MARTINS *et al.*, 2016).

A higiene é um dos principais fatores a serem observados durante a obtenção do leite, a fim de minimizar o risco de contaminação. A refrigeração após a ordenha é essencial, pois irá impedir a multiplicação dos micro-organismos contaminantes. O transporte a granel deve ser feito sob refrigeração, diariamente, e com um limite máximo de 24 horas a 48 horas após o armazenamento nos tanques de expansão (DOMARESKI *et al.*, 2010).

A comercialização do leite cru foi desaprovada no Brasil pelo Decreto-lei nº66.183, de 5 de fevereiro de 1970 (BRASIL,1970). Na década de 90, iniciou-se no país a prática de armazenamento do leite cru refrigerado após a ordenha, passando a ser regulamentada pelo MAPA em 2002. Este armazenamento do leite cru refrigerado reduziria os gastos na produção e o seu deterioramento pela ação acidificante de bactérias mesófilas também seria reduzido (PINTO *et al.*, 2006).

A definição de novas medidas e regras para a produção do leite cru tenciona a uma melhoria na qualidade do produto final, tornando-o apto a um processamento correto, obtendo características desejáveis e com isso satisfazer o comércio interno e externo. As indústrias alimentícias estão buscando essas características desejáveis através de programas de qualidade como Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (YAMAZI *et al.*, 2010).

De acordo com os programas de qualidade BPF e APPCC, para diminuir a propagação de micro-organismos indesejáveis e garantir o padrão exigido de qualidade e segurança do produto, devem ser feitos a pesquisa no leite para presença de micro-organismos e vigilância durante as principais etapas da produção. Quando se trata do

leite, um dos principais pontos críticos é durante a obtenção da matéria prima, pois ela influencia diretamente na seguridade de qualquer produto processado e proveniente do mesmo (YAMAZI *et al.*, 2010).

Os micro-organismos que contaminam o leite estão divididos em 3 grupos principais: os mesófilos, que se multiplicam rapidamente quando o leite não é armazenado sob refrigeração, os termodúricos, que sobrevivem à pasteurização (30 minutos a 63°C ou 15 segundos a 72°C) e os psicotróficos, que se multiplicam em temperaturas baixas (7°C ou menos) (RIBEIRO *et al.*, 2009).

As bactérias mesófilas desenvolvem-se melhor em condições de temperatura moderada, entre os 15 e os 40 °C. O seu habitat inclui o solo, o corpo humano, e animais. A temperatura ótima de muitos mesófilos patogênicos é 37 a 39°C, a temperatura normal do corpo humano, e suas principais cepas são *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* e *Pseudomonas*. Alguns organismos mesófilos têm funções importantes na preparação de alimentos como iogurte, queijo e vinho (RIBEIRO *et al.*, 2009).

As bactérias termodúricas são bastante resistentes às altas temperaturas, sobrevivendo até mesmo à pasteurização. Os principais gêneros com espécies esporuladas são *Clostridium* e *Bacillus*. São produtoras de esporos bastante resistentes ao calor, necessitando de temperaturas bastante elevadas para serem inativados, por isso pode levar à diminuição do tempo de prateleira do leite (RIBEIRO *et al.*, 2009).

As bactérias psicotróficas se multiplicam lentamente em baixas temperaturas. A contaminação do leite por esses micro-organismos se dá pela falha da higienização na hora da ordenha, mão do ordenhador, equipamentos de ordenha sujos, teto sujo e tanques mal higienizados antes de receber o leite. Os principais gêneros são *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Achromobacter*, *Lactobacillus* e *Flavobacterium*, que liberam enzimas protease e lipase que degradam proteína (caseína) e gordura do leite diminuindo seu valor nutricional (ARCURI *et al.*, 2008).

2.2 Indicadores de qualidade

Os indicadores de qualidade são grupos ou espécies de micro-organismos que, quando presentes em um alimento, fornecem informações sobre a ocorrência de contaminação, sobre a presença de patógenos ou sobre a deterioração do alimento. Ainda podem indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento,

produção ou armazenamento dos alimentos (GOTTARDIL *et al.*, 2008). Os indicadores apresentam de forma quantitativa, dentro de uma organização, a evolução e o desempenho do produto que estão associados ao objetivo de qualidade. Pode-se ter mais de um indicador para um único objetivo.

Os indicadores comumente utilizados são: contagens de *Coliformes*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Listeria*, *Salmonella* e *Escherichia coli*, micro-organismos que podem estar presentes no leite (GOTTARDIL *et al.*, 2008).

Os coliformes termotolerantes descrevem coliformes que fermentam a lactose com produção de gás a 44,5°C. *E. coli* e algumas cepas de *Klebsiella* e *Enterobacter* apresentam essa característica de termotolerância, porém somente *E. coli* tem como habitat primário o intestino de animais e humanos tornando-o um excelente indicador de qualidade (SILVA *et al.*, 2006).

A maioria das cepas de *E. coli* não são patogênicas, todavia algumas podem causar graves doenças transmitidas por alimentos (DTAs).

A transmissão ao homem pode ocorrer pelo consumo de alimentos contaminados, principalmente carne e leite crus ou mal cozidos, e também pelo consumo de vegetais crus. O controle das contaminações por *E.coli* e outras bactérias patogênicas pode ser realizado através da desinfecção dos alimentos que forem consumidos crus, utilizando solução clorada, ou através da cocção dos alimentos (GOTTARDIL *et al.*, 2008).

A infecção por *Clostridium perfringens* está normalmente associada à ingestão de derivados animais pré-cozidos e que foram rapidamente congelados, permitindo assim a germinação dos esporos que sobrevivem ao pré-cozimento. Após a germinação dos esporos, tem capacidade de crescer a uma temperatura de 45°C e a pH 7 (PINTO, 1996). Outro micro-organismo deste gênero é *C. botulinum*, causador do botulismo, esta enfermidade é o resultado da ação de uma potente neurotoxina de origem proteica decorrente da ingestão de alimento, em que a toxina foi previamente produzida pela bactéria (CERESER *et al.*, 2008).

A causa mais comum de contaminação de alimentos por *S. aureus* é o contato direto com manipuladores que carregam a bactéria. A intoxicação alimentar pelo mesmo é atribuída à ingestão de toxinas produzidas e liberadas pela bactéria, durante sua multiplicação no alimento, representando risco para saúde pública. A toxina é termo estável, podendo permanecer no alimento mesmo após cozimento, favorecendo a ocorrência da intoxicação (FORSYTHE, 2013).

A *Salmonella* é amplamente distribuída na natureza, sendo o trato intestinal dos seres vivos o principal reservatório natural. Em função da sua capacidade de disseminação no ambiente, essa bactéria pode ser isolada de locais variados e, conseqüentemente, de diversas matérias primas alimentares. Devido à sua alta patogenicidade, a legislação prevê a ausência completa deste micro-organismo nos alimentos (GERMANO & GERMANO, 2000).

Bacillus cereus está amplamente distribuído na natureza, sendo o solo seu reservatório natural. A presença da bactéria ou de seus esporos em alimentos é relativamente frequente, devido à algumas propriedades dos esporos como a sobrevivência em diferentes temperaturas e valores de pH, resistência à desidratação e irradiação e capacidade de adesão às superfícies que contatam alimentos. A indústria de alimentos encontra dificuldades para eliminar o micro-organismo do ambiente industrial (PAIVA *et al.*, 2009).

Listerias são bactérias sensíveis ao calor. A sua temperatura ótima de crescimento situa entre 20 e 37°C, mas também se multiplicam a uma temperatura de refrigeração 2 a 4°C. Isso possibilita uma fácil disseminação nos alimentos refrigerados. A infecção por *Listeria* pode ocorrer pelo consumo de alimentos contaminados, mas também por contato direto entre animais e humanos ou menos entre humanos (SÁ *et al.*, 2007).

2.3 Doenças transmitidas por alimentos

Muitas doenças podem ser causadas pelos alimentos. Elas são conhecidas como Doenças Transmitidas pelos Alimentos (DTA), provocadas principalmente por micro-organismos ingeridos através de água ou alimentos contaminados (AMSON *et al.*, 2006). As DTAs geralmente se desenvolvem por falhas múltiplas as quais podem incluir o uso de matérias primas inadequadas, refrigeração inadequada, preparo de alimento muito antes do consumo, manipuladores contaminados, processamento térmico insuficiente, conservação sob temperatura inadequada, contaminação cruzada, higienização incorreta e utilização de sobras contaminadas. A investigação de DTA é um componente essencial na prevenção de síndromes e na promoção da saúde pública (EDUARDO *et al.*, 2003).

As toxinfecções alimentares são enfermidades causadas pela ingestão de alimentos contaminados por micro-organismos e suas substâncias tóxicas, e

constituem um importante problema sanitário. Os alimentos são excelentes substratos para o desenvolvimento de micro-organismos e comportam-se como autênticos meios de cultura. Essa característica depende, entretanto, da associação de fatores ligada ao próprio alimento, além de fatores ambientais que permitem o desenvolvimento dos micro-organismos (CARDOSO *et al.*, 2006).

A intoxicação alimentar é causada por ingestão de alimentos contendo substâncias tóxicas específicas, enterotoxinas ou neurotoxinas, produzidas por micro-organismos. A intoxicação alimentar ocorre mais frequentemente quando, durante o crescimento de patógenos específicos, são liberadas toxinas no alimento que será subsequentemente consumido pelo ser humano (CARDOSO *et al.*, 2006).

As principais causas de DTAs são *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus* e *Brucella*. A salmonelose leva a quadros de diarreia, dor abdominal, calafrios, febre, vômitos e desidratação, podendo haver também septicemia e infecção focal (osteomielite, meningite, pneumonia, pielonefrite, endocardite e artrite supurativa) podendo levar à morte (BARROS *et al.*, 2002).

Surtos de DTAs causados por *Staphylococcus aureus* estão associados à produção de toxinas no alimento, na maioria das vezes contaminados por manipulação humana, e com menor frequência provenientes de matéria prima contaminada (CARDOSO *et al.*, 2000).

A Colibacilose é causada pela bactéria *Escherichia coli* proveniente de alimentos contaminados com fezes, principalmente leite cru e derivados lácteos não processados termicamente (GOTTARDIL *et al.*, 2008). O agente etiológico da listeriose é a *Listeria monocytogenes* associada a quadros de febre, cefalalgia, náuseas, vômitos, monocitose, meningite, septicemia, abortos, lesões externas ou internas localizadas e faringite (CASAROTTI *et al.*, 1994).

A contaminação por *Bacillus cereus*, que se encontra amplamente distribuído no solo, é considerada uma DTA. Está presente no leite cru, primariamente na forma de esporos resistentes à pasteurização. Este agente é responsável por intoxicações devido à produção de toxinas, mesmo no leite pasteurizado, que podem causar gastroenterites em humanos. A brucelose é uma doença de notificação obrigatória, os principais agentes etiológicos são *Brucella melitensis*, *B. abortus* e *B. suis*, cujas principais fontes são o leite cru proveniente de vacas infectadas (BARUFA, 1978).

3 METODOLOGIA

3.1 Coleta de materiais

Foram coletadas 10 amostras de 50 ml de leite cru refrigerado no município de São João do Oriente – MG. As amostras de leite foram acondicionadas em tubos estéreis, conservados em uma caixa térmica e transportadas para o laboratório de microbiologia da Faculdade Univértix - Matipó. As coletas foram realizadas no mês de maio, diretamente de tanques de expansão, em propriedades leiteiras associadas ao Laticínio Gardingo.

3.2 Diluição da amostra

Foram diluídos 25 ml de cada amostra em 225 ml de solução salina peptonada 0,1%. Essa diluição foi a 10^{-1} . A partir da diluição inicial (10^{-1}), foram efetuadas diluições 10^{-3} em solução salina peptonada.

3.3 Contagem de aeróbios mesófilos

Para contagem padrão em placa, foi inoculado 1 ml de cada diluição em Agar padrão de contagem, pelo método Spread Plate em duplicata, e então incubados a 36°C por 48h. Foram contadas as placas que apresentaram de 25 a 300 colônias.

3.4 Determinação de coliformes totais e coliformes termotolerantes

Para a determinação de coliformes totais e coliformes termotolerantes foi inoculado 1 ml de cada diluição em placas de Petri com ágar cristal violeta vermelho neutro bile (VRBA) e incubadas em posição invertida em temperatura de $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24 horas.

Após esta etapa foram enumeradas placas que continham entre 15 e 150 colônias, somente as colônias que apresentaram morfologia típica de coliformes, ou seja, colônias róseas, com 0,5 a 2 mm de diâmetro rodeado ou não por uma zona de precipitação da bile presente no meio. Foram anotados os resultados de contagem, separadamente, das colônias típicas e atípicas, e submeteram-se 3 a 5 colônias de cada uma às provas confirmativas.

Cada uma das colônias típicas e atípicas selecionadas foram inoculadas em tubos contendo caldo verde brilhante, bile 2% lactose, e incubadas a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas. A presença de coliformes totais foram confirmadas pela formação de gás

(mínimo 1/10 do volume total do tubo de Durham) ou efervescência quando agitado gentilmente. Anotou-se o resultado obtido para cada colônia, bem como a diluição utilizada. A leitura foi feita após 24 horas de incubação, porém só foram válidos os resultados positivos. Os tubos que apresentaram resultado negativo foram reincubados por mais 24 horas.

Para avaliação de coliformes termotolerantes, as culturas suspeitas de coliformes termotolerantes foram inoculadas em tubos contendo caldo EC e incubadas a $45 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas. A presença de coliformes termotolerantes foi confirmada pela formação de gás (mínimo 1/10 do volume total do tubo de Durham) ou efervescência quando agitado gentilmente. Os resultados obtidos para cada tubo, bem como a diluição utilizada foram anotados. A leitura foi feita após 24 horas de incubação, porém só foram válidos os resultados positivos. Os tubos que apresentaram resultados negativos foram reincubados por mais 24 horas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as propriedades selecionadas para coleta de amostra, o leite foi acondicionado em tanques de expansão entre 1 a 3 horas após ordenha. A obtenção das amostras foi realizada após o leite atingir a temperatura de 4°C , verificada através do termostato presente nos tanques de expansão. A queda da temperatura auxilia a redução do crescimento microbológico do leite. O quanto antes for refrigerado, menor a multiplicação de micro-organismos patogênicos, em especial do grupo dos mesófilos, dentro do qual encontram-se alguns gêneros de micro-organismos patogênicos para humanos. Além disso, a refrigeração ainda agirá sobre a multiplicação e produção de enzimas protease e lipase que degradam a caseína e a gordura presente no leite por bactérias psicotrópicas, grande problema nesta etapa da produção do leite (FAGUNDES *et al.*, 2006).

Das 10 amostras analisadas, 8 apresentaram-se acima do limite estabelecido pela legislação para aeróbios e mesófilos, que é $1,0 \times 10^5$ UFC/ml segundo IN 62 (BRASIL, 2011). Os valores podem ser observados juntamente com os resultados para coliformes na Tabela 1.

Tabela 1: Avaliação microbiológica do leite cru refrigerado para contagem de aeróbios mesófilos, coliformes totais e coliformes termotolerantes.

Amostra	Contagem Padrão em	Coliformes (UFC/ml)	Coliformes a 35°C	Coliformes a 45°
---------	--------------------	---------------------	-----------------------------------	---------------------------

	Placa (UFC/ml)	(Presuntivo)	(Confirmatório)	
1	83.000	Abaixo do contável	-	-
2	299.000	Abaixo do contável	-	-
3	248.000	15000	Positivo	-
4	281.000	5700	-	-
5	Acima do contável	Acima do contável	Positivo	-
6	159.000	60000	-	-
7	20.400	Abaixo do contável	-	-
8	Acima do contável	22000	-	-
9	235.000	4500	-	-
10	239.000	Abaixo do contável	-	-

Segundo Maïke *et al.*, (2013) a contagem de aeróbios mesófilos acima dos limites estabelecidos pela normativa IN 62 é um indicativo de obtenção da matéria prima com higienização deficiente, podendo ser na ordenha, equipamentos mal higienizados, mão do ordenhador, tanque de expansão ou até mesmo no transporte do leite em temperaturas elevadas, fora do limite estabelecido.

Os trabalhos de Badini *et al.*, (1996), Quintana & Carneiro (2006) e Beloti *et al.*, (1999), apresentaram resultados semelhantes com valores de contagem padrão em placa em mais de 60% das amostras, ultrapassando os limites permitidos pela normativa IN 62. Foi verificado que, independente da região ou prevalência de patógenos, a execução diária dos métodos de higiene sanitária configura a forma mais efetiva de obtenção de leite de boa qualidade.

Neste trabalho identificou-se a presença de coliformes em 60% (6 das 10 amostras) das propriedades avaliadas (Tabela 1). Resultado semelhante foi relatado por Citadin *et al.*, (2009) onde foi verificado coliformes em 58% das propriedades analisadas, provenientes de Marechal Cândido Rondon, no estado do Paraná, ao analisar também amostras de propriedades leiteiras em que o leite era refrigerado em tanques de expansão com refrigeração de 4°C, logo após a ordenha.

A presença de coliformes oriundos do ambiente e fezes é um indicativo de qualidade que prejudica o valor nutricional do leite, deixando-o mais ácido, além de representar um perigo potencial à saúde humana. Das amostras positivas do teste presuntivo de coliformes totais, 2 foram confirmadas com presença de coliformes a 35°C, que por sua vez são indesejáveis na composição do leite em virtude da fermentação da lactose e formação de ácido láctico, acético, propiônico e fórmico, originando a acidez adquirida e resultando em aumento da acidez total (SILVANA & BERTAGNOLLI, 2014).

A análise deste trabalho constatou ausência de coliformes a 45°C em todas as amostras, o que sugere ausência de determinados micro-organismos patogênicos como *Escherichia coli*, uma das principais bactérias deste gênero, que podem ser oriundas da glândula mamária de vacas com mastite ou de equipamento de ordenha mal higienizado (RIBEIRO *et al.*, 2009).

A presença pouco expressiva de coliformes no teste confirmatório, mesmo em amostras com valores acima do permitido para aeróbios, pode indicar a presença nas amostras avaliadas de outros micro-organismos isolados com frequência deste tipo de amostra como *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Listeria*, *Salmonella* e *Escherichia coli* (GOTTARDIL *et al.*, 2008). Para a prevenção dos mesmos, são realizadas medidas sanitárias de controle bastante eficientes, como pré e pós-dipping, eliminando os micro-organismos que estão presentes no teto do animal, fornecendo alimentos aos animais após a ordenha, forçando-os a permanecerem de pé, para que ocorra o fechamento do esfíncter do teto, evitando assim a infecção facilitada com micro-organismos ambientais (BRASIL, 2011).

Resultado diferente ao deste trabalho é descrito por Tebaldi *et al.*, (2008), onde uma avaliação feita em Boa Esperança - MG, detectou que 31% das amostras analisadas estavam contaminadas por coliformes termotolerantes, o que caracteriza risco à saúde pública.

Segundo Alves *et al.*, (2009), 38% das amostras coletadas em São Luiz - MA e Moraes *et al.*, (2005), 97% das amostras coletadas em um município do Rio Grande do Sul, apresentaram indicação positiva para coliformes a 45°C. Desta forma, embora algumas amostras tenham apresentado altos valores de aeróbios mesófilos, a ausência de coliformes a 45°C demonstra a ausência de importantes patógenos comumente encontrados e associados à falta de higiene na manipulação do leite cru.

Elevadas concentrações de micro-organismos aeróbios mesófilos, indicadores de qualidade, foram encontradas no leite cru refrigerado indicando necessidade de otimização das boas práticas para prevenção de contaminação.

5 CONCLUSÃO

Das 10 amostras avaliadas, 8 apresentaram indicador microbiológico (aeróbios mesófilos) acima do limite permitido pela legislação vigente, e ausência em 2 delas.

Sendo assim, o leite apresentou ser de baixa qualidade, demonstrando a necessidade de adoção de métodos que previnam, principalmente, a contaminação do leite por agentes possivelmente presentes no animal, visando melhoria na qualidade e segurança do leite.

REFERÊNCIAS

ALVES, L.M.C; AMARAL, L.A; CORRÊA, M.R; SALES, S.S. Qualidade microbiológica do leite cru e de queijo de coalho comercializados informalmente na cidade de São Luís - MA. **Pesquisa em Foco**, v. 17, n.2, p. 01-13, 2009.

AMSON, G.V; HARACEMIV, S.M.C; MASSON, M.L. Levantamentos de dados epidemiológicos relativos a ocorrências/surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no estado do Paraná- Brasil, no período de 1978 a 200. **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, n.6, p.1139-1145,2006.

ANGELIS D; SOUSA M.R.P; OLIVEIRA V. Qualidade do leite obtido por ordenha manual e mecanizada recebido em um laticínio do município de Argirita- MG. **Vet. Not., Uberlândia**, v.22,n.1,p.1-6, jan./jun.2016.

ARCURI D.F; SILVA P.D.L; BRITTO M.A.V.P; BRITTO J.R.F; LANGE C.C; MAGALHÃES M.M.A. Contagem, isolamento e caracterização de bactérias psicrotóficas contaminantes de leite cru refrigerado. **Ciência rural, ISSN 0103-8478**, vol.38, nº 8, 2008.

BARROS, V. R. M.; PAVIA, P. C.; PANETTA, J. C. Salmonella spp: sua transmissão através dos alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 94, p. 15-19, 2002.

BADINI K.B; FILHO N.A; Amaral L.A; GERMANO P.M.L. Risco à saúde representado pelo consumo de leite cru comercializado clandestinamente. **Rev Saúde Pública**.30(6):549-52.1996.

BELOTI V; BARROS M.A.F, SOUZA J.A.S; NERO L.A; SANTANA E.H.W; BALARIN O. Avaliação da qualidade do leite cru comercializado em Cornélio Procópio, Paraná. Controle do consumo e da comercialização. **Semina Ciênc Agrar**.20(1):12-5.1999.

BARUFA, G. Prevalência sorológica da brucelose na zona rural do rio grande do sul (Brasil). Revista do Instituto de medicina tropical, v.20, p.71, 1978.

BRASIL 2011, Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, o regulamento técnico da identidade e qualidade de leite cru refrigerado, o regulamento técnico de identidade e qualidade de leite pasteurizado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. Instrução Normativa nº62, de 29 de dezembro de 2011. Diário Oficial da união, 29 de dezembro de 2011. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, DF.

BRASIL 1970, **Regulamentação do Decreto-Lei Nº 923, de 10 de outubro de 1969, que dispõe sobre a comercialização de leite cru.** 5 de fevereiro de 1970. Brasília, DF.

CARDOSO, H. F. T.; CARMO, L. S.; SILVA, N. Detecção da toxina-1 da síndrome do choque tóxico em amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, p. 7-10, 2000.

CARDOSO T. G., Carvalho V. M., Toxinfecção alimentar por *Salmonella* spp. **Rev. Inst. Ciênc. Saúde**. 24(2): 95-101.2006.

CASAROTTI, V. T.; GALLO, C. R.; CAMARGO, R. Ocorrência de *Listeriamonocytogenes* em leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo minas frescal comercializados em Piracicaba-SP. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, v. 44, p. 158-163, 1994.

CERESER N.D; COSTA F.M.R; JUNIOR O.D.R; SILVA D.A.R; SPOTTO V.R. Botulismo de origem alimentar. **Ciência rural**, Santa Maria, v.38, n.1, p.280-287, jan-fev, 2008.

CITADIN, Â.S; POZZA, M.S.S; POZZA, P.C; NUNES, R.V; BORSATTI, L; MANGONI, J. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e fatores associados. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.10, n.1, p.52-59, jan/mar, 2009.

DOMARESKI L.J; BANDIERA N.S; SANTOS R.T.A.C; SANTANA E.H.W. Avaliação físico-química e microbiológica do leite UHT comercializado em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai). **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**. Vol. 60 Nº 3, 2010.

DUARTE V; LEITE J.L.B; RESENDE J.C. Políticas para o leite no brasil: passado, presente e futuro. **Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil**. Maringá. 2002.

EDUARDO, M.B.P; KATSUYA E.M; BASSIT N.P. Características dos surtos de doenças transmitidas por alimentos associados a restaurantes no estado de São Paulo-1999-2002. **Higiene alimentar**, V.17, p.60-61, 2003.

FAGUNDES C. M., FISCHER V., SILVA W. P., CARBONERA N., ARAÚJO M. R. Presença de *Pseudomonas* spp em função de diferentes etapas da ordenha com distintos manejos higiênicos e no leite refrigerado. **Ciência Rural**, v.36, n.2, mar-abr, 2006.

FORSYTHE S.J. **Microbiologia da segurança alimentar** 7ed, Porto Alegre, 2013.

GERMANO P.M.L. e GERMANO M.I.S. A vigilância sanitária de alimentos como fator de promoção da saúde. **O mundo da saúde**, São Paulo, v.24, p.59-66, 2000.

GIOMBELLI C.J; TAMANINI R; BARAGLINI A.P; MAGNANI D.F; ANGELA H.L; BELOTI V. Avaliação da qualidade microbiológica, físico-química e dos parâmetros enzimáticos

de peite pasteurizados e leite tipo B produzidos no Paraná. **Ciências Agrárias, Londrina**, v. 32, n. 4, p. 1539-1546, out./dez. 2011.

GOTTARDIL C.P.T; MURICY R.F; CARDOSO M; SCHMIDT V. Qualidade higiênica de leite caprino por contagem de coliformes e estafilococos. **Ciência Rural**, v.38, n.3, mai-jun, 2008.

GUERREIRO P.k; MACHADO M.R.F; BRAGA G.C; GASPARINO E; FRANZENER A.S.M. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 216-222, jan./fev. 2005.

JAY, J.M. Microbiologia moderna dos alimentos. **Zagarsosa**: 804p, 2005.

MARTINS A. G. L. A; NASCIMENTO A. R; AMARAL D. S; MENDES N. E. F; OLIVEIRA A. B. Avaliação da contaminação do leite cru comercializado nas vias públicas do município de Açailândia – MA por *Staphylococcus coagulase positiva*. **Higiene Alimentar** - Vol.30 - nº 256/257 - Maio/Junho de 2016.

MAIKE, T.M; MONTANHIN, K. H. Qualidade do leite cru comercializado informalmente no município de Piraí do Sul, estado do Paraná, Brasil. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 68, n. 393, p. 10-14, jul/ago., 2013.

MORAES, C. R. M.; FUENTEFRIA, A. M.; ZAFFARI, C. B., CONTE. M, ROCHA, J. P.A., SPANAMBERG, A., VALENTE, P., CORÇÃO, G., COSTA, M. Qualidade microbiológica de leite cru produzido em cinco municípios do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33, nº. 3, p. 259- 264, 2005.

MURAKAMI P.S; FUVERKI R.B.N; NAKATANI S. M; BARROS I.R.F; BIONDO A.W. Tuberculose bovina: saúde animal e saúde pública. Arq. **Ciênc. Vet. Zool.Unipar**, Umuarama, v.12, n.1, p.67-74, jan/jun. 2009.

NERO L.A; MATTOS M.R; BELOTI V; BARROS M.A.F; PINTO J.P.A.N; ANDRADE N.J; SILVA W.P; FRANCO B.D.G.M. leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela instrução normativa 51. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 25(1): 191-195, jan-mar. 2005.

PAIVA E.P; FAI A.E.C; SOARES D.S; STAMFORD T.L.M; *Bacillus cereus* e suas toxinas em alimentos. **Higiene alimentar**. São Paulo, v.23, p.170-171, março/abril, 2009.

PINTO, A.F. Papel dos microorganismos na produção e na transformação de alimentos. **Terra fértil**, v.1, p. 55-61, 1996.

PINTO C. L. O; MARTINS M. L.; VANETTI M. C. D. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicotróficas proteolíticas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 26(3): 645-651, jul.-set. 2006.

QUINTANA R.C; CARNEIRO, L.C. Avaliação do leite in natura comercializado clandestinamente no município de Morrinhos, GO. **RevInst Adolfo Lutz.**; 65(3):194-8.2006.

RIBEIRO M.G; GERALDO J.S; LANGONI H; LARA G.H.B; SIQUEIRA A.K; FERNANDES M.C.F. Microrganismos patogênicos, celularidade e resíduos de antimicrobianos no leite bovino produzido no sistema orgânico. **Pesq. Vet. Bras.** 29(1):52-58, janeiro 2009.

SÁ, M.I.; FERREIRA, C. Importância das zoonoses na segurança alimentar. **Segurança e qualidade alimentar.** v.2, p.14-17, maio 2007.

SILVANA, M.L.R.S; BERTAGNOLLI, M.M. Avaliação da qualidade do leite cru comercializado informalmente em feiras livres no município de Santa Maria-RS. **VigSanit Debate.** 2(2): 75-80. 2014.

SILVA M.P; CAVALLI D.R; OLIVEIRA T.C.R.M. Avaliação do Padrão de Coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas do tubos múltiplos e petrifilm EC na detecção de coliformes totais Echerichia coli em Alimentos. Ciência e tecnologia de alimentos. Campinas, v.26, n.2, p.352-359, abr-jun 2006.

SILVA V.A.M; RIVAS P.M; ZANELA M.B; PINTO A.T; RIBEIRO M.E.D; SILVA F.F.P. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru, do leite pasteurizado tipo A e de pontos de contaminação de uma Granja Leiteira no RS. **Acta ScientiaeVeterinariae.** 38(1):51-57, 2010.

TEBALDI, V.M.R; OLIVEIRA, T; Coutinho, L; BOARI, C.A; PICCOLI, R.H. Isolamento de coliformes, estafilococos e enterococos de leite cru provenientes de tanques de refrigeração por expansão comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 28(3): 753-760, jul.-set. 2008.

VILELA D.A importância econômica, social e nutricional do leite. **Revista Batavo** nº 111, dezembro 2001/janeiro 2002.

YAMAZI A. K; MOARES P. M; VIÇOSA G. N; ORTOLANI M. B. T; NERO L. A. Práticas de produção aplicadas no controle de contaminação microbiana na produção de leite cru. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 26, n. 4, p. 610-618, July/Aug. 2010.

ZANELA M.B; FISCHER V; RIBEIRO M. E.R; JUNIOR W.S; ZANELA C; MARQUES L.T; MARTINS P.R. Qualidade do leite em sistemas de produção na região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.41, n.1, p.153-159, jan. 2006.

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE IOGURTES COMERCIALIZADOS EM MATIPÓ-MG

Acadêmicos: Thaís Monteiro Viana e Rafaela de Souza Pena Serra

Orientador: Leandro Silva de Araújo

RESUMO

O iogurte pode ser considerado um dos produtos lácteos mais importantes do mercado brasileiro, devido sua digestibilidade e benefícios à microbiota intestinal. Durante sua fabricação podem ser utilizados aromatizantes, corantes, polpas de frutas, mel, aveia e outros condimentos. A produção é realizada em várias etapas sendo a primeira e mais importante a escolha das matérias-primas, que influenciarão na sanidade e qualidade do produto. O objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica e físico-química de dois iogurtes inspecionados pelo Serviço de Inspeção Federal e dois não inspecionados, comercializados na cidade de Matipó – MG. Para isto, foram avaliados os indicadores microbiológicos, coliformes totais e termotolerantes, bolores e leveduras, além dos parâmetros de pH e acidez Dornic. As análises feitas revelaram que somente em uma amostra havia presença de coliformes, e duas estavam com a acidez acima do permitido pela legislação. As alterações foram encontradas nos iogurtes inspecionados, e pode indicar problemas durante o armazenamento. As demais amostras não apresentaram valores acima do permitido em nenhuma das avaliações, o que sugere que o processamento e armazenamento dos produtos é eficiente e gera boa qualidade e segurança.

PALAVRAS-CHAVE: produtos lácteos, leites fermentados, qualidade e segurança alimentar.

1. INTRODUÇÃO

O iogurte surgiu na antiguidade, na região dos Bálcãs, onde o leite era exposto a altas temperaturas e armazenado em recipientes incorretos, causando assim o desenvolvimento de bactérias que fermentavam e causavam alterações no leite (CARNEIRO *et al.*, 2012).

Quando comparado aos países desenvolvidos, o consumo de iogurte no Brasil ainda é pequeno, de apenas 3 kg/pessoa por ano, enquanto em países como França, Uruguai e Argentina, o consumo do produto é de 7 a 19 kg/pessoa ao ano (FERREIRA *et al.*, 2016). Contudo, depois do queijo, o iogurte pode ser considerado o produto lácteo mais importante no mercado brasileiro (LEGLER *et al.*, 2007), existindo uma grande diversidade de acordo com o desejado, podendo ser utilizados aromatizantes, corantes permitidos, poupa de frutas, mel, aveia e outros, para uma aparência e sabor agradável ao consumidor (SILVA *et al.*, 2010).

Além disso, a digestão do iogurte, particularmente o natural, é fácil e benéfica à microbiota intestinal. As bactérias lácticas pré-digerem as proteínas do leite, permitindo assim uma melhor digestão, facilitando a absorção pelo organismo (CIRIBELI *et al.*, 2011).

A produção do iogurte é realizada em várias etapas, sendo a primeira e mais importante a escolha das matérias-primas, atestando que os produtos são de alta qualidade e livres de impurezas para a produção do iogurte. O leite deve ter suas características controladas como a baixa contagem de bactérias, baixa acidez isenta de conservantes, sem enzimas ou elementos que retardem o desenvolvimento da cultura do iogurte, como antibióticos e microrganismos patogênicos (SILVA *et al.*, 2010). Já que o cultivo iniciador é composto pelas bactérias *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*, deve ser mantido em equilíbrio, para manter a acidez e aroma suficiente no produto (SILVA *et al.*, 2012).

Entre as causas de prejuízos para indústrias e perdas de produtos, destacam-se a contaminação microbiana, quando não atendidas às condições de higiene e sanidade, podendo causar diversos surtos de doenças. Entre os microrganismos à presença de bolores, leveduras, bactérias psicotróficas, coliformes totais e termotolerantes e *Staphylococcus aureus*, que podem causar estufamento de embalagem nas prateleiras refrigeradas e alterações de cor e sabor (MOREIRA *et al.*, 1999).

O iogurte por ser veículo de microrganismos patogênicos de importância para saúde pública e de grande consumo, deve ser avaliado quanto à sua segurança e qualidade, para que não ofereça risco aos consumidores. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica e físico-química de iogurtes inspecionados e não inspecionados, comercializados na cidade de Matipó - MG, pela pesquisa de indicadores microbiológicos como coliformes totais, coliformes termotolerantes, bolores e leveduras, e físico-químico como pH e acidez.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEORICA

2.1. Iogurte e sua fabricação

Compreende-se como iogurte produtos dos quais a fermentação realiza-se com cultivos protossimbióticos de *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, aos quais se podem acrescentar, de forma

complementar, outras bactérias ácido-lácticas (BRASIL, 2007). Diferente do leite fermentado ou cultivado onde a fermentação é realizada com um ou vários dos seguintes cultivos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium sp.*, *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e/ou outras bactérias ácido-lácticas que, por sua atividade, colaboram para a determinação das características do produto final (BRASIL, 2007).

Para se alcançar um enorme mercado consumidor são fabricados diversos tipos de iogurte, variando de acordo com os ingredientes, a consistência, o sabor, o valor calórico, a composição, a textura e o processo de preparação (FERREIRA *et al.*, 2016).

O iogurte pode ser classificado de três formas, sendo elas, iogurte tradicional, batido e líquido. O iogurte tradicional é um produto firme, moderadamente consistente, feito a partir do processo de fermentação que ocorre na própria embalagem, não sofrendo homogeneização. O batido é produzido a partir do processo pelo qual ocorre fermentação em incubadoras ou fermentadores seguidos da quebra do coágulo. No iogurte líquido seu processo de fermentação é executado em tanques, distribuídos em embalagens plásticas tipo garrafa ou do tipo cartonadas. Todos devem conter a mesma mistura básica de ingredientes (BECKER, 2009).

O processamento varia para cada um dos tipos de iogurte citados acima, podendo ser feito de maneira mais rápida, no caso do iogurte tradicional, ou de forma mais demorada, como por exemplo, o iogurte líquido, onde passa por mais etapas durante o procedimento (BRASIL, 2007).

Os processos de produção de leites fermentados contêm algumas fases, sendo elas: adição de ingredientes, homogeneização, tratamento térmico, resfriamento para adição do fermento, adição de fermento/ fermentação, resfriamento, quebra do gel, acondicionamento, estocagem e distribuição (CARNEIRO *et al.*, 2012).

A fabricação do iogurte começa com o transporte da matéria prima, no caso o leite que será conduzido cru em um caminhão-tanque com temperatura de até 7°C com acidez máxima de 18°D livre de qualquer tipo de fraude (BRASIL, 2007). Após esta etapa é feito a adição de ingredientes no preparo do iogurte podendo ser utilizados edulcorantes e estabilizantes. As frutas podem ser adicionadas ao leite associados à sacarose ou glicose. E para aumentar a viscosidade do produto final são utilizados estabilizantes e espessantes que auxiliam na prevenção da separação do soro (ROBIM, 2011).

A homogeneização é uma operação fundamental para uma separação, e melhor divisão dos glóbulos de gordura, melhorando a viscosidade e preservação do coágulo no produto final. Esse procedimento traz também outros benefícios, como evitar a produção de camadas de gordura na superfície, atingindo um produto mais cremoso, de melhor sabor, contribuindo na desnaturação das proteínas do soro e melhorando a digestibilidade (MEDEIROS *et al.*, 2006).

O tratamento térmico consiste em eliminar os organismos patogênicos e outros que possam disputar com o fermento do iogurte, além de favorecer a desnaturação das proteínas do soro e promover o crescimento das bactérias do iogurte (MEDEIROS *et al.*, 2006). No aquecimento devem ser severamente observados o tempo e a temperatura em que o leite deve manter-se, sendo que as condições sugeridas são: 80 a 85°C por 30 minutos (RODAS *et al.*, 2001). O resfriamento para adição de fermento irá depender da cultura láctica a ser adotada (37 até 42-43°C), essa temperatura é sustentada até a coagulação, para ação do fermento lácteo (SENAI, 1999).

Durante a etapa de fermentação o iogurte obtém a consistência, acidez e sabor específicos. Ocorrerá a junção do fermento dentro dos tanques de fermentação. Os micro-organismos viáveis devem proporcionar uma população em equilíbrio com o número de indivíduos das espécies que intervêm na fermentação (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*). *Streptococcus thermophilus* entra na etapa de crescimento exponencial, correspondente a sua capacidade de expandir em pH neutro iniciando a fermentação láctica limitando o pH até 5,5, ao mesmo tempo que *Lactobacillus bulgaricus* aguarda o acúmulo de ácido láctico para começar seu crescimento. O ácido láctico, acetaldeído e diacetil são os principais produtores do aroma do iogurte metabolizados pelos microrganismos iniciadores. Deve ser realizada a análise de acidez durante todo o segmento de fermentação. Quando o produto chegar à acidez desejada, este deve ser resfriado imediatamente. A acidez deve estar por volta de 70 a 72° Dornic e o pH em torno de 4,5 a 4,7 (CARNEIRO *et al.*, 2012).

O resfriamento tem por objetivo evitar que a fermentação continue, parando a atividade do iniciador e suas enzimas. Aconselha-se que a temperatura final não exceda a 5°C, o pH baixo e a temperatura de refrigeração devem cooperar para a conservação do iogurte em um estado adequado para ser consumido, por no mínimo 20 dias (ROBIM, 2011).

Na quebra do gel ocorre a alteração da estrutura coloidal formada, levando a diminuição da viscosidade aparente e liberação do soro. O gel poderá ser fragmentado depois de resfriado a 10°C, possibilitando uma absorção maior do soro pelas micelas de caseína, impedindo a sinérese. Essa etapa é ideal para acrescentar polpa de fruta pasteurizada, sabores e aroma dependendo do caso (CARNEIRO *et al.*, 2012).

Na etapa de acondicionamento o produto deve ser colocado em recipientes resistentes, invioláveis, opacos, resistente ao oxigênio, umidade, não deve absorver corante, impermeável a sabores e odores estranhos (BRASIL, 2007).

O iogurte deve ser mantido a temperatura de mais ou menos 5°C armazenado em câmaras frigoríficas por até 15 dias preservando seus aspectos normais. Se houver um aumento de temperatura, poderá ocorrer uma elevação da acidez chegando a 85-95°D, o que é indesejável. No final dessas etapas o iogurte está pronto para sua distribuição em caminhões frigoríficos ou em carros isotérmicos (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

2.2. Riscos e Perigos

Várias etapas durante a produção e processamento do iogurte podem enquadrar-se como ponto crítico de controle. Afim de minimizar os riscos e garantir melhor qualidade do produto utiliza-se o HACCP – *Hazard Analysis and Critical Control Points*, sistema que identifica, avalia e controla os perigos significativos para a segurança alimentar (CODEX, 2003).

Vários são os possíveis perigos identificados em uma indústria de iogurtes, sendo possível realizar a classificação dos mesmos em: perigos microbiológicos de origem alimentar, que incluem organismos como bactérias, vírus e parasitas, frequentemente associados a manipuladores e produtos crus contaminados; perigos químicos onde se agrupam aqueles presentes naturalmente nos alimentos, como micotoxinas, histamina, toxina de cogumelos, alcalóides da pirrolizidina, fitohemaglutinina e ciquatoxina e aqueles adicionados, intencionalmente ou não, em alguma etapa do processo, colheita, armazenamento, embalagem ou distribuição, por exemplo, metais pesados, resíduos de pesticidas, fungicidas, fertilizantes, inseticidas, agentes de limpeza/desinfecção e lubrificantes entre outros, e perigos físicos, que incluem uma grande variedade de materiais ou objetos estranhos, como por exemplo: vidro (lâmpadas, vidros, relógios, etc.), metal, plástico, pedras, cabelos, pela madeira e

papel, introduzidos em práticas deficientes ou insuficientes em vários pontos da cadeia produtiva (SARMENTO, 2011; AMSON *et al.*, 2006).

2.3. Doenças transmitidas por alimentos

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) são causadas por agentes etiológicos que atingem o organismo durante a ingestão de água ou alimentos contaminados. Estes agentes podem ser biológicos como microrganismos patogênicos ou químicos por meio dos pesticidas ou também por metais tóxicos (AMSON *et al.*, 2006).

O risco de DTA envolvendo produtos de origem animal é grande, por isso deve-se ter maior atenção na manipulação, produção e comercialização desses alimentos, para evitar um dano à saúde do consumidor (SILVA *et al.*, 2012).

As DTAs são consideradas hoje em dia como um grande problema na saúde pública mundial. O leite e seus derivados são grandes veículos de bactérias patogênicas, como é o caso da tuberculose e brucelose, que são transmitidas pelo alimento contaminado (MARTINS *et al.*, 2013). O *Staphylococcus aureus* quando presente pode causar gastroenterites alimentares. No caso da *Escherichia coli*, ela é capaz de ocasionar toxinfecção alimentar (CAMPOS *et al.*, 2006).

2.4. Indicadores de qualidade

Existem conjuntos de microrganismos cuja presença ou número são usados para indicar a qualidade e segurança dos alimentos, por exemplo: a contagem total de bactérias mesófilas, apontando o nível de bactérias; coliformes totais sinalizando a adoção ou não de Boas Práticas de Fabricação ao longo do processamento e *Escherichia coli* que indica a exposição à contaminação fecal (CESARINO *et al.*, 2010).

O elevado nível de *Staphylococcus coagulase positiva* indica uma contaminação que pode ter ocorrido devido uma diversidade de sistemas de produção e de manejo, ou também ocorre por presença de mastite (MARTINS *et al.*, 2016). Bolores e leveduras quando encontrados em grau notável representam um risco a saúde pública devido a possível produção de micotoxinas, além da aparência deteriorante e comprometimento da vida de prateleira (SANTOS *et al.*, 2008).

A presença de coliformes totais pode ser um indicativo de condições higiênicas insuficientes, como deficiência nos procedimentos de limpeza, multiplicação durante o

processamento ou estocagem (MOREIRA *et al.*, 2016). Já a *Salmonella* quando detectada em comida pode provocar infecção alimentar, isso faz com que esse alimento seja classificando como produto impróprio para consumo (FEITOSA *et al.*, 2003).

3. METODOLOGIA

3.1. Coleta de amostras

Foram obtidas quatro amostras de iogurtes, sendo dois iogurtes inspecionados (A e B) e dois iogurtes não inspecionados (C e D), adquiridas em estabelecimentos comerciais na cidade de Matipó – MG. As mesmas foram acondicionadas em caixa térmica com gelo e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia Veterinária do Hospital Escola Gardingo da Faculdade Vértice Univértix.

3.2. Diluição das amostras

Foram pipetados $25 \pm 0,2$ ml de cada amostra e adicionados 225 ml de solução salina peptonada 0,1%, seguido de homogeneização por aproximadamente 60 segundos. Para obtenção da diluição 10^{-1} . A partir da diluição inicial (10^{-1}), foram efetuadas diluições seriadas até 10^{-3} em solução salina peptonada.

3.3. Determinação de coliformes totais e coliformes termotolerantes

Para analisar coliformes totais e coliformes termotolerantes foi adotada a metodologia de Número Mais Provável, em série de 3 tubos. Para isto, 1 ml de cada amostra foram inoculadas em Caldo Lauril Sulfato de Sódio e incubadas a 36°C por 48h. O resultado positivo foi identificado pela formação de gás nos tubos de Durham, em consequência da fermentação de lactose contida no meio.

Os tubos positivos ao Caldo Lauril Sulfato de Sódio foram repicados em caldo verde brilhante bile 2% lactose. A confirmação foi feita pela formação de gás (mínimo 1/10 do volume total do tubo de Durham). A leitura foi realizada após 24 horas de incubação.

A confirmação da presença de coliformes termotolerantes foi feita por meio da inoculação dos tubos positivos ao Caldo Lauril Sulfato de Sódio, em caldo EC e posterior incubação em temperatura seletiva de 45 °C por 24 a 48 horas.

Os Resultados foram observados pela formação de gás (mínimo 1/10 do volume total do tubo de Durhan) ou efervescência quando agitado gentilmente. Foi anotado o resultado obtido para cada tubo, bem como a diluição utilizada. O caldo EC apresenta em sua composição uma mistura de fosfatos que lhe confere um poder tamponante impedindo a sua acidificação.

3.4. Contagem de bolores e leveduras

Para a contagem de bolores e leveduras foram inoculados 0,1 ml das diluições sobre a superfície seca de ágar batata glicose 2% acidificado a pH 3,5, com o auxílio de alça de Drigalski, espalhando o inóculo cuidadosamente por toda a superfície do meio, até sua completa absorção. Após este procedimento foram incubadas as placas, a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, por 7 dias, em incubadora de B.O.D. Foram selecionadas as placas que continham entre 15 e 150 colônias. A partir dos dados obtidos, foi calculado o número de microrganismos presentes e os resultados expressos em UFC/g ou ml.

Nesta etapa foi verificada a capacidade desses microrganismos se desenvolverem em meios acidificados a $\text{pH } 3,5 \pm 0,1$ promovendo seletivamente o crescimento de fungos, inibindo a maioria das bactérias presentes no alimento.

3.5. Determinação do pH

O pH foi determinado pela medida direta em potenciômetro QUIMIS modelo Q400AS, introduzindo-se o eletrodo diretamente nas amostras (FIGURA 1).



Figura 1: A – Determinação direta de pH;

3.6. Determinação da acidez titulável (º Dornic)

A acidez, em termos de ácido láctico, foi determinada titulando-se 10 ml da amostra colocado três gotas de fenolftaleína em solução alcoólica, após por meio de viragem do indicador básico foi colocado solução Dornic (NaOH N/9) por gotejamento. Para o calculo da acidez utilizou-se a seguinte formula 1 ml de NaOH 0,1 N= 0,0090g

de ácido láctico, acidez (°Dornic) = $V \times f \times 10$, onde V= volume da solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação, em ml; f= fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,11N ou N/9; 10= transformação de ácido láctico para grau Dornic. (FIGURA 2)



Figura 2: B –Titulação da acidez (°Dornic)

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Todas as amostras foram obtidas no município de MATIPÓ-MG, sendo as amostras inspecionadas obtidas de estabelecimentos comerciais, onde se encontravam em refrigeradores e as amostras de iogurte não inspecionado foram adquiridas diretamente com os fabricantes que também os armazenavam sob refrigeração. No momento das coletas as condições de armazenamento apresentavam-se aparentemente dentro da normalidade (os refrigeradores nos estabelecimentos comerciais indicavam a temperatura de 4°C).

As avaliações microbiológicas revelaram resultado presuntivo para presença de coliformes totais em apenas uma das quatro amostras avaliadas, sendo esta pertencente ao grupo das inspecionadas (TABELA 1). A mesma amostra foi testada e confirmou-se a presença de coliformes totais (35°C) (FIGURA 3) e ausência na mesma, de coliformes termotolerantes (45°C). Para as demais amostras não foi observadas crescimento indicativo de coliformes, portanto não se fizeram necessárias as etapas seguintes da colimetria (coliformes totais e termotolerantes).

Tabela 1: Avaliação microbiológica das amostras de iogurte

Amostra	NMP/ml Coliformes (Presuntivo)	NMP/ml 35°C	Coliformes	NMP/ml Coliformes 45°C	Bolores e levedura
---------	--------------------------------------	----------------	------------	---------------------------	-----------------------

A	-	-	-	< 15
B	23 (4,6-94)	23 (4,6-94)	AUSENTE	< 15
C	-	-	-	< 15
D	-	-	-	< 15

A e B – iogurte inspecionado; C e D – iogurte não inspecionado

Embora tenha sido encontrada a presença de coliformes totais em uma das amostras inspecionadas, todas as amostras apresentaram ausência de crescimento de coliformes a 45°C. Para coliformes a 35° o limite mostrado pela legislação é de 100 NMP/ml (BRASIL, 2007), permanecendo assim dentro do permitido pela Resolução N°46 de 23 de outubro de 2007 que define o limite de contagem total de coliformes termotolerantes de até 10 NMP/ml (BRASIL, 2007), portanto, todas as amostras apresentaram-se dentro dos parâmetros exigidos. Entretanto a presença de coliformes totais não é comumente descrita em iogurtes e bebidas lácteas (COELHO *et al.*, 2009).

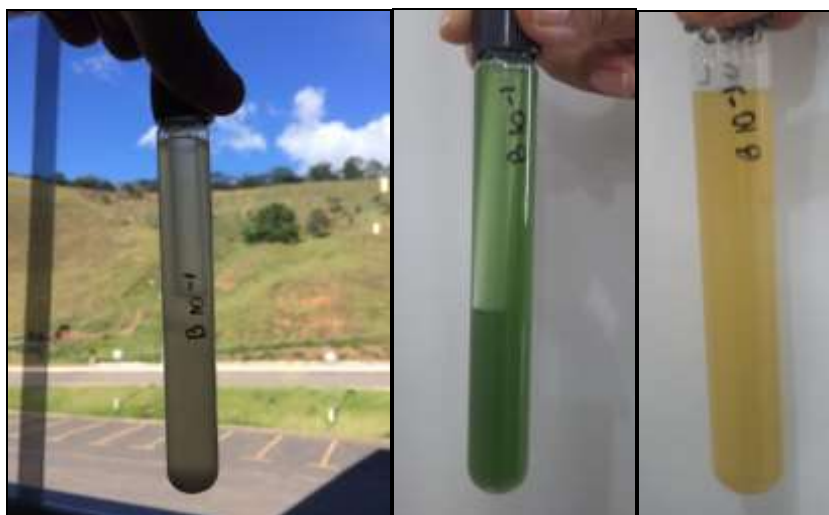


Figura 3: A – produção de gás em caldo Lauril Sulfato de Sódio característico de resultado positivo para coliformes; B – produção de gás em caldo verde brilhante (confirmatório para coliformes a 36°C); C – ausência de gás em caldo EC (confirmatório para coliformes a 45°C)

Segundo Coelho *et al.*, (2009) o número alto de coliformes totais em alimentos processados aponta um processamento inadequado, recontaminação pós-processamento e ou proliferação microbiana.

De acordo com Paiva *et al.*, (2014) a ausência de coliformes termotolerantes pode ter ocorrido devido ao baixo pH do produto, que pode ocorrer por estresse dos microrganismos e não serem detectados nas análises. Essa ausência por outro lado pode indicar boas condições higiênico-sanitárias no processo de elaboração do iogurte.

A contagem de bolores e leveduras nos iogurtes avaliados não ultrapassaram os limites descritos na Resolução N°46 de 23 de outubro de 2007 que estabelece limite máximo de 200 UFC/ml (BRASIL, 2007). Segundo Oliveira *et al.*, (2013) a ausência deste indicador de qualidade, sugere boas praticas sanitárias na fabricação, embalagem do produto e refrigeração adequada após o envase e durante a comercialização. As boas práticas minimizam as contaminações durante o processamento e manipulação e/ou inibem o crescimento de possíveis contaminantes (MOREIRA *et al.*, 2016).

Conforme pode ser observado na Tabela 2, houve uma pequena variação de pH nas amostras de iogurte, de 4,10 a 4,45, entretanto todos encontram-se dentro dos padrões (BRASIL, 2007). Segundo SILVA *et al.*, (2012) o controle do pH é indispensável, visto que o iogurte com pouca acidez (pH >4,6) promove durante a sua fabricação a separação indesejável do soro, uma vez que o gel não foi suficientemente formado. Já o pH < 4,0, gera o encolhimento do coágulo devido à redução da hidratação das proteínas, gerando também o enfraquecimento do produto.

Tabela 2: Avaliação físico-química (pH e Acidez Dornic) das amostras de iogurte

AMOSTRA	pH	ACIDEZ TITULÁVEL (g de ácido láctico/100g)
A	4,15	1,6
B	4,10	1,7
C	4,45	1,4
D	4,44	1,3

A e B – iogurte inspecionado; C e D – iogurte não inspecionado.

Os valores de pH interferem ainda na atividade metabólica das bactérias, o que pode beneficiar um grupo de microrganismos e inibir outros grupos bacterianos. Durante a fermentação, bactérias do gênero *Lactobacilos* crescem e suportam pH mais baixos do que as do gênero *Streptococcus* (SILVA *et al.*, 2012).

Os resultados encontrados nas amostras de acidez foram variáveis entre 1,3 a 1,7 (TABELA 2). Na Instrução Normativa N°46 (BRASIL, 2007) estabelece que para o iogurte a acidez possa variar de 0,6 a 1,5%, portanto as duas amostras de iogurtes inspecionadas (A e B) deram valores acima dos padrões estabelecidos. De acordo com Oliveira *et al.*, (2013) o aumento da acidez altera as características organolépticas do iogurte, deixando-o incompatível com suas características de identificação estabelecidas pela legislação, podendo ser explicados por diversos fatores, falhas no

controle da temperatura, durante o processo de produção ou no momento do armazenamento.

As amostras A e B apresentaram acidez acima do permitido, o que pode ter sido causada pelo crescimento incontrolável de *Lactobacillus bulgaricus* nas temperaturas de refrigeração pós-acidificação. Essa elevação na acidez pode favorecer o aumento de outros microrganismos mais resistentes à acidez (FERNANDES *et al.*, 2011). Resultados semelhantes foram encontrados por Silva *et al.*, (2012) mostrando um maior valor para acidez, e menor valor para pH, isso é possível de ocorrer devido à conversão da lactose em ácido láctico pela fermentação das bactérias presente no iogurte.

Segundo Silva *et al.*, (2012) e Coelho *et al.*, (2009) a acidez do iogurte varia durante a estocagem, em menor ou maior grau, de acordo com a acidez inicial, da temperatura de armazenamento e da capacidade de acidificação da cultura.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostraram que todos os iogurtes avaliados apresentavam valores microbiológicos e de pH dentro do permitidos pela legislação, o que confere a este produto boa qualidade. Já nas análises de acidez, as amostras A e B, iogurtes inspecionados, apresentaram resultados acima dos exigidos pela legislação vigente o que demonstra a necessidade de melhorias no processo produtivo e a implantação de uma fiscalização mais efetiva tanto industrial, quanto informal, para que não seja comercializado produto impróprio ao consumo, que possam causar doenças transmitidas por alimentos, garantindo, assim, uma qualidade do produto final.

6. REFERÊNCIAS

AMSON, G. V.; HARACEMIV, S. M. C.; MANSSON, M. L. Levantamento de dados epidemiológicos relativos à ocorrências/surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no estado do Paraná – Brasil, no período de 1978 a 2000. **Ciência agrotécnica**. v. 30, n.6, p. 1139-1145, nov./dez., 2006)

BECKER, L. **Iogurte probiótico com teor reduzido de lactose adicionado de óleo de linhaça**. Universidade federal de Santa Maria, centro de ciências rurais, programa de pós-graduação em ciências e tecnologia dos alimentos. Santa Maria – RS, 2009.

BRASIL, ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados**. Instrução normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007.

CAMPOS, M. R. H.; KIPNIS, A.; ANDRÉ, M. C. D. P. B.; VIEIRA, C. A. S.; JAYME, L. B.; SANTOS, P. P.; SERAFINI, A. B. Caracterização fenotípica pelo antibiograma de cepas de *Escherichia coli* isoladas de manipuladores, de leite cru e de queijo “Minas Frescal” em um laticínio de Goiás. Brasil. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.36, n.4, p.1221-1227, jul./ago., 2006,

CARNEIRO, C.S.; CUNHA, F. L.; CARVALHO, L. R.; CORRIJO, K. F.; BORGES, A.; CORTEZ, M. A. S., Leites fermentados: histórico, composição, características físico-químicas, tecnologia de processamento e defeitos. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 27, Ed. 214, Art. 1424, 2012.

CESARINO, M.L., SOARES, K.M.P. e SILVA, J.B.A. Avaliação de parâmetros de qualidade microbiológica de bebidas lácteas comercializadas na cidade de Mossoró-RN. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 6, Ed. 111, Art. 747, 2010.

CIRIBELI, J. P.; CASTRO, L. S. DESCRIÇÃO DA CADEIA PRODUTIVA DO IOGURTE: um estudo de caso realizado no Laticínio do Centro Federal de Educação Tecnológica de Rio Pomba. **Revista Gestão Empresarial**, Rio Pomba, v. 1, n. 1, p.75-87, 20 jan. 2011.

CODEX, A. **Princípios gerais de higiene alimentar**. CAC/RCP 1-1969, Rev. 4-2003.

COELHO, F.J.O., QUEVEDO, P.S., MENIN, A., TIMM, C.D. Avaliação do prazo de validade do iogurte. **Ciência Animal Brasileira**, V. 10, N. 4, p. 1155-1160, out./dez. 2009.

FEITOSA, T.; BORGES, M. F.; NASSU, R. T.; AZEVEDO, E. H. F.; MUNIZ, C. R. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitário em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, p. 162-165, dezembro, 2003.

FERNANDES, S. S.; COELHO, R. S.; FRANCO, R. M.; BARBOSA, C. G.; LUCHESE, R. H. Monitoramento da microbiota de iogurtes comerciais. **Revista Inst. Lactic. “Cândido Tostes”**. n°382, p.5-11, 2011.

FERREIRA, M. A. C.; FREIRE, L. A. S.; BARBOSA, T. A.; SIQUEIRA, A, P. S. Desperdício de iogurte por embalagens. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 3, n. 3, p. 24-27, jul./set. 2016.

LENGLER, C. M. Z. **Produtos Lácteos: comparação do conhecimento e consumo por acadêmicos ingressantes e concluintes de um curso de Nutrição de faculdade particular do oeste do Paraná**. Dissertação (Graduação em Nutrição) – Faculdade Assis Gurgacz, Cascavel, p.29, 2007.

MARTINS, A. M. C. V.; BURGER, K. P.; GONÇALVES, A. C. S.; GRISÓLIO, A. P. R.; AGUILAR, C. E. G.; ROSSI, G. A. M. Avaliação do consumo de leite e produtos lácteos informais e do conhecimento da população sobre seus agravos à saúde pública, em um município do estado de São Paulo, Brasil. **B. Industr. Anim., N. Odessa**. v.70, n.3, p. 221-227, 2013.

MARTINS, A. G. L. A.; NASCIMENTO, A. R.; AMARAL, D. S.; FILHO, N. E. M.; OLIVEIRA, A. B. **Avaliação da contaminação do leite cru comercializado nas vias públicas do município de Açailândia – MA por *Staphylococcus coagulase positiva***. Higiene Alimentar. v.30, n.256/257, maio/junho, 2016.

MEDEIROS, A. P.; CASAGRANDE, F.; BITTARELO, K. P. **Processamento do iogurte**. 2006, 20 p. Tese – Departamento de Engenharia Química e Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

MOREIRA, L. L.; SANTOS, M. A. M.; SILVA, C. R.; MARTINS, A. D. O.; SILVA, V. R. O.; BALBI, P. V. T.; OLIVEIRA, K. L. **Elaboração e avaliação sensorial de iogurte tipo *sundae* de leite de cabra sabor coco**. Higiene Alimentar, vol. 30, n.256/257, maio/junho, 2016.

OLIVEIRA, F. M.; LYRA, I. N.; ESTEVES, G. S. G. Avaliação microbiológica e físico-química de iogurtes de morango industrializados e comercializados no município de Linhares – ES. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.15, n.2, p.147-155, 2013.

PAIVA, Y. F.; SILVA, K. C. M.; PEREIRA, K. D.; OLIVEIRA, C. P.; ARAÚJO, A. S. **Avaliação microbiológica de iogurte natural com polpa de abacaxi base mel**. Caderno Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, v.4, no.1, 2014.

ROBIM, M. S. **Avaliação de diferentes marcas de leite uat comercializadas no estado do rio de janeiro e o efeito da fraude por aguagem na fabricação, composição e análise sensorial de iogurte**. Dissertação - Programa de Pós-Graduação, Niterói – RJ, 2011.

RODAS, M. A. B.; RODRIGUES, R. M. M. S.; SAKUMA, H.; TAVARES, L. Z.; SGARBI, C. R.; LOPES, W. C. C. Caracterização físico-química, histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com frutas. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, set-dez. 2001.

SANTOS, C. A. A.; COELHO, A. F. S.; CARREIRO, S. C. Avaliação microbiológica de polpas de frutas congeladas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, out./dez., 2008.

SARMENTO, P. G. C. **Implementação de um Sistema de Segurança Alimentar (HACCP) numa indústria de produção de iogurte batido com pedaços de ananás e a validação do sistema**. Dissertação (Graduação em Tecnologia e Segurança Alimentar) Faculdade de ciências e tecnologia, Lisboa, 2011.

SENAI - SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM. Guia para elaboração do Plano APPCC. SENAI/ DN. **Série Qualidade e Segurança Alimentar**. Projeto APPCC. SENAI/SEBRAE, p 317. Brasília, 1999.

SILVA, A. I. D.; PEREIRA, F. J. D.; BEIRÃO, M. C. R. V.; GOMES, M. R. F. S.; MOURA, P. C.; PORFÍRIO, P. A.; FERNANDES, P. D. L. Produção de iogurte. **FEUP**, Portugal, outubro 2010.

SILVA, L. C.; MACHADO, T.B.; SILVEIRA, M. L. R.; ROSA, C. S.; BERTAGNOLLI, S. M. M. Aspectos microbiológicos, pH e acidez de iogurtes de produção caseira comparados aos industrializados da região de Santa Maria – RS. **Disc. Scientia. Série: Ciências da Saúde**, Santa Maria, v. 13, n. 1, p. 111-120, 2012.

COMPARAÇÃO DA DOR NA REALIZAÇÃO DE OVARIOSALPINGO-HISTERECTOMIA (OSH) PELA LINHA MEDIANA E PELO FLANCO EM GATAS

Acadêmicos: Jonara Fernandes de Souza e Carina Conceição Reis

Orientadora: Vanessa Guedes Pereira

RESUMO

A ovariossalpingohisterectomia (OSH), é considerado uma das técnicas mais utilizadas na clínica de pequenos animais. O presente trabalho teve como objetivo comparar a dor pós-operatória em gatas submetidas a OSH pela linha mediana e pelo flanco. Foram utilizadas oito gatas divididas em dois grupos experimentais. Os animais foram pré-medicados com acepromazina, morfina e cetamina e induzidos com propofol e a manutenção anestésica foi realizada com isoflurano. A avaliação da dor foi realizada através da escala de dor aguda para gatos do Centro Médico Veterinário da Universidade do Estado do Colorado, no momento basal até 12 horas após o término da cirurgia. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos experimentais, com relação a frequência cardíaca, respiratória, temperatura corporal e escores de dor. Uma gata submetida à OSH pela linha mediana recebeu um resgate analgésico quatro horas após o término da cirurgia. Gatas pré-medicadas com acepromazina, morfina e cetamina e submetidas à OSH pelo flanco necessitam de menor requerimento analgésico em 12 horas após o procedimento cirúrgico. A avaliação da dor pós-operatória em gatos é difícil de realizar, mesmo com o uso de escalas objetivas, devido ao comportamento característico destes animais.

PALAVRAS CHAVES: OVARIOSALPINGO-HISTERECTOMIA., GATAS., DOR., ESCALA.,

1. INTRODUÇÃO

A ováriosalpingo-histerectomia (OSH), é considerado uma das técnicas mais utilizada na clínica de pequenos animais devido sua eficácia em tratamentos como piometra, tumores, prolapsos, (MARTINS & LOPES, 2005; PLIEGO *et al.*, 2008; ROLIM *et al.*, 2010). Além disso mantém o controle populacional, e prevenção do cio e de prenhes indesejadas(BALTHAZAR DA SILVEIRA *et al.*, 2013).

Este procedimento realiza laparotomia com a remoção dos ovários, trompas e útero, podendo ser por videolaparoscopia (FERREIRA *et al.*, 2011). Além da tradicional técnica de OSH pela linha mediana, existe a castração pelo flanco como opção na clínica de pequenos, apesar de ser pouco realizada (MINGUEZ *et al.*, 2005).

No caso de gatas, a OSH pelo flanco se torna necessário quando há constatação de hiperplasia mamária e exacerbado desenvolvimento das glândulas

mamárias mediante a lactação por exemplo, dificultando o acesso pela linha mediana ventral (FONINI, 2010).

A dor pós-operatória está presente em todas as cirurgias em tecidos com inervação, ela é controlada no momento da cirurgia pela anestesia, e está intimamente relacionada a morbidade pós-operatória, portanto deve ser tratada e controlada de forma eficaz (ALMEIDA *et al.*, 2006). Os traumas teciduais estão relacionados com o tipo de intervenção cirúrgica, podendo variar de intensidade. Independente da técnica utilizada, nota-se que o procedimento cirúrgico gera dor e desconforto para o paciente no período pós-operatório (BARBOSA *et al.*, 2014).

Uma minuciosa observação e avaliação do comportamento do animal é de extrema importância para o diagnóstico da dor. Animais com estímulos dolorosos tendem a ficar deprimidos e indiferentes ao ambiente, ou apresentar manifestação de extrema agressividade. Ao apresentarem dor, os gatos alteram a postura corporal e, podem perder o hábito de se lamber como forma de higienização.

Sua frequência respiratória torna-se elevada e as inspirações curtas, os olhos permanecem constantemente abertos e com as pupilas dilatadas (FOSSUM, 2015). Há também o aumento da frequência cardíaca e da temperatura corporal, e em amostras de sangue pode-se observar elevação nas concentrações de glicose, cortisol ou catecolaminas. A inexistência de sinais evidentes de dor não significa sua ausência, pois desarranjos metabólicos tendem a mascarar o comportamento animal frente à dor (RAUBER, 2011).

O presente trabalho tem como objetivo principal comparar os parâmetros de dor em gatas após a realização de OSH pelo flanco e pela linha mediana, afim de estabelecer e indicar melhores protocolos de técnica cirúrgica e melhor recuperação para a pacientes.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. FISIOPATOLOGIA DA DOR PÓS-OPERATÓRIA

Em animais, a dor é uma percepção emocional e sensorial, que resulta em ações motoras protetoras. Pode modificar as características da espécie, inclusive o comportamento social (BERNO & MENDES, 2015). A nocicepção é o termo utilizado para descrever a transdução, transmissão e a modulação dos sinais neurais gerado por um estímulo nocivo externo (KLAUMANN, 2008).

Durante a transdução ocorre a conversão do estímulo nocivo, seja ele mecânico, químico ou térmico em energia elétrica pelas terminações nervosas aferentes. Na transmissão ocorre a propagação do impulso nervoso via nervos aferentes em dois modos: propagação rápida pelas fibras delta A, responsável pela dor aguda inicial e propagação lenta pelas fibras C, responsável pela dor secundária, latejante. A modulação surge quando neurônios destas fibras realizam sinapse com os neurônios do corno dorsal da medula espinhal (CASTRO, 2011).

O impulso nociceptivo gerado é processado na medula espinhal e, por conseguinte, os aspectos físicos da dor serão atribuídos as vias aferentes do tálamo que chegam ao córtex cerebral e as vias aferentes ao sistema límbico que está relacionado aos componentes emocionais da dor (KLAUMANN, 2008).

Quando não tratada corretamente, a dor pós-operatória deixa de ser benéfica (dor fisiológica) e passa a ser nociva ao organismo animal, promovendo alterações sistêmicas relacionadas à ativação do sistema neuroendócrino. Ao ser ativado, este eixo tem o potencial de promover alterações cardiovasculares tais como hipertensão, taquicardia e arritmias, alterações respiratórias que levam a uma hipoxemia e hipercapnia, anorexia, sonolência, deficiências no sistema imune, hiperglicemia e distúrbios eletrolítico (PEREIRA, 2007).

A sensação de dor no pós-operatório é subjetiva e pessoal, sendo um processo natural de proteção do organismo quando ocorre lesão tecidual, proporcionando ao indivíduo um despertar para remover o estímulo de dor. A incidência, intensidade e localização da dor está relacionada a vários fatores, tais como ansiedade, medo, depressão, fatores genéticos e ambientais que influenciam a sensibilidade à dor. Também está relacionada a extensão do trauma, a gravidade do procedimento, das doenças preexistentes e do método analgésico prescrito para o paciente (HORTA&FUKUSHIMA, 2014).

A dor após procedimentos cirúrgicos gera consequências como a ausência de resposta do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) ao retro controle negativo, que exerceria a elevação de cortisol plasmático, chegando a um nível superior necessário para uma resposta do córtex da suprarrenal. Outra consequência é um aumento dos níveis plasmáticos dos hormônios hipofisários anteriores (GH, ACTH), hipofisários posteriores (prolactina, ADH), das catecolaminas e corticossuprarenais do glucagon. Pacientes que se submetem a protocolos anestésicos que levam em conta as

exigências analgésicas nos períodos pré, inter e pós procedimento cirúrgico retomam as funções normais mais cedo em relação aos que não receberam analgésicos (ALMEIDA *et al.*, 2006).

O procedimento cirúrgico gera uma dor nociceptiva principalmente em nível central com uma reorganização funcional no corno dorsal da medula espinhal, e em nível periférico liberando mediadores inflamatórios como prostaglandinas, histamina, serotonina e bradicinina que aumentam a sensibilidade dos nociceptores (KLAUMANN, 2008).

2.2. AVALIAÇÃO DA DOR EM GATOS

A dor em felinos se manifesta de forma discreta em comparação a outras espécies (HORTA & FUKUSHIMA, 2014). Em alguns casos, animais com dor aguda podem apresentar aumento do tônus da musculatura abdominal e protegem a área acometida (RAUBER, 2011).

Conforme o grau da dor, incômodo ou estresse repentino do animal, torna-se dificultoso o exame físico no local da cirurgia. O Paciente apresenta reações, como olhar atento, abdômen tenso, resistência ao estímulo, vocalização e tentativa de morder o examinador (BRONDANI *et al.*, 2012)

Os gatos quando se encontram com dor intensa, tendem manifestar sons ronronantes, além de choros e lamurias (PINTO DA CUNHA *et al.*, 2002). Além disso, podem assumir comportamentos agressivos quando alguém se aproxima ou quando são manipulados (HORTA & FUKUSHIMA, 2014).

A vocalização pode ser constante, intermitente ou ocorrer somente após manipulação do paciente, além de poder ser interrompida ou não quando o paciente é confortado. No entanto, animais com dor não precisam, necessariamente, manifestar vocalização (BERNO & MENDES, 2015).

Assim como qualquer outro indicador de nocicepção ou de dor, é importante a inclusão de um conjunto de sinais comportamentais para sugerir uma condição dolorosa (BERNARDI *et al.*, 2012).

Com esse objetivo foi escolhida a escala da Universidade do Colorado, entre outras escalas pesquisadas tais como, Escala Composta de Glasgow e Escala da dor da Universidade de Melbourne, por se mostrar mais detalhada e completa, na avaliação dor aguda em gatos (CASTRO, 2011).

A escala varia de 0 (zero) a 4 (quatro), onde são observados os comportamentos, o estado psicológico do animal, resposta a palpação e tensão corporal. No nível 0 (zero) de dor, o animal se encontra confortável, curioso, satisfeito, não havendo qualquer sensibilidade á palpação, com tensão corporal mínima (COMASSETTO, 2017).

No nível 1 (um), os sinais comportamentais são discretos e de difícil reconhecimento, como por exemplo a mudança em seu comportamento normal em seu território, podendo reagir ou não a palpação da ferida cirúrgica havendo tensão leve (ALEIXO *et al.*, 2016).

Já no nível 2 (dois) o animal tende a se isolar, permanecendo quieto e enrolado, apresenta perda do apetite, sua reação pode ser agressiva ou de fuga durante a palpação, e tensão leve a moderada com necessidade de rever a analgesia (HORTA *et al.*, 2014).

Com referência ao nível 3 (três) da dor em gatos, é possível encontrá-los emitindo sons próprios desta espécie quando solitários, mordendo a ferida, se tornam agressivos a palpação e relutante, sendo moderada a tensão corporal, necessitando de reavaliar plano analgésico (CASTRO, 2011).

Por fim no nível 4 (quatro), o animal se encontra em decúbito permanente, disperso ao ambiente, não se importando com o contato, a palpação pode não ser respondida com possível rigidez, a tensão vai de moderada a severa, de ser revista a analgesia (HORTA *et al.*, 2014).

3- METODOLOGIA

O presente estudo foi submetido à Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Faculdade Vértice – UNIVÉRTX e foi realizado no Hospital Escola Gardingo, na Faculdade Vértice Univertix – Matipó. Os proprietários foram esclarecidos sobre o experimento e autorizaram a utilização dos animais através da assinatura do termo de livre consentimento livre.

3.1. Animais

Foram utilizadas 8 (oito) gatas, clinicamente sadias selecionadas a partir da avaliação clínica geral no pré-operatório, e normalidade dos exames laboratoriais:

Hemograma completo e dosagem de ureia, creatinina, alanina aminotransferase (ALT), transaminase glutâmico-oxalacética (AST).

3.2. Período pré-operatório e protocolo anestésico

Previamente ao procedimento cirúrgico os felinos foram submetidos ao jejum alimentar por 8 (oito) horas e jejum hídrico por 6 (seis) horas e foram acomodadas em gaiolas individuais para aclimatação com o ambiente até o momento do preparo anestésico.

Os pacientes receberam como medicação pré-anestésica (MPA) a associação de 0,03 mg/kg de acepromazina 0.2%, 0,3mg/kg de morfina 1% e 3 mg/kg de cetamina 10% por intramuscular (IM); em seguida foi realizada tricotomia da região abdominal ventral, flanco esquerdo e direito e a região da veia cefálica. A cateterização foi realizada na veia cefálica, com cateter 22G e administração da fluidoterapia com Ringer lactato na taxa de 10mL/kg/h. Foram avaliados os parâmetros basais, incluindo frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura corporal (TC) (T0).

Os animais foram então distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais onde; os animais do grupo 1 (G1) foram submetidos à OSH pelo flanco e o grupo 2 (G2) os animais foram submetidos à OSH pela linha mediana.

Após o preparo dos pacientes, foi realizada a indução anestésica com propofolna dose de 2mg/kg intravenoso e foi instilado 0,1 ml de lidocaína 2% na região da faringe para a intubação orotraqueal. Imediatamente após intubação, a sonda endotraqueal com *cuff* foi conectada ao circuito circular valvular para a administração de isoflurano diluído em 100% de oxigênio por meio de vaporizador calibrado, sendo este ajustado para a manutenção do plano anestésico compatível com o procedimento cirúrgico, sendo os animais mantidos em ventilação mecânica para a manutenção da normocapnia.

Em todo o procedimento cirúrgico, os animais foram monitorados com auxílio eletrocardiograma, saturação de oxihemoglobina, frequência cardíaca, temperatura retal e pressão arterial sistólica, mediana e diastólica pelo método oscilométrico, sendo o manguito selecionado de acordo com o tamanho do animal e colocado imediatamente acima da articulação úmero-radio-ulnar, comprimindo-se a artéria braquial e obtendo-se pulso da artéria radial do carpo.

As gatas foram posicionadas em decúbito dorsal ou decúbito lateral dependendo do acesso cirúrgico e acomodados sobre colchão térmico, permanecendo assim até o fim do procedimento cirúrgico.

3.3. Avaliação da dor pós-operatória

Os escores de dor foram avaliados logo após a extubação (T1) e 1, 2, 4, 6, 8, e 12 horas após o término do procedimento cirúrgico (T2, T3, T4, T5, T6, e T8, respectivamente). As características comportamentais dos animais foram avaliadas desde a consulta pré-operatória antecedente ao estudo para evitar que comportamentos característicos dos animais, fossem interpretados como sinais de dor.

A dor foi avaliada pela escala de dor aguda para gatos do Centro Médico Veterinário da Universidade do Estado do Colorado (FIGURA 1), que utiliza escore de 0 (zero) a 4 (quatro), dividida em 4 etapas, que possui locais específicos para registro de presença de dor, calor e tensão muscular. Esta escala permite avaliar o comportamento a partir de imagens que retratam posições corporais dos felinos, os sinais psicológicos e a resposta a palpação.

A avaliação da dor pós-operatória foi realizada em três etapas. Primeiramente, o animal foi observado em frente à gaiola onde este ficou acomodado. Em seguida, a porta da gaiola foi aberta observando a reação do animal na presença do avaliador. Na última etapa da avaliação, o animal foi, de forma sequencial, chamado pelo nome, encorajado a se levantar e andar pelo recinto para então ser manipulado pelo avaliador.

Os animais que apresentaram escore de dor igual ou superior a 2 pontos receberam analgesia suplementar com o tramadol 5mg/kg intramuscular.

Foi avaliado o tempo para a primeira analgesia suplementar definido como o intervalo de tempo entre a do término da cirurgia e a primeira suplementação analgésica, podendo variar de 1 a 12 horas. Também foi registrado o número de vezes em que foi realizada a analgesia suplementar em cada grupo.






		Psicológico e comportamental	Resposta à palpação	Tensão
0		Descansando confortável Contente e calmo sozinho Interessado ou curioso sobre o ambiente	Não se incomoda com a palpação da ferida ou palpação em qualquer lugar	Mínima
1		Sinais geralmente sutis e difíceis de detectar no hospital, mas fácil de detectar em casa pelo proprietário (alheio ao ambiente e mudança de hábito) No hospital pode estar contente ou ligeiramente inquieto Menos interessado no ambiente, mas ainda olha para ver o que está acontecendo	Pode ou não reagir a palpação da ferida.	Leve
2		Menos responsivo, quer ficar só Quieto, perda do brilho nos olhos Fica todo encolhido, olhos parcialmente fechados Pêlo mal cuidado, pode lambe muito uma área dolorida ou irritada Redução de apetite, falta de interesse por comida.	Responde agressivamente à aproximação ou tenta escapar se a área dolorida é palpada Tolera atenção, pode até gostar de ser acariciado se a área dolorida for evitada	Leve a moderada
3		Constantemente ronronando, chiando ou miando sofrido sozinho Pode morder a ferida, reluta em se mover sozinho.	Ronrona ou chia à palpação de área não dolorida Reage agressivamente à palpação, rejeita fortemente o contato	Moderada
4		Prostrado Potencialmente não responsivo ao ambiente, com dificuldade para se distrair da dor Receptivo a cuidado (mesmo gatos selvagens serão mais tolerantes ao contato).	Pode não responder à palpação Postura rígida para evitar movimento doloroso	Moderada a severa

Figura 1: Escala de dor aguda para gatos do Centro Médico Veterinário da Universidade do Estado do Colorado (CASTRO, 2011).

3.4. LIBERAÇÃO DOS ANIMAIS APÓS O ESTUDO

Após o último momento de avaliação (12 horas após o término do procedimento cirúrgico), os animais receberam tramadol 5% na dose de 5mg/kg IM, independente do escore da dor atribuído em T8. Foi prescrito aos animais meloxicam 0,1mg/kg por via oral, a cada 24 horas, por três dias. Todos os animais retornaram ao hospital veterinário com cerca de 10 dias após o procedimento cirúrgico para a retirada dos pontos.

3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para verificar a normalidade dos dados, foi realizado o teste Shapiro-Wilk. Os dados foram submetidos ao teste *Two Way Repeated Measures ANOVA* para a comparação entre os grupos experimentais e os tempos de avaliação dentro de cada grupo. Para avaliação dos escores de dor, foi realizado o teste não paramétrico *Kruskal-Wallis*. Todos os testes foram realizados por meio do programa estatístico *SigmaPlot 12.5*, sendo adotado o grau de significância de 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos parâmetros cardiovasculares respiratórios estão apresentados na Tabela 1 e figuras 1, 2 e 3. Os valores de escores da dor obtidos pela Escala de dor aguda para gatos do Centro Médico Veterinário da Universidade do Estado do Colorado (CASTRO, 2011), estão relacionados na tabela 2.

Tabela 1. Médias e desvio padrão dos parâmetros de frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal (TR) de gatas pré-medicadas com acepromazina, morfina e cetamina e anestesiadas com propofol e isoflurano, submetidas à OSH pelo flanco (G1) ou pela linha mediana (G2).

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T8
FC								
G1	181±29 Aa	174±51 Aa	199±10 Aa	195±34 Aa	196±41 Aa	181±18 Aa	174±37 Aa	184±26 Aa
G2	204±25 Aa	179±40 Aa	209±15 Aa	207±6 Aa	193±7 Aa	199±23 Aa	200±16 Aa	192±14 Aa
FR								
G1	74±17 Aa	34±9 Aa	49±20 Aa	54±23 Aa	64±5 Aa	61±13 Aa	60±9 Aa	47±16 Aa
G2	67±25 Aa	37±8 Aa	48±10 Aa	50±14 Aa	46±7 Aa	61±12 Aa	49±10 Aa	55±16 Aa
TR								
G1	38.9±0.8 Aa	37±0.1 Aa	37.5±1,2 Aa	38.5±0,7 Aa	39.3±1 Aa	37.9±0,9 Aa	38.5±1,4 Aa	38.9±1,2 Aa
G2	38.4±0,2 Aa	36.4±0,6 Aa	37.7±20,7 Aa	38.1±0,5 Aa	38.1±1,6 Aa	38.6±0,5 Aa	38.2±0,9 Aa	38.2±0,7 Aa

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

Não houve diferença significativa na frequência cardíaca entre os grupos 1 e 2 (TABELA 1, FIGURA 2), sendo que este parâmetro foi mantido dentro dos limites fisiológicos para a espécie, que segundo Feitosa (2014), variando de 120 à 240 batimento por minuto (bpm). Esses resultados corroboram com Schiochet (2009) onde foi observado que felinos submetidos a OSH laparoscópica também não apresentaram alterações cardíacas. Além disso, Cambridge *et al.*, (2000) relataram que alterações na frequência cardíaca e respiratória não são bons indicadores em gatos e não variaram na comparação de gatos submetidos à cirurgia dos gatos não operados. No entanto, o protocolo anestésico pode ter influência no controle da dor pós-operatória destes

animais, onde a utilização da cetamina na dose de 3mg/kg, como descrito por Bianchi (2010) que a utilização de cetamina em doses baixa promove efeito analgésico e não causa efeitos cardiovasculares o mesmo pode ser associado ao uso da morfina administrada pela via intramuscular, pois Manfrinate (2009) relata que em geral, os opioides geram poucos efeitos cardiovasculares.

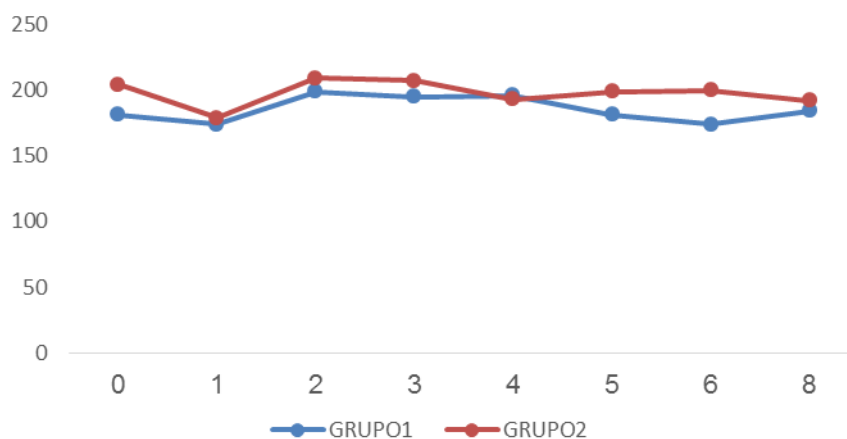


Figura 2: Valores médios da FC (bpm) de gatas pré-medicadas com acepromazina, morfina e cetamina e anestesiadas com propofol e isoflurano e submetidas à OSH pelo flanco (G1) ou pela linha mediana (G2).

Em relação a frequência respiratória não houve diferenças estatísticas entre grupos (TABELA 1, FIGURA 3). No entanto houve pode-se observar menores médias deste parâmetro em T1, que corresponde o momento após a extubação e pode ser justificado pelo efeito depressor sobre o sistema respiratório tanto do propofol quanto do isoflurano (BERRY, 2015; STEFFEY *et al.*, 2015). Este efeito foi observado mesmo com a administração do propofol em dose baixa (2mg/kg) estando de acordo com Mata (2006) que relata a dose para indução anestésica é de 2 a 8 mg/kg para gatos. Além disso, o isoflurano utilizado no protocolo anestésico apresenta a vantagem de não reduzir a resistência vascular sistêmica e não sensibilizar o miocárdio às catecolaminas (SCHIOCHET, 2009).

Os fármacos utilizados na medicação pré-anestésica destes animais provavelmente tiveram pouca influência sobre a diminuição da frequência respiratória em T1 pois segundo Pinto da Cunha *et al.* (2002) a morfina pode causa depressão respiratória nos primeiros 30 minutos após a aplicação intramuscular, e o efeito da cetamina se mostra mínimo sobre o sistema respiratório quando administrado em

baixas doses (BARROS DE OLIVEIRA *et al.*, 2004). Já a acepromazina pode promover depressão respiratória leve mas atua como potencializador farmacológico dos anestésicos gerais, reduzindo-lhes assim a dose total e potencializando a ação depressora de outros agentes (ARAUJO *et al.*, 2001).

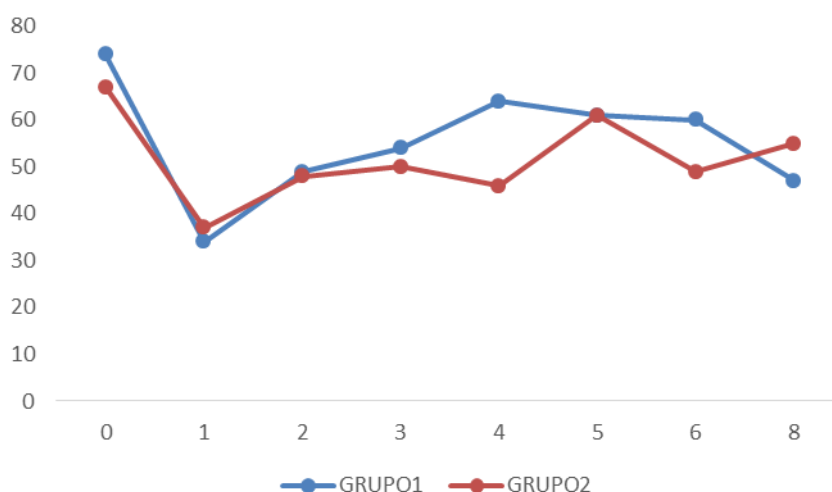


Figura 3: Valores médios da FR (mpm) de gatas pré-medicadas com acepromazina, morfina e cetamina e anestesiadas com propofol e isoflurano e submetidas à OSH pelo flanco (G1) ou pela linha mediana (G2).

Com relação a temperatura, também não houve diferença significativa entre os grupos, no entanto observou-se menores médias da temperatura corporal, em T1 e T2 (TABELA 1, FIGURA 4). Os animais de ambos os grupos em T1, mantiveram a temperatura corporal abaixo da faixa considerada fisiológica para a espécie, que segundo Feitosa (2014) varia de de 37,8 a 39,2°C. Resultado semelhante foi relatado por Manfrinate (2009) utilizando a morfina e a metadona associadas à acepromazina em gatas anestesiadas com propofol e halotano e submetidas à OSH.

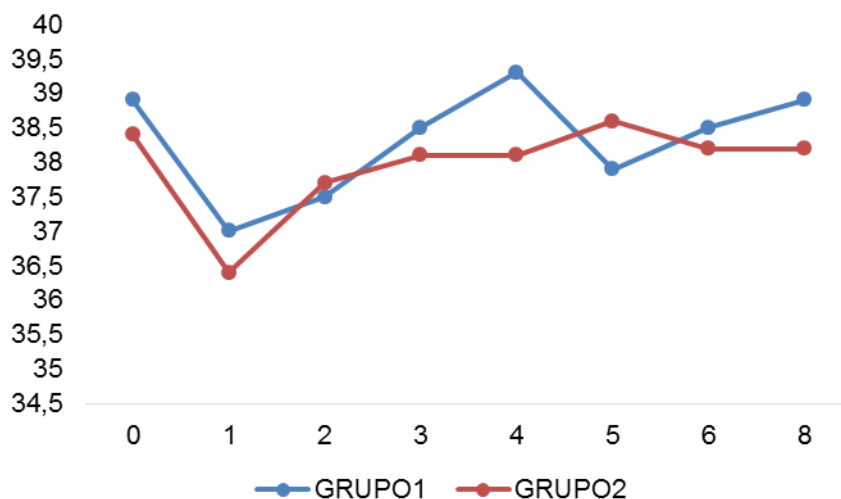


Figura 4: Valores médios da TC (°C) de gatas pré-medicadas com acepromazina, morfina e cetamina e anestesiadas com propofol e isoflurano e submetidas à OSH pelo flanco (G1) ou pela linha mediana (G2).

A hipotermia observada no presente estudo, mesmo com os animais sendo mantidos em colchão térmico, pode estar relacionada à inibição central do centro térmico regulador pelo uso de anestésicos gerais, associada a alta perda de calor durante o procedimento cirúrgico prejudicando a termoregulação. Os medicamentos pré-anestésicos também promovem vasodilatação periférica, principalmente a acepromazina (LOPES *et al.*, 2011). Já os opioides afetam o sistema termorregulador mesmo quando utilizados durante a MPA (MANFRINATE, 2009).

Para se reconhecer a dor dos animais é necessária uma avaliação completa do comportamento do animal, o que gera uma dificuldade, pela dependência da avaliação de parâmetros subjetivos (PINTO DA CUNHA *et al.*, 2002). O uso de escalas para o reconhecimento da intensidade da dor é muito utilizado em humanos (COELHO DA SILVA & DELIBERATO, 2011) e mais recentemente, o uso de escala para a avaliação de dor pós-operatória em cães aumentou, (CAMBRIDGE *et al.*, 2000), porém, estudos com gatos ainda são escassos.

Para a avaliação da dor pós-operatória, optou-se pela avaliação da dor com o auxílio da Escala de dor aguda para gatos do Centro Médico Veterinário da Universidade do Estado do Colorado, para detectar de forma mais objetiva a sensação de dor nos animais do presente estudo. Esta escala foi a primeira escala de avaliação da dor aguda em gatos e apresenta como vantagem a fácil aplicação com mínimas interpretações requeridas. A presença de descrições dos sinais psicológicos e

comportamentais da palpação da ferida cirúrgica e a ainda, a tensão corporal, critério não abordado em outras escalas, reduz a variabilidade entre os observadores (CASTRO, 2011).

Não houve diferença na comparação dos grupos experimentais com relação aos escores de dor pós-operatória (TABELA 2) e apenas um animal do G2, OSH pela linha mediana, necessitou de resgate analgésico em T4.

Tabela 2: Mediana, quartil inferior e superior dos escores de dor de gatas pré-medicadas com acepromazina, morfina e cetamina e anestesiadas com propofol e isoflurano, submetidas à OSH pelo flanco (G1) ou pela linha mediana (G2) avaliadas pela Escala da Universidade do Estado do Colorado.

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T8
G1	0 0-0 Aa	0 0-0,37 Aa	0,1 0-0,45 Aa	0,15 0,02-0,45 Aa	0,3 0,2-1,25 Aa	0,2 0,05-0,27 Aa	0,25 0,2-0,3 Aa	0,3 0,2-0,37 Aa
G2	0 0-0 Aa	0,25 0-0,5 Aa	0,2 0,02-0,45 Aa	0,25 0,12-0,45 Aa	0,4 0,3-2,0 Aa	0,15 0-0,45 Aa	0,25 0,05-0,45 Aa	0,35 0,3-0,47 Aa

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

Este resultado demonstra que a utilização da Escala de dor aguda para gatos do Centro Médico Veterinário da Universidade do Estado do Colorado e utilizando-se este protocolo anestésico não foi possível diferenciar a dor pós-operatória de gatas submetidas OSH pela linha mediana ou pelo flanco. Este resultado confirma o relatado por Cambridge *et al.*, (2000) sobre a particularidade e o desafio da detecção de dor em gatos, cujo sinais de dor são muitas vezes sutis, e alterações nos parâmetros fisiológicos não costumam ser indicadores de dor pós-operatória nesta espécie. Neste trabalho as gatas eram acomodadas em gaiolas individuais oito horas antes da cirurgia, no entanto, Cambridge *et al.* (2000) relatam que o tempo de aclimação dos gatos antes do procedimento cirúrgico não é suficiente para que estes animais não se estressem fazendo com que ocorra mudanças fisiológicas e comportamentais no ambiente hospitalar.

No presente estudo, o resgate analgésico foi realizado quando os animais atingissem a pontuação de 50% do valor máximo da escala, conforme utilizado em outros estudos (PEKCAN& KOC, 2010; 2011; VETTORATO e BACCO, 2011) pois este

valor se mostra eficiente para detectar a presença de dor pós-operatória, embora pontuações inferiores possam ser utilizadas em escalas, considerando a subjetividade da avaliação. A utilização de menores pontuações resultaria em maiores números de resgates e provavelmente, maior distinção entre os grupos (PEREIRA, 2013).

Uma das limitações do presente estudo foi o número de animais, sendo assim, sugere-se que novos estudos sejam realizados para diminuir a variabilidade inter individual.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base no presente estudo podemos concluir que não houve diferença na dor pós-operatória de gatas submetidas à OSH pela linha mediana ventral ou pelo flanco.

Gatas pré-medicadas com acepromazina, morfina e cetamina e submetidas à OSH pelo flanco necessitam de menor requerimento analgésico em 12 horas após o procedimento cirúrgico em comparação à OSH pela linha mediana ventral.

A avaliação da dor pós-operatória em gatos é difícil de ser realizada mesmo com o uso de escalas objetivas devido ao comportamento característico destes animais, mostrando que novos estudos são necessários para a avaliação de dor nesta espécie.

6. REFERÊNCIAS

ALEIXO, G. A. S., TUDURY, E. A., COELHO, M.C.O.C., ANDRADEL. S. S., BESSA, A. L. N. G. Tratamento da dor em pequenos animais: fisiopatologia e reconhecimento da dor (revisão de literatura: parte I). **Medicina Veterinária (UFRPE)**, Recife, v.10, n.1-4, p.19-24, 2016.

ALMEIDA, T.P., FISCHER. C.D B., MAIA, J.Z., PINTO, V.M., PULZ, R.S., RODRIGUES, P.R.C. Classificação dos processos dolorosos em Medicina Veterinária- Revisão de Literatura. **Veterinária em foco**, Canoas, v.3, n.2, janeiro a junho, 2006.

ARAUJO, I. C., POMPERMAYER, L. G., ANTUNES, F., PEREIRA DE SOUZA, A., LOPES, M. A. F. Efeito analgésico do butorfanol na dor somática em gatos anestesiados com propofol. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.1, p.61-66, 2001.

BALTHAZAR DA SILVEIRA, C.P., MACHADO, E. A. A., SILVA, W.M., MARINHO, T.C. M. S., FERREIRA, A.R.A., BUGER, C. P., COSTA NETO, J. M. Estudo Retrospectivo De Ovariossalpingo-Histerectomia Em Cadelas E Gatas Atendidas Em Hospital Veterinário Escola No Período De Um Ano. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária E Zootecnia**, v.65, n.2, p.335-340, 2013.

BARBOSA, M.H., CORRÊA, T.B., ARAÚJO, N.F., JESUS DA SILVA, J.A., MOREIRA, T.M., ANDRADE, E.V., BARICHELLO, E., CARDOSO, R.J., CUNHA. Dor, alterações fisiológicas e analgesia nos pacientes submetidos a cirurgias de médio porte. **Revista eletrônica de enfermagem**, v.16, n.1, p.142-150, Janeiro, 2014.

BARROS DE OLIVEIRA, C. M., SAKATA, R. K., ISSY, A. M., GARCIA, J. B.S. Cetamina e analgesia preemptiva. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, Vol. 54, Nº 5, set. / out. 2004.

BERRY, S. H. Injectable Anesthetics. In: GRIM, K. A.; LAMONT, L. A.; TRANQUILLI, W. J.; GREENE, S. A.; ROBERTSON, S. A. **Veterinary Anesthesia and Analgesia. The Fifth Edition of Lumb and Jones**. 5 ed. Ames: Wiley Blackwell, 2015. p. 277-296.

BERNARDI, C. S., CASSU, R. N., BALAN, J. A. O., COSTA, D. A., FINI, D. Analgesia pós-operatória com metadona em gatos: administração epidural e intramuscular. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.1, p.45-52, 2012.

BERNO, M. D. B., MENDES, A. R. Dor oncologia em pequenos animais- revisão de literatura. **Revista Científica de Medicina Veterinária**. Garça São Paulo. N 24. p.1-16. Janeiro, 2015.

BIANCHI, S. P. **Uso da Cetamina como analgésico em cães e gatos**. Porta Alegre, 2010. 34p. Monografia/ Graduação. Faculdade De Veterinária, Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul.

BRONDANI, J.T., LUNA, S.P.L., MINTO, B.W., SANTOS, B.P.R., BEIER, S.L., MATSUBARA, L.M., PADOVANI, C.R. Validade e reponsividade de uma escala multidimensional para avaliação de dor pós-operatória em gatos. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v.64, n.6, p.1529-1538, 2012.

CAMBRIDGE, A. J., TOBIAS, K. M., NEWBERRY, R.C., SARKAR, D. K. Subjective and objective measurement of small animals of postoperative pain in cats. **JAVMA**, Vol 217, No. 5, September 1, 2000.

CASTRO, A. G. **Dor perioperatória em animais de companhia: fisiopatologia, avaliação e controle**. Belo Horizonte, 2011. p.54. Graduação. Universidade Federal de Minas Gerais Escola de Veterinária Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação. Belo Horizonte Escola de Veterinária – UFMG.

COELHO DA SILVA, F., DELIBERATO, P. C. P. Análise das escalas de dor: revisão de literatura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.1, p.137-142, jan, 2011.

COMASSETTO, F., ROSA, L. RONCHI, S. J., FUCHS, K., REGALIN, B. D., REGALIN, D., PADILHA, V., OLESKOVICZ, N. Correlação entre as escalas analógica visual, de Glasgow, Colorado e Melbourne na avaliação de dor pós-operatória em cadelas submetidas à mastectomia total unilateral. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**. n.2, pp.355-363, 2017.

FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária: a Arte do Diagnóstico**. 3. Ed. São Paulo: Roca, p. 81-82, 2014.

FERREIRA, M. P., SCHIOCHET, F., STEDILE, R., BECK, C. A. C., ALIEVI, M. M., NÓBREGA, F. S., DAL-BÓ, I. S., TESSARI, J. P. Ovário-Salpingo-Histerectomia Videolaparoscópica Em Gatos Domésticos: Técnica Com Dois Portais, **Acta Scientiae Veterinariae**, P. 39 ,2011.

FONINI, A. VAN DE LANN. **Métodos De Esterilização Em Cadelas E Gatas**. Porto Alegre, 2010. 34p. Monografia/ Graduação. Faculdade De Veterinária, Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul.

FOSSUM, T. W. **Cirurgia de pequenos animais**. 4º edição. Rio de Janeiro – Elsevier. 2015, 132p.

GAYNOR, J.S., MUIR, W.W. **Manual de controle da dor em medicina veterinária**. São Paulo: Medvet, 2009. Cap. 2, p.13-41.

HORTA, R.S; FUKUSHIMA, F.B. S.Avaliação Da Nocicepção Em Cães E Gatos. **Enciclopédia biosfera**, v.10, n.18; p.487, julho, 2014.

KLAUMANN, P.R., WOUK, A.F.P., SILLAS, T. Patofisiologia da dor. **Archives of Veterinary Science**, v. 13, n.1, p.1-12, 2008.

LOPES, B. F., TAFFAREL, M. O., FEITOSA, M. L., COSTA, L. A. V. S., MONTEIRO, E. R., COSTAL, F. S. Radiografia quantitativa hepática de cães tranquilizados com acepromazina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.1, p.137-142, jan, 2011.

MANFRINATE, R., DAHROUG, M. A. A., DANIELA, C. F., VASCONCELOS, L. PAULO DOS SANTOS.,WAYHS, N. NAGLE DE SOUZA., MONZEM, S., CASPRIANO DA SILVA, E., GALCERAN, J. V. A., BORGONI, F., LOPES DE SOUZA, R., GUIMARÃES, L. D.Efeitos da morfina e da metadona associadas à acepromazina em gatas anestesiadascompropofol e halotano e submetidas à ovariosalpingohisterectomia. **Acta ScientiaeVeterinariae**. n.3, p. 245-251, 2009.

MARTINS, L.R., LOPES, M.D. Pseudociese canina. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.29, p.137-141, 2005.

MATA, L. B. S. C. **Anestesia por infusão contínua de propofolassociado ao remifentanil em gatos pré-tratados com acepromazina**. Viçosa, 2006. 40p. Dissertação/Pós-Graduação, Universidade Federal de Viçosa.

MINGUEZ, R. E., MARTINEZ-DARVE, J. G., CUESTA, M. M. Ovariohisterictomia De Gatas E Cadelas Pelo Flanco, **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.29, n.3/4, p.151-158, jul. /Dez. 2005.

PEKCAN, Z. KOC, B. The post-operative analgesic effects of epidurally administeredmorphine and transdermal fentanyl patch after ovariohysterectomy in dogs. **VeterinaryAnesthesia and Analgesia**, v. 37, p.557-565, 2010.

PEREIRA, D. A. **Uso da morfina, xilazina e meloxicam para o controle da dor pós-operatória em cadelas submetidas à ovariosalpingohisterectomia.** Jaboticabal, 2007. 64p. Dissertação/ Mestrado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp.

PEREIRA, V. G. **Efeito analgésico da metadona e morfina intramuscular ou epidural, associadas ou não à lidocaína, em cadelas submetidas à mastectomia.** 2013, 61p. Dissertação (Pós-Graduação) Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa.

PINTO DA CUNHA, J. M. C. C., CORTOPASSO, S. R. G., MACHADO, A. Analgesia Transoperatória Induzida Pela Morfina ou Meperidina em Gatos Submetidos a Osteossíntese. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.1, p.67-72, 2002.

PLIEGO, C.M.; FERREIRA, M.L.G.; FERREIRA, A.M.R. Leiomiossarcoma uterino em cadela. **Veterinária e Zootecnia**, v.15, n.3, dez. p.40-41, 2008.

RAUBER, D. **Controle da dor no paciente oncológico.** Porto Alegre, 2011. p.86. Monografia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul Faculdade de Veterinária. Porto Alegre – UFRG.

ROLIM, V.M.; PINTO, T.M.; LOPES, L.M.A. Disgerminoma bilateral e hiperplasia endometrial cística com piometra em cadela. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.38, p.337-340, 2010.

SCHIOCHET, F., BECK, C.A.C., SILVA, A.P.F.F. Ovário-histerectomia laparoscópica em felinos hípidos: estudo comparativo de três métodos de hemostasia. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v.61, p.369- 377, 2009.

STEFFEY, E. P.; MAMA, K. R.; BROSANAN, R. J. Inhalation Anesthetics In: GRIMM, K. A *et al.* **Veterinary Anesthesia and Analgesia: The Fifth Edictin of Lumb and Jones.** 5 ed. Ames: Wiley Blackwell, 2015. p. 297-331.

VETTORATO, E. BACCO, S. A comparison of the sedative and analgesic properties of pethidine (meperidine) and butorphanol in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 52,426-432, 2011.

PEKCAN, Z. KOC, B. The post-operative analgesic effects of epidurally administered morphine and transdermal fentanyl patch after ovariohysterectomy in dogs. **Veterinary Anesthesia and Analgesia**, v. 37, p.557-565, 2010.

COMPARAÇÃO DAS TÉCNICAS DE OVARIOSALPINGOHISTERECTOMIA PELO FLANCO E LINHA MEDIANA VENTRAL EM CADELAS NO HOSPITAL VETERINÁRIO GARDINGO LTDA

Acadêmicos: Paulo Henrique Silva e Roberta das Graças Claro
Orientador: Gustavo Pereira Gonçalves

RESUMO

A ovariosalpingohisterectomia (OSH) é um dos procedimentos cirúrgicos mais comuns praticados em pequenos animais. As técnicas mais utilizadas são a OSH por laparotomia (flanco) e por celiotomia (linha mediana). Estas técnicas cirúrgicas são aplicadas para profilaxia das afecções dos órgãos genitais, controle endocrinológico e esterilização de fêmeas. Esta pesquisa tem por objetivo comparar as técnicas de OSH praticadas no Hospital Veterinário Gardingo LTDA. Foram incluídos neste estudo uma amostragem de 06 cadelas, saudáveis, de diferentes raças e pesos submetidas a castração (OSH) eletiva no Hospital Gardingo LTDA, sendo as mesmas distribuídas ao acaso em dois grupos para cada técnica. Apesar de ambas as técnicas apresentarem diferenças entre si, as duas são eficientes.

PALAVRAS-CHAVE: cadelas; celiotomia; laparotomia.

1 INTRODUÇÃO

A ovariosalpingohisterectomia (OSH) é um dos procedimentos cirúrgicos mais comuns praticados em pequenos animais. As cirurgias de esterilização de fêmeas se mantêm como uma opção para prevenir ou cessar gestações, possuindo vários tipos de técnicas (COE *et al.*, 2013.; GAUTHIER *et al.*, 2014).

As técnicas mais utilizadas são a OSH por celiotomia (abordagem retro umbilical pela linha mediana ventral) e por laparotomia (abordagem lateral pelo flanco). Estas técnicas cirúrgicas são aplicadas para profilaxia das afecções dos órgãos genitais, controle endocrinológico e esterilização de fêmeas. Indica-se a OSH como tratamento para afecções do ovário e útero, e quando realizada precocemente, para a prevenção de tumores mamários e piometra. O momento mais propício para realizar esse procedimento é na puberdade próximo ao primeiro cio (GONÇALVES, 2007; ATAIDE *et al.*, 2010).

Esta pesquisa tem por objetivo comparar as técnicas de OSH em cadelas, praticadas no Hospital Veterinário Gardingo LTDA.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Anatomia dos músculos abdominais

A união dos quatro músculos (M) abdominais (M. oblíquo externo do abdômen, M. oblíquo interno do abdômen, M. reto do abdômen e M. transverso do abdômen), que formam a parede abdominal. Dois deles se posicionam obliquamente, um transversalmente e o outro longitudinalmente próximo a linha mediana ventral (SISSON e GROSSMAN, 2008).

O músculo oblíquo externo do abdômen localiza-se superficialmente como uma lâmina expansiva da terceira e décima segunda costela, ao longo de toda área lombar da fáscia toracolombar, na lateral dos músculos epaxiais e tendo suas fibras localizadas caudoventral. Através da aponeurose dos músculos abdominais, forma uma união fibrosa na linha mediana ventral, tendo o seu início na cartilagem xifoide até o tendão pré-púbico denominado de linha alba. O músculo oblíquo interno do abdômen localiza-se mais profundamente ao músculo oblíquo externo do abdômen, tendo suas fibras cranioventralmente, posicionando os dois músculos oblíquos em ângulo reto. Ele se origina a partir da fáscia toracolombar e da região da espinha íliaca cranial e insere ao longo do arco costal. Já o músculo transverso do abdômen localiza-se fora da fáscia transversa, sendo o mais profundo entre os quatro, tendo sua origem pelo lado medial do arco costal, cranialmente, até a cartilagem xifoide e o músculo transverso do tórax. As fibras se posicionam transversalmente e através de uma aponeurose que passa profundamente ao músculo reto do abdômen para se juntar com a linha alba. O músculo reto do abdômen se posiciona longitudinalmente e entre as bainhas aponeuróticas interna e externa (SISSON e GROSSMAN, 2008).

2.2 Anatomia dos órgãos genitais das fêmeas

Mesmo que as cirurgias sejam simples, necessitam de um conhecimento anatômico e fisiológico do órgão reprodutor, já que durante o procedimento é necessário identificar componentes anatômicos e avaliar a presença de anormalidades. O aparelho reprodutor das fêmeas é composto por: vulva, vagina, cérvix, útero, tubas uterinas, cornos uterinos e ovários (BARROS, 2010).

Os ovários são gônadas femininas em pares, situados na cavidade abdominal geralmente em relação com a parede dorsolateral da mesma. Sua forma varia conforme as espécies, assim como volume, idade e fase do seu ciclo. São comumente ovóides, apresentando sua superfície lisa ou multilobada e assimétricos (SISSON e

GROSSMAN,2008). São compostos por alguns ligamentos de tecido conjuntivo contendo músculo liso, sendo eles: ligamento mesovário, ligamento suspensório do ovário e ligamento próprio do ovário. O mesovário é uma continuação cranial do mesométrio onde se encontram vasos e nervos. O ligamento suspensório do ovário é desenvolvido nos carnívoros unindo-se à extremidade tubária do ovário aos pilares do diafragma, o ligamento próprio do ovário une a extremidade uterina do ovário à extremidade cranial do corno uterino ipsilateral, tendo revestimento externo feito pelo epitélio superficial (MACHADO, 2017).

Abaixo do epitélio superficial se encontra uma fina camada de tecido conjuntivo, chamada túnica albugínea. Nos mamíferos, os ovários são compostos por duas camadas, chamadas córtex e medula. O córtex ovárico é formado por um estroma onde se distribuem os folículos ováricos envoltos por um epitélio folicular variando de acordo com cada estágio de seu desenvolvimento (MACHADO, 2017).

O útero é composto por duas extremidades voltadas cranialmente, denominadas cornos uterinos direito e esquerdo, uma parte mediana (corpo do útero), e uma parte mais caudal (cérvis uterina). A mucosa do canal da cérvis é composta por pregas circulares, longitudinais ou relevos arredondados. Essas pregas, em junção com secreção mucosa densa, favorece o fechamento do canal da cérvis (GONÇALVES, 2007.; SISSON e GROSSMAN, 2008.; BARROS, 2010.; MACHADO, 2017).

As duas projeções craniais do útero dos mamíferos (útero bicórneo) são os cornos uterinos, tendo suas extremidades craniais dando continuidade com as tubas uterinas, apresentando duas margens, mesométrio e margem livre. O ligamento redondo do útero localiza-se longitudinalmente aos cornos uterinos, envolvido pela prega lateral do mesométrio. Este ligamento se estende aproximadamente até o anel inguinal interno (GONÇALVES, 2007.; SISSON e GROSSMAN, 2008.; BARROS, 2010.; MACHADO, 2017).

O útero contém três camadas: túnica serosa (perimétrio), tela subserosa tendo uma camada média e túnica muscular (miométrio), tendo sua formação por fibras musculares lisas, e tendo também uma camada mais interna, túnica mucosa (endométrio), onde se nota um grande número de glândulas denominadas glândulas uterinas. Nesta túnica também existem células responsáveis pela produção do hormônio luteolítico. As artérias uterinas, ramos das artérias pudendas internas e ramos uterinos das artérias ovarianas, são responsáveis pela irrigação sanguínea do

útero e a drenagem sanguínea realizada por veias homônimas, e os vasos linfáticos drenam para os linfonodos lombares (GONÇALVES, 2007.; SISSON e GROSSMAN, 2008.; BARROS, 2010.; MACHADO, 2017).

2.3 Ovariosalpingohisterectomia

A OSH é considerada um dos procedimentos cirúrgicos rotineiros mais utilizados na Medicina Veterinária, tendo como finalidade de tratamento e profilaxia de doenças do aparelho reprodutor e como método de esterilização eletiva em pequenos animais (SLATTER, 2007.; FERREIRA *et al.*, 2011). Se realizada na época adequada, é possível prevenir neoplasias mamárias e piometra, que geralmente aparecem em cadelas de meia-idade e idosas. Essas patologias caso não sejam reconhecidas precocemente podem levar o animal a óbito (DUNN, 2001).

A esterilização cirúrgica é uma opção viável para prevenção e término de gestações não desejadas, diminuindo o número de animais abandonados, principalmente quando nenhuma cria for permitida ao animal. (SLATTER, 2007.; GUTJAHR, 2013).

Segundo FONSECA, DALECK (2000) e SANTOS *et al.* (2009), o tumor mamário em cadelas é causado por influência de caráter hormonal em fêmeas já na maturidade. Com isso, a realização da OSH antes do primeiro ciclo estral reduz a ocorrência de desenvolvimento de tumores mamários a valores abaixo de 0,5%, quando realizada após o segundo ciclo estral aumenta para 8% o risco de desenvolver a patologia e sofre um aumento de 26% passando de 2 anos e 6 meses de idade.

A castração de cadelas após dois anos e meio de idade, e gatas após dois anos de idade acarreta impacto mínimo no desenvolvimento de tumores mamários (TOBIAS, 2011).

Dentre as principais complicações que a OSH pode oferecer, indiferente da técnica, destacam-se hemorragia, estro recorrente, ligadura acidental do ureter e piometra de coto uterino (ATAIDE *et al.*, 2010).

Apesar das indicações para a esterilização, existem efeitos colaterais advindos do procedimento cirúrgico. Os mais citados são: obesidade e cálculos uretrais (BARROS, 2010), alteração no pelame, incontinência urinária, inatividade, vaginites e dermatites perivulvar (STUBBS *et al.*, 1996). Existe também o risco de complicações no

procedimento cirúrgico, como exemplo hemorragias, trauma do ureter e desenvolvimento de fístulas e granulomas de colo uterino (SANTOS *et al.*, 2009).

2.3.1 OSH pela linha mediana ventral

A OSH pela linha mediana ventral é a mais utilizada na Medicina Veterinária e é considerada um procedimento tradicional (BARROS, 2010).

O acesso pela linha mediana ventral não é aconselhável em animais que possuem um desenvolvimento excessivo das glândulas mamárias, devido à lactação ou à hiperplasia das glândulas, e caso utilize essa abordagem, pode resultar complicações, dentre as quais podemos destacar hemorragia no tecido subcutâneo, inflamação ou infecção da ferida, infiltrações de leite na região onde foi realizada a incisão (GONÇALVES, 2007).

O período mais indicado para a realização da OSH é durante o anestro, ou seja, no período em que os animais não apresentam cio. Nesta fase os órgãos reprodutivos e mamários são menos vascularizados devido a influência do estrogênio (TOBIAS, 2011).

Em fêmeas menores de 3 meses de vida a realização do procedimento cirúrgico é dificultoso. Este fato ocorre devido a questão da espessura dos órgãos e do tamanho do corpo uterino serem menores. Sendo assim, existe então uma dificuldade na exposição do útero no uso da OSH pela linha mediana (MINGUÉZ *et al.*, 2005).

Na OSH pela linha mediana em cadelas faz-se uma incisão mediana pré-retroumbilical, em seguida é feita a exposição dos órgãos, para que os pedículos ovarianos direito e esquerdo sejam transfixados e seccionados. O corpo uterino é transfixado próximo a cérvix para ligar as veias e artérias uterinas. O próximo passo é a secção do corpo uterino. Sutura-se a parede abdominal em três planos, primeiro peritônio, fáscia e músculo, segundo subcutâneo com sutura tipo Cushing, terceiro a pele com sutura simples separados, utilizando fio não absorvível (BARROS, 2010).

Nessa técnica, complicação do tipo hemorrágica pode ocorrer devido à ruptura dos vasos ovarianos antes da ligadura completa (SLATTER, 2007). Outra complicação é a síndrome do ovário remanescente, ocasionada caso os ovários não sejam removidos completamente (SLATTER, 2007.; SANTOS *et al.*, 2009). Pode-se também desenvolver fístulas que se estendem do pedículo ovariano em decorrência da reação inflamatória ao fio de sutura (SLATTER, 2007).

2.3.2 OSH pelo flanco

A OSH pelo flanco é uma técnica de uso rotineiro em alguns centros cirúrgicos, porém, na medida em que vem sendo praticada, está sendo cada vez mais aceita. Esta aceitação talvez se dê pelo diferencial nos protocolos de anestesia, manejo pós-operatório do paciente e pela diferença no planejamento cirúrgico (MINGUÉZ *et al.*, 2005).

A OSH pelo flanco possui algumas vantagens com relação a OSH pela linha mediana ventral, tais como: menor risco de evisceração caso haja deiscência da sutura, monitoramento da incisão à distância, caso seja aplicada em animais agressivos. Outra vantagem é a eficiência com a qual uma OSH pode ser realizada, uma vez que um cirurgião se torna confortável com a técnica. Nessa incisão o ovário ipsilateral e a tuba uterina ficam imediatamente abaixo da incisão, o que facilita a sua localização (MINGUÉZ *et al.*, 2005.; MCGRATH e HARDIE, 2014).

Quando se castra um animal com as glândulas mamárias desenvolvidas para lactação ou hiperplasia da glândula mamária, pode-se utilizar a abordagem lateral, que pode evitar complicações associadas com a técnica pela linha mediana ventral, como hemorragia excessiva no subcutâneo, inflamação da ferida ou de infecção, e vazamento do tecido mamário. Além do mais, a cirurgia pelo flanco em animais lactantes minimiza o impacto para as glândulas mamárias, de modo que os animais são mais propensos para continuar amamentando adequadamente após a cirurgia (FONINI, 2010).

A hiperplasia mamária também denominada como fibroadenomatose hiperplásica, hipertrofia mamária ou fibroadenoma complexo, é caracterizada como um período rápido de crescimento anormal das glândulas mamárias de gatas gestantes ou apresentando cio, mas essa condição é considerada benigna. Evita-se também a dissecação próxima às glândulas mamárias para diminuição das complicações perioperatórias, causando perturbação nas glândulas. O tratamento com OSH promove a regressão da hiperplasia mamária no período de 3 a 4 semanas (HAYDEN *et al.*, 1981.; WEHREND *et al.*, 2001.; MINGUÉZ *et al.*, 2005.; MCGRATH e HARDIE, 2014).

A exposição limitada ao abdômen é uma das principais desvantagens da OSH pelo flanco, pois pelo flanco a exposição dos órgãos reprodutivos é limitada em relação

à OSH pela linha mediana ventral (MINGUÉZ *et al.*, 2005.; MCGRATH e HARDIE, 2014).

A OSH pelo flanco não é indicada para castrações com distensão uterina causada por gestação ou piometra, uma vez que não oferece uma visualização e exposição das vísceras de forma adequada e recomendada para fazer o procedimento, caso a identificação desses casos seja feita de forma inesperada, a incisão poderá ser maior que o normal, aumentando o trauma muscular, proporcionando um maior risco a hemorragias (MINGUÉZ *et al.*, 2005.; MCGRATH e HARDIE, 2014).

A obesidade também entra como desvantagem causando dificuldade no acesso ao ovário (MINGUÉZ *et al.*, 2005.; MCGRATH e HARDIE, 2014).

Cadelas com menos de 12 semanas tem o corpo uterino mais curto em relação aos animais mais velhos e animais no cio, por ter um aumento na vascularização do órgão também não se aconselha a técnica. Alguns autores não aconselham a castração pelo flanco por causa do risco de cicatrizes visíveis ou imperfeições na cor ou no crescimento dos pelos (MINGUÉZ *et al.*, 2005.; MCGRATH e HARDIE, 2014).

A incisão por esta abordagem é feita numa posição lateral, que o ovário proximal e o corno uterino se encontram imediatamente logo abaixo do acesso cirúrgico, facilitando a localização, com isso, irá reduzir boa parte do tempo adquirido na localização e também o tempo de cirurgia (BOCARD, 2008).

O animal deve ser posicionado em decúbito lateral direito e alguns médicos veterinários optam pelo flanco direito, porque o acesso fica mais fácil ao ovário direito, por ter sua posição mais cranial em relação ao esquerdo, e porque o omento recobre os órgãos do lado esquerdo (HOWE, 2006). Essa incisão deve ser realizada em sentido oblíquo-dorsoventral iniciando caudal ao ponto médio entre a última costela e a tuberosidade ilíaca. De modo geral, a incisão deverá ser aproximadamente três centímetros, tendo variações de acordo com o porte do animal, com o estágio do ciclo estral ou com a presença de outros fatores que possam interferir na cirurgia (BOCARD, 2008).

Após o ovário ser localizado, artérias e veias ovarianas são ligadas com fio de sutura absorvível 0 a 2-0, posteriormente seccionando-se o pedículo ovariano, a artéria e veia uterina, na extremidade cranial do corno uterino. Após este procedimento é realizada a sutura em massa do abdômen (SLATTER, 2007).

3 METODOLOGIA

3.1 Seleção dos animais:

A população deste estudo foi constituída por 6 cadelas de raças diversas, idade superior a 15 meses e peso menor que 10 kg, com média e desvio (TABELA 1).

TABELA 1: Média e desvio padrão da idade e peso das cadelas submetidas a OSH pela linha mediana ventral (A) e flanco (B).

GRUPOS	PESO (g)	IDADE (M)
A	6533 ± 3066	52 ± 39
B	6367 ± 1986	27 ± 13

Além disso, todos os animais passaram por avaliação laboratorial pré-operatória, padronizada pela instituição (hemograma, coagulograma, dosagens de ureia (U) e creatinina (C), de alanina Aminotransferase (ALT) e aspartato amino transferase (AST)), e apresentaram-se dentro da normalidade.

Os animais foram divididos em 4 grupos:

- A: 3 cadelas OSH pela linha mediana ventral;
- B: 3 cadelas OSH pelo flanco;

3.2 Procedimento cirúrgico

Foi estabelecido jejum hídrico e alimentar de 8 horas, para ambos os grupos. No pré-operatório, realizou-se tricotomia nas fossas paralombar direita nos grupos da técnica pelo flanco e no abdômen nos grupos da técnica pela linha mediana ventral. Foram administrados cefalotina sódica (25 mg/kg, IV) como antibiótico e Meloxicam (1 ml/ 10 kg, IV) como anti-inflamatório, 30 minutos antes da indução anestésica com a finalidade de profilaxia cirúrgica. Para medicação pré-anestésica (MPA) foram utilizados Morfina e Acepromazina com manutenção de Propofol e anestésico inalatório Isoflurano.

3.2.1 Grupos 1 e 2: OSH pela linha mediana ventral

As cadelas foram posicionadas em decúbito dorsal, e realizada uma incisão abdominal na linha mediana-ventral (FIGURA 1). Após o acesso à cavidade abdominal o corno uterino direito foi localizado e exteriorizado da cavidade com subsequente hemostasia e secção do pedículo ovariano, a mesma técnica foi realizada com o corno direito. O corpo uterino foi identificado, ligado com fio 2-0 e seccionado logo acima da cérvix. A hemostasia foi verificada e a celiorrafia plano a plano com fio de Náilon 2-

Opera a musculatura, Ácido Poliglicólico 2-0 para a tela subcutânea e Náilon 2-0 para dermorrafia. Roupa protetora foi confeccionada para proteção da ferida e mantida até a data de remoção dos pontos.



Figura 1 – Incisão no plano ventro-dorsal, na linha mediana ventral.

3.2.2 Grupos 3 e 4: OSH pelo flanco

As cadelas foram posicionadas em decúbito lateral direito (FIGURA 2), foi realizada uma incisão cutânea em sentido oblíquo com orientação ao nível da fossa paralombar direita (FIGURA3). No subcutâneo foi realizada dissecação roma e a musculatura da parede abdominal, e peritônio foram abordados e rebatidos com auxílio de pinças hemostáticas e afastadores de Farabeuf de tamanho apropriado. O ovário direito foi identificado, exteriorizado e excisado. O corno uterino foi seguido até sua bifurcação uterina para identificação do corno contralateral e do ovário esquerdo que foi exteriorizado e excisado. A hemostasia foi verificada e a laparorrafia plano a plano com fio de sutura Ácido Poliglicólico 2-0 para a musculatura em massa e tela subcutânea e Náilon 2-0 para dermorrafia. Roupa protetora foi confeccionada para proteção da ferida.



Figura 2 – Cadela em decúbito lateral direito.



Figura 3 – Incisão no Flanco.

3.3 Parâmetros avaliados durante os procedimentos cirúrgicos

Foi cronometrado o tempo de todas as etapas dos procedimentos cirúrgicos (QUADRO 1). O tempo inicial foi a partir do momento da incisão cutânea e o tempo final foi marcado com a finalização da dermorrafia.

Quadro 1: Etapas do tempo cronometrado durante as técnicas do OSH.

Etapas analisadas durante a realização do procedimento cirúrgico:
Tempo 1: o início da incisão da pele até à entrada na cavidade abdominal;
Tempo 2: intervalo desde a entrada na cavidade abdominal até à exteriorização do ovário direito;
Tempo 3: intervalo utilizado para ligar e dissecar o ovário direito até à exteriorização do ovário esquerdo;
Tempo 4: intervalo utilizado para ligar e dissecar o ovário esquerdo até à exteriorização do útero;
Tempo 5: intervalo desde a dissecação do corpo uterino até à celiorrafia;
Tempo 6: intervalo necessário para encerrar a dermorrafia.

3.4 Graus de dificuldade da técnica adotada

Foi elaborado e aplicado um questionário (ANEXO 1) ao cirurgião no término de cada procedimento cirúrgico, contendo informações relacionadas às cirurgias e sobre a dificuldade encontrada em cada procedimento.

3.6 Avaliações da ferida cirúrgica

A ferida cirúrgica foi avaliada no pós-operatório imediato quanto ao seu tamanho em centímetros e no pós-operatório tardio através de avaliação clínica utilizando régua de 10 cm.

3.7 Análise e processamento dos dados

Os dados obtidos foram organizados em folha do *Microsoft Office Excel 2013* e foram obtidas as médias das dificuldades do cirurgião, médias e desvios padrão de todos os tempos marcados e do tamanho das incisões cirúrgicas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Tempo cirúrgico

Foram calculadas as médias e desvios padrão do tempo de acesso à cavidade abdominal (ACA), ligadura do pedículo direito (LDP) e esquerdo (LPE), ligadura do

corpo do útero (LCU), rafia (R), dermorrafia (DR) e o tempo total (TT), e as técnicas de OSH pela linha mediana ventral e pelo flanco para os grupos A e B (TABELA 2).

TABELA 2: Média e desvio padrão do tempo de ACA, LDP e LPE, LCU, R e DR das cadelas submetidas a OSH pela linha mediana ventral (A) e flanco (B).

GRUPOS	ACA	LPD	LPE	LCU	R	DR	TT
A	138 ± 44	207 ± 132	255 ± 135	260 ± 102	218 ± 90	177 ± 84	1197 ± 190
B	97 ± 28	193 ± 83	333 ± 136	308 ± 32	200 ± 63	177 ± 81	1257 ± 186

Comparando os dados obtidos de média e desvio padrão nas duas abordagens da OSH observa-se que, o ACA no grupo B foi menos demorado em relação ao grupo A, provavelmente devido a uma complexidade maior para identificar a gordura subcutânea e externa, e músculos oblíquos internos e peritônio (MINGUÉZ *et al.*, 2005.; COE *et al.*, 2013).

De acordo com FONINI, (2010), o decúbito anatômico dos animais durante o procedimento cirúrgico se torna favorável ao tempo de acesso do pedículo direito, que se encontra imediatamente abaixo do acesso cirúrgico, o que possibilita ao cirurgião uma fácil localização e reduzir o tempo cirúrgico. Diante disso justifica-se a facilidade que o cirurgião teve em gastar menos tempo na LPD. De contrapartida demorou mais tempo para acessar o ovário esquerdo, uma vez que o mesmo se encontra do lado oposto à incisão.

Segundo MINGUÉZ *et al.*, (2005). COE *et al.*, (2013), para realizar a LCU gasta-se mais tempo com a incisão pelo flanco, pois ela é menos invasiva, o que dificulta tanto a sua exposição como a promoção de sua ligadura, porém isso não é problema na incisão pela linha mediana ventral, já que a incisão é bem maior e todo órgão se torna mais fácil de se visualizar.

Ao se tratar da R, os resultados obtidos no presente estudo nos revelam que a celiorrafia foi mais demorada do que a laparorrafia. COE *et al.*, (2013), nos diz que embora as incisões da linha mediana ventral tomem um tempo maior, o tempo gasto na dermorrafia foi próximo em ambas as técnicas, provavelmente porque foram utilizados padrões simples de sutura contínua.

De acordo com QUESSADA, (2009). BARROS, (2010). FONINI, (2010). GAUTHIER, (2014), relata-se que da comparação entre os dois procedimentos de OSH

o de maior duração seria a técnica com abordagem pelo flanco, que demanda maior tempo, por ser uma técnica minimamente invasiva.

4.2 Dificuldade cirúrgica

O gráfico 1 representa a média obtida a partir do questionário (ANEXO 1), que foi classificado com notas de 0 (Sem dificuldade) e 5 (Dificuldade extrema) ao cirurgião após o término de cada técnica.

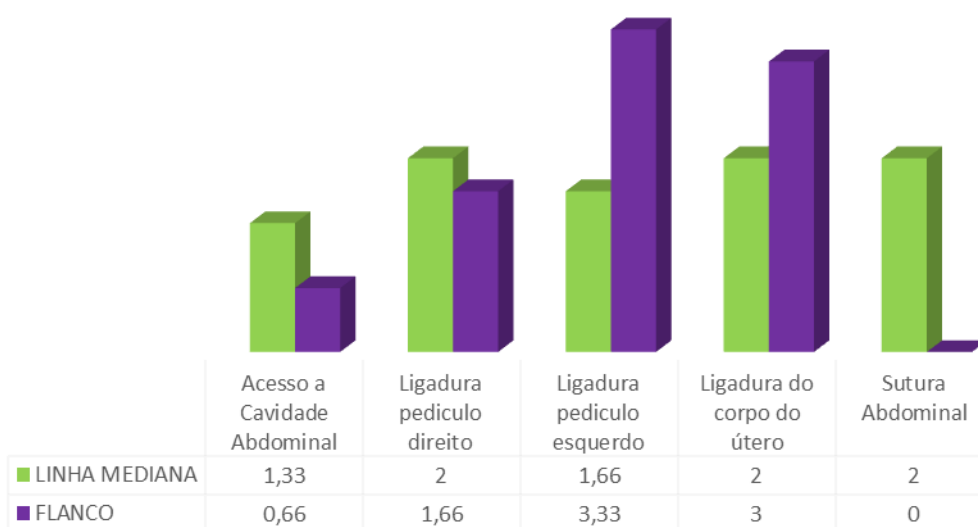


GRÁFICO 1: Média comparativa da dificuldade de 0 a 5 na execução cirúrgica em cadelas relacionada a OSH pela Linha Mediana Ventral e pelo Flanco.

De acordo com a avaliação do cirurgião, foi mais complexo acessar a cavidade abdominal e efetuar a ligadura do pedículo direito nas OSH pela linha mediana, comparado aos animais submetidos a OSH pelo flanco, isso é justificado pelo fato dessa abordagem ser realizada pelo lado direito tornando-a mais fácil, pois o acesso e exposição do ovário é localizado instantaneamente abaixo do acesso cirúrgico promovendo sua ligadura com maior facilidade (MINGUÉZ *et al.*, 2005.; FONINI, 2010.; COE *et al.*, 2013).

Em relação à ligadura do pedículo esquerdo e o corpo do útero, o cirurgião encontrou maior dificuldade nas OSH pelo flanco, devido ao posicionamento do animal, já que a incisão dessa técnica é realizada no lado oposto, além de ser pequena e proporcionar uma menor exposição e acesso a esses órgãos (MINGUÉZ *et al.*, 2005.; FONINI, 2010.; COE *et al.*, 2013).

Sobre a sutura abdominal observou-se que, o cirurgião teve uma maior dificuldade nas OSH pela linha mediana, uma vez que o tamanho da incisão é maior em relação às OSH pelo flanco (COE *et al.*, 2013).

4.3 Incisão cirúrgica

A tabela 3 descreve o tamanho em média e desvio padrão das incisões em cadelas submetidas aos procedimentos cirúrgicos de OSH pela linha mediana ventral e pelo flanco.

TABELA 3 - Registro das médias e desvios padrões entre o tamanho das incisões, em ambas as abordagens, pelo flanco e pela linha mediana, em cadelas.

ABORDAGEM CIRÚRGICA	MÉDIA em mm e DESVIO PADRÃO
LINHA MEDIANA	CADELAS 44 ± 8
FLANCO	32 ± 3

Na avaliação das incisões cirúrgicas, observou-se que na OSH pela linha mediana ventral o cirurgião fez uma incisão maior do que na OSH pelo flanco, isso justifica a preferência de alguns autores pela incisão no flanco, mencionando o risco reduzido à probabilidade de maior ocorrência de deiscência de sutura e evisceração, uma vez que, a pressão proporcionada pelas vísceras abdominais podem ser fator predisponente para isso (BARROS, 2010; FONINI, 2010.; RODRIGUES *et al.*, 2012.; COE *et al.*, 2013).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados deste estudo, podemos concluir que foram bem semelhantes aos resultados demonstrados por outros autores, principalmente ao se tratar do tempo cirúrgico, tendo como resultado a abordagem pela linha mediana com uma demanda de tempo cirúrgico menor, sugerindo que a abordagem pelo flanco é mais difícil, devido à exposição limitada da cavidade abdominal.

E diante dos resultados, concluímos que apesar das vantagens e desvantagens, e do tempo cirúrgico serem diferentes, ambas as técnicas são seguras e eficientes para cadelas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATAIDE, M. W.; BRUN, M. V., BARCELLOS; L. J. G.; BORTOLUZZI, M.; FERANTI, J. P. S.; SANTOS, F. R.; TOMAZZONI, F.; BRAMBATTI, G.; ZÍLIO, P. P.; ORO, G.; SARTORI, L. W.; MONTEIRO, A. R.; ZANELLA, R. Ovário-salpingo-histerectomia vídeo-assistida ou convencional em cadelas com o uso de Liga Sure Atlas™. **Ciência Rural**, Santa Maria – RS, v.40, n.9, p.1974-1979, 2010.

BARROS. P. M. **Técnicas de Ovariosalpingohisterectomia (OSH) em Cadelas: Revisão De Literatura– Revisão de Literatura**. Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus de Jaboticabal, Jaboticabal – SP, 2010.

BOCARD, M.; HAMZÈ, A. L. Piometra: Técnicas Cirúrgicas e Clínicas para o Tratamento. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. n. 11, 2008.

COE, R. J.; GRINT, N. J.; TIVERS, M.S.; MOORE, A. H.; HOLT, P. E. Comparison of flank and midline approaches to the ovariohysterectomy of cats. **Veterinary Records**, v. 159, n. 2, 2013

DUNN, J. K. **Tratado de Medicina de Pequenos Animais**. ed. Roca, São Paulo - SP, 2001.

FERREIRA, M. P.; SCHIOCHET, F.; STEDILE, R.; BECK, C. A. C.; ALIEVI, M. M.; NÓBREGA, F. S.; DAL-BÓ, I. S.; TESSARI, J. P. Ovário-salpingo-histerectomia vídeolaparoscópica em gatos domésticos: técnica com dois portais. **Acta Scientiae Veterinariae**, ed. ISSN, p. 997, 2011.

FONINI, A. V. D. L., **Métodos de Esterilização em Cadelas e Gatas – Revisão de Literatura**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de Medicina Veterinária, Porto Alegre – RS, 2010.

FONSECA, C. S.; DALECK, C. R. Neoplasias mamárias em cadelas: influência hormonal e efeitos da ovário-histerectomia como terapia adjuvante. **Ciência Rural**, Santa Maria - RS, v.30, n.4, p.731-35, 2000.

GAUTHIER, O.; HOLOPHERNE, D.; GENDARME, T.; CHEBROUX, A.; THORIN, C.; TAINURIER, D.; BENCHARIF, D. Assessment of Postoperative Pain in Cats after Ovariectomy by Laparoscopy, Median Celiotomy, or Flank Laparotomy. The American College of Veterinary Surgeons. **Veterinary Surgery**, p.1-8,2014.

GONÇALVES, A. C. O. **Estudo comparativo entre a laparotomia mediana ventral e lateral direita para a ovariosalpingohisterectomia em cadelas pré-púberes e adultas – Revisão de Literatura**. Universidade Federal da Bahia – Escola de Medicina Veterinária - Departamento de Patologia e Clínica. Salvador – BA, 2007.

GUTJAHR, M. **Estudo do impacto da esterilização cirúrgica no controle populacional canino por distrito administrativo no município de São Paulo, SP– Revisão de Literatura**. Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, 2013.

HAYDEN D. W.; JOHNSTON S. D.; KIANG D. T.; JOHNSON K. H.; BARNES D. M. Feline mammary hypertrophy / fibroadenoma complex: clinical and hormonal aspects. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.42, p.1699-1703, 1981.

HOWE, L. M. Surgical methods of contraception and sterilization. **Theriogenology**, Texas – EUA, v. 66, n. 3, p. 500-509, 2006.

MACHADO, G. V. **Apostila de Anatomia Veterinária II**. Matipó– MG, 2017.

MCGRATH, H.; HARDIE. R. J. Lateral Flank Approach for Ovariohysterectomy in Small Animals. **COMPENDIUM – CE**, Article 1, p. 922-931, 2014.

MINGUÉZ, R. E; MARTINEZ-DARVE, J. G.; CUESTE, M. M. Ovariohisterectomia de gatas e cadelas pelo flanco. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte – MG, v.29, n.3/4, p.151-158, 2005.

QUESSADA, A. M.; SOUZA, A. A. R.; COSTA, A. P. R.; SOUZA, A. A. S.; ROCHA, R. R. C. Comparação de técnicas de ovariosalpingohisterectomia em cadelas. **Acta Scientiae Veterinariae**, ISSN 1679-9216 ed., n. 37, p.253-258, 2009.

RODRIGUES, M. C.; COELHO, M. C. O. C.; QUESSADA, A. M.; LIMA, D. A. S. D.; SOUZA, J. M.; CARVALHO, C. C. D. Ovário-salpingo-histerectomia em cadelas: comparação entre a técnica de tração uterina por via vaginal associada à celiotomia pelo flanco e a abordagem ventral mediana. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinária**, 2012.

SANTOS, F. C. D.; CORRÊA, T. P.; RAHAL, S. C.; CRESPILO, A. M.; LOPES, M. D.; MAMPRIM, M. J. Complicações da esterilização cirúrgica de fêmeas caninas e felinas – Revisão da Literatura. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.1, p. 8-18, 2009.

SISSON, G.; GROSSMAN, R. **Anatomia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro – RJ, ed. Koogan, v.2, 5º ed., p.1428-1430, 1485-1489, 1489-1493, 2008.

SLATTER, D. **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**. Barueri– SP. 3º ed., p.165-172, 2007.

STUBBS, W. P.;BLOOMBERG, M. S.; SCRUGGS, S. L.; SHILLE V.M.; LANE T. J. Effects of prepubertalgonadectomy on physical and behavioral development in cats. **Journalofthe American Veterinary Medical Association**, v.209, p.1864-1871, 1996.

TOBIAS, K. M. **Manual de Cirurgias de Tecidos Moles em Pequenos Animais**. São Paulo – SP, ed. Roca, 2011.

WEHREND A.; HOSPES R.; GRUBER A. D. Treatment of feline mammary fibroadenomatous hyperplasia with a progesterone-antagonist. **Veterinary Record**, v.148, p.346-347, 2001.

ANEXO

ANEXO 1

GRAU DE DIFICULDADE DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO POR ETAPAS

1. Preencha no círculo abaixo, o grau de dificuldade para acesso a cavidade abdominal pela técnica escolhida.

Sem dificuldade 0 1 2 3 4 5 **Dificuldade extrema**

2. Preencha no círculo abaixo, o grau de dificuldade para exposição e ligadura do pedículo ovariano direito.

Sem dificuldade 0 1 2 3 4 5 **Dificuldade extrema**

3. Preencha no círculo abaixo, o grau de dificuldade para exposição e ligadura do pedículo ovariano esquerdo.

Sem dificuldade 0 1 2 3 4 5 **Dificuldade extrema**

4. Preencha no círculo abaixo, o grau de dificuldade para exposição e ligadura do corpo uterino.

Sem dificuldade 0 1 2 3 4 5 **Dificuldade extrema**

5. Preencha o círculo abaixo, o número que melhor descreve o grau de dificuldade para realização da sutura da parede abdominal.

Sem dificuldade 0 1 2 3 4 5 **Dificuldade extrema**

CONDUTA ANESTÉSICA EM CÃO SUBMETIDO À ADRENALECTOMIA UNILATERAL- RELATO DE CASO

Acadêmicos: Amanda Carvalho Procópio Schittini

Orientadora: Vanessa Guedes Pereira

RESUMO

O hiperadrenocortismo é uma das endocrinopatias mais comum nos cães, trazendo manifestações clínicas em diversos órgãos e tecidos, sendo a adrenalectomia o tratamento mais indicado para esses casos. O objetivo deste trabalho é relatar o caso de um cão submetido à adrenalectomia unilateral, evidenciando a conduta anestésica pré, trans e pós-anestésica. Foi atendido no Hospital Veterinário Gardingo, uma cadela de 13 anos, apresentando poliúria, polidipsia, anorexia, obesidade, *Diabetes mellitus* e alterações dermatológicas, neutrofilia e hiperproteinemia, sendo observado na ultrassonografia abdominal o aumento da adrenal esquerda sugestivo de hiperplasia ou neoplasia adrenal. O animal foi encaminhado para a adrenalectomia unilateral, sendo pré-medicado com infusão contínua de fentanil, a indução anestésica com propofol e a manutenção com o isoflurano, sendo mantida a ventilação mecânica e instituído a terapia para a prevenção de tromboembolismo. Apesar dos cuidados também no período pós-operatório, o animal veio à óbito 48 horas após a cirurgia. O exame histopatológico resultou em hiperplasia cortical reticular e carcinoma cortical da glândula adrenal, compatível com a suspeita clínica. A conduta anestésica no período perioperatório em casos de adrenalectomia é de extrema importância devido à grande incidência de complicações anestésicas. Portanto, o conhecimento das alterações fisiológicas que ocorrem no hiperadrenocorticismo e em decorrência do procedimento cirúrgico, requer uma adequada preparação do animal, protocolo anestésico, bem como, a antecipação de problemas a fim de minimizar a morbidade e mortalidade destes pacientes.

PALAVRAS-CHAVE: Hiperadrenocorticismo, glândula adrenal, protocolo anestésico, perioperatório.

1. INTRODUÇÃO

O hiperadrenocorticismo (HAC) ou síndrome de *Cushing* é uma das endocrinopatias mais comuns no cão, e se refere a altas concentrações de glicocorticoides no organismo (OLIVEIRA, 2004). O HAC pode ser espontâneo, que resulta do excesso de secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) nos casos de hiperadrenocorticismo hipófise-dependente, ou do excesso de secreção de cortisol nos casos de hiperadrenocorticismo adrenaldependente. Pode ser ainda hiperadrenocorticismo iatrogênico que resulta da administração excessiva de corticoides (HERRTAGE, 2011).

Geralmente o HAC acomete cães de seis anos de idade ou mais, tendo como manifestações clínicas mais comuns a poliúria, polidipsia, polifagia, dispneia, aumento de volume abdominal, alopecia endócrina, hiperpigmentação cutânea, pelagem fina, infecções cutâneas, respiração ofegante, fraqueza muscular e letargia (NELSON e COUTO, 2015). Estes sintomas são resultados da combinação de efeitos gliconeogênicos, lipolíticos, do catabolismo proteico, anti-inflamatórios e imunossupressivos dos hormônios glicocorticoides sobre os diversos sistemas do organismo (FELDMAN *et al.*, 2004).

O HAC não tratado pode trazer diversas outras alterações aos pacientes, como a *Diabetes Mellitus*, hepatopatias, infecções, alterações cardíacas e musculoesqueléticas, aumento do catabolismo e dermatopatias (REIS, 2009). A adrenalectomia é o tratamento indicado em casos tumores na adrenal ou em animais irresponsivos ao tratamento clínico (FOSSUM & CAPLAN, 2014; WISE & BOVERI, 2016). As complicações anestésicas são comuns durante a adrenalectomia, no entanto, há poucos relatos sobre a conduta anestésica nestes casos. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é relatar o caso de um cão submetido à adrenalectomia unilateral, evidenciando a conduta anestésica pré, trans e pós-anestésica.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. HIPERADRENOCORTICISMO EM CÃES

As glândulas adrenais são responsáveis pela produção de diversos hormônios, são divididas em córtex que produzem mineralocorticoides e glicocorticoides além de produzir esteroides androgênicos e medula que produz adrenalina e noradrenalina (CUNNINGHAM, 2008). O hiperadrenocorticism (HAC) ou Síndrome de *Cushing* é uma das endocrinopatias mais comum em cães e está associada com a produção ou administração excessiva de glicocorticoides (OLIVEIRA, 2004). Etiologicamente, o HAC pode ser de origem hipofisária ou hipófise-dependente, neoplasia adrenocortical ou adrenal-dependente e ainda iatrogênica (NELSON & COUTO, 2015)

O HAC dependente da hipófise (HDH) é a causa mais comum de HAC espontâneo e representa 80 a 85% dos casos. É decorrente de um tumor na glândula hipófise que estimula a secreção exacerbada de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) é encontrado à necropsia em aproximadamente 85% dos cães com HDH (PETERSON, 1998; NELSON & COUTO, 2015). A inibição normal por *feedback* da secreção de

ACTH por níveis fisiológicos de cortisol não ocorre. Além dos efeitos sistêmicos do excesso de glicocorticoides, eles inibem outras funções hipofisárias e hipotalâmicas, resultando em hipotireoidismo secundário reversível (por inibição da secreção do tiotropina), anestro nas fêmeas ou atrofia testicular nos machos (por inibição do FSH - hormônio folículo estimulante e LH - hormônio luteinizante) e baixa estatura em cães em crescimento (inibição do GH-hormônio do crescimento) (NELSON & COUTO, 2001).

Os tumores adrenocorticais (ATH) que provocam o HAC são responsáveis pelos demais 15 a 20% de cães HAC espontâneo. O carcinoma e o adenoma adrenocortical aparecem em igual frequência e não há características clínicas ou bioquímicas que ajudem a diferenciar esse tipo de tumor (NELSON & COUTO, 2015). O tumor produz cortisol em excesso, que suprime a secreção de corticotrofina (CRH) e ACTH, provocando atrofia da adrenal não comprometida (OLIVEIRA, 2004).

O hiperadrenocorticismo iatrogênico geralmente é resultante da administração excessiva de glicocorticoides, geralmente usados no controle de doenças alérgicas ou imunomediadas. Também pode se desenvolver devido a administração de medicamentos tópicos (incluindo colírios, soluções otológicas). A administração crônica de glicocorticoides em excesso inibe o CRH e o ACTH, provocando atrofia adrenocortical bilateral. Nestes animais, os resultados do teste de estimulação com ACTH são considerados com o hipoadrenocorticismo espontâneo, apesar dos sinais clínicos de hiperadrenocorticismo (GONZÁLEZ, 2003; NELSON & COUTO, 2015)

2.1.2. ASPECTOS CLÍNICOS

Os sinais clínicos são similares em todas as formas de HAC, com raras exceções, sendo independente da localização da anormalidade primária. Um grande tumor na hipófise pode causar sinais neurológicos como estupor ou desorientação, ou um grande tumor de adrenal pode causar um aumento abdominal do lado acometido. O HAC acomete geralmente cães de meia-idade a idosos. As raças mais predispostas são os Poodles, Dachshunds, Yorkshire Terrier, Pastor Alemão, Beagle, Labrador e Boxer. Machos e fêmeas são acometidos na mesma proporção. O HDH é mais comum em cães menores (75% tem menos de 20 kg) enquanto que o tumor adrenal é mais comum em cães com mais de 20 kg (OLIVEIRA, 2004)

A maioria dos cães com síndrome de *Cushing* apresenta sinais que progridem lentamente e não são alarmantes para o proprietário, que os confunde com sinais de envelhecimento, até que se tornem graves. Os sinais são as sequelas dos efeitos combinados gliconeogênicos, imunossupressores, anti-inflamatórios, catabólicos proteicos e lipolíticos dos glicocorticoides em vários sistemas orgânicos. Os sinais clínicos e achados físicos mais comuns incluem poliúria, polidipsia, polifagia, aumento de volume abdominal e obesidade, hepatomegalia, alopecia simétrica bilateral poupando a cabeça e extremidades distais, hiperpigmentação cutânea, pelagem fina, infecções cutâneas, respiração ofegante, fraqueza muscular, letargia e em machos atrofia testicular (GONZÁLEZ, 2003).

2.1.3. TROMBOEMBOLISMO PULMONAR

Devido ao excesso prolongado de cortisol, diversas complicações podem ocorrer. Dentre elas, o tromboembolismo pulmonar (TEP), que ocorre geralmente em cães submetidos à adrenalectomia por apresentarem ATH. Os fatores que predispõem ao desenvolvimento de TEP em cães com HAC incluem inibição da fibrinólise, hipertensão sistêmica, glomerulopatia com perda proteica, menores concentrações séricas de antitrombina III, aumento das concentrações de diversos fatores de coagulação e aumento do hematócrito (FOSSUM & CAPLAN, 2014).

As manifestações clínicas de TEP incluem o desconforto respiratório agudo, ortopneia e, menos comumente, pulso jugular. Exames complementares como a radiografia de tórax podem revelar ausência de anormalidade ou mostrar hipoperfusão, infiltrados alveolares ou efusão pleural. A confirmação da trombose pode ser através da angiografia ou exame de escaneamento radionuclear dos pulmões. A terapia consiste em cuidados intensivos, administração de oxigênio, anticoagulantes e tempo. O prognóstico é de reservado a grave, caso houver recuperação dos cães, são necessários cinco a sete dias antes que possam ser retirados do suporte de oxigênio (FOSSUM & CAPLAN, 2014)

2.1.4. ALTERAÇÕES LABORATORIAIS

Nos exames laboratoriais, o hemograma pode relevar um leucograma de estresse e uma eritrocitose leve, já a produção elevada de cortisol ocasiona neutrofilia e monocitose devido à desmarginação dessas células ao nível dos capilares sanguíneos e também pela prevenção da saída normal das células do sistema vascular. A linfopenia pode ser decorrente da linfólise causada pelo esteroide, enquanto que a eosinopenia é ocasionada pelo sequestro dos eosinófilos na medula óssea. No exame da urina pode-se observar isostenúria ou hipostenúria (DE <1.015), proteinúria, piúria, bacteriúria e glicosúria quando apresentam diabetes mellitus concomitante. Entre as alterações mais comuns encontrada no perfil bioquímico, destaca-se o aumento da fosfatase alcalina, porém outros distúrbios como *Diabetes mellitus*, hepatopatias primárias, pancreatite, insuficiência cardíaca congestiva e neoplasias também podem produzir aumentos desta enzima. A atividade sérica de fosfatase alcalina, composta primariamente da isoenzima induzida por esteroides, pode estar elevada em até 85% dos cães acometidos por HAC (GONZÁLEZ, 2013).

2.1.5. TESTE DE SUPRESSÃO COM DOSE BAIXA DE DEXAMETASONA

O teste de supressão com baixa dose de dexametasona é um exame confiável para diferenciação de cães normais dos cães com HAC. A especificidade e sensibilidade do teste são aproximadamente 80% e 90%, respectivamente. Em caso de resultados normais ou inconclusivos para os cães com suspeita de HAC, devem ser realizados outros exames do eixo hipofisário-adrenocortical, de modo que da mesma maneira, em caso de resultados anormais no teste do teste de supressão com dose baixa de dexametasona não confirmam o diagnóstico de HAC. Os resultados do teste de supressão com dose baixa de dexametasona podem ser influenciados pela administração concomitante de medicamentos anticonvulsivantes, glicocorticoides exógenos, estresse, agitação e doença não adrenal. Cães normais apresentam valores séricos de cortisol inferiores a 1,0ug/dl, geralmente menores que 0,5ug/dl. Concentrações de cortisol entre 1,0 a 1,4ug/dl são inconclusivas. Cães com HDH e ATH normalmente apresentam concentrações séricas de cortisol maiores que 1,4ug/dl oito horas após a administração de dexametasona, o que indica a presença de hiperadrenocorticismo (NELSON E COUTO, 2015).

2.1.6. TRATAMENTO

Para o tratamento clínico do HAC, é utilizado atualmente o Mitotano que provoca necrose seletiva das zonas do córtex da adrenal, mas outros fármacos de escolha incluem o cetoconazol, L-Dprenil e o Trilostane que apresentam ótimos resultados (ROSA *et al*, 2011).

Outro meio de tratamento é a intervenção cirúrgica que é bastante eficaz para o sucesso da recuperação do animal. A técnica cirúrgica é a adrenalectomia da glândula acometida (NELSON & COUTO, 2001). A adrenalectomia é o procedimento mais indicado para neoplasias adrenais unilaterais não responsivas ao tratamento clínico relacionadas à hipercortisolismo em cães (FOSSUM & CAPLAN, 2014; WISE & BOVERI, 2016).

2.2. ANESTESIA PARA ADRENALECTOMIA

Embora a adrenalectomia seja o tratamento ideal nos casos de tumores adrenais em cães (LANG *et al.*, 2011), complicações durante o procedimento anestésico e a cirurgia são comuns, podendo levar o animal à óbito (WISE, 2016).

O protocolo anestésico ideal para o procedimento de adrenalectomia deve-se manter a homeostase apesar das alterações fisiológicas, e manter a analgesia e o relaxamento muscular. A manipulação da glândula adrenal pode levar a um aumento das catecolaminas e manifestações cardiovasculares subsequentes do tipo de tumor adrenal presente (LANG *et al.*, 2011). Em pacientes suspeitos de ter um feocromocitoma devido episódios hipertensivos documentados, no período pré-operatório deve ser feita a estabilização com fenoxibenzamina para diminuir a mortalidade peri-operatória (KYLES *et al.*, 2003; HERRERA *et al.*, 2008; MASSARI *et al.*, 2011). A fenoxibenzamina, é um antagonista α -adrenérgico, atua ligando irreversivelmente aos receptores adrenérgicos α_1 e α_2 para bloquear a resposta às catecolaminas circulantes (HERRERA *et al.*, 2008). O tratamento pré-operatório deve ser realizado por pelo menos duas semanas, porém alguns autores relatam períodos de tempo entre 7 e 120 dias (HERRERA *et al.*, 2008).

Os animais com HAC possuem risco maior de tromboembolia pulmonar no período pós-operatório por isso, segundo Fossum & Caplan (2014), a heparina na dose de 75 a 100 UI/Kg pode ser utilizada no pré-operatório e por até 3 ou 4 dias no período pós-operatório em pacientes com tumor adrenocortical para prevenir a tromboembolia.

Com relação ao protocolo anestésico, fármacos que liberam histaminas, como morfina e meperidina devem ser evitados (FOSSUM & CAPLAN, 2014). A medicação pré-anestésica (MPA) com um agonista mu puro, tal como a metadona (KYLES *et al.*, MASSARI *et al.*, 2011), promove a analgesia preventiva, sedação e redução da concentração alveolar mínima (CAM). Os benzodiazepínicos causam depressão, entretanto em cães adultos a sedação pode não ser confiável e disforia podem ocorrer (WISE, 2016). A sedação com acepromazina pode proporcionar benefícios aos pacientes hipertensos devido ao bloqueio adrenérgico α -1 que ele produz, porém a duração prolongada e irreversível pode impedir o tratamento da hipotensão durante a anestesia (WISE, 2016). A medetomidina é um simpatolítico de profundo efeito da ativação central de α 2-adrenoreceptor, que pode parcialmente ocorrer contra o efeito o aumento das catecolaminas.

O uso de propofol já foi relatado em adrenalectomia em cães, sendo um fármaco amplamente utilizado para indução e manutenção anestésica, promovendo rápida indução, depressão respiratória dose-dependente, sendo seu principal efeito cardiovascular a hipotensão (BERRY, 2015). Já anestésicos dissociativos como cetamina devem ser evitados, pois aumentam a frequência cardíaca, a pressão arterial sanguínea e os níveis circulantes de catecolaminas. O isoflurano e o sevoflurano são anestésicos inalatórios de escolha na adrenalectomia, pois não sensibilizam o miocárdio às arritmias induzidas pela epinefrina (FOSSUM & CAPLAN, 2014).

3. RELATO DE CASO

Foi atendido no Hospital Escola Gardingo em Matipó-MG, um canino, pinscher, fêmea, de aproximadamente 13 anos, pesando 4,250kg, apresentando poliúria, polidipsia, anorexia, obesidade, *Diabetes mellitus* e alterações dermatológicas que incluíam alopecia bilateral simétrica, hiperqueratose, hiperpigmentação, lesões crostosas, ulcerativas e piodermite secundária difusa (Figura 1).



FIGURA 1: A: Vista lateral das lesões dermatológicas evidenciando alopecia simétrica e hiperpigmentação. B: Vista dorsal: alopecia, hiperpigmentação, lesões crostosas e ulcerativas. (Fonte: Hospital Escola Gardingo)

Foi realizado hemograma que evidenciou neutrofilia e hiperproteinemia. Na ultrassonografia abdominal foi observado aumento da adrenal esquerda, medindo 2,15 x 1,23 cm sugestivo de hiperplasia ou neoplasia adrenal (FIGURA 2) No teste de baixa dose com dexametasona através do método de eletroquimioluminescência, o cortisol basal foi de 4,9 mcg/dL e após 4 horas foi de 1,470mcg/dL, sendo sugestivo de hiperadrenocorticismo primário. Diante do quadro clínico do animal, este foi encaminhado para um procedimento cirúrgico de adrenalectomia unilateral, sendo seu risco anestésico classificado de acordo com a *American Society of Anesthesiologists* (ASA) 4.



FIGURA 2: Ultrassonografia abdominal demonstrando a adrenal esquerda medindo 2,15 x 1,23 cm. (Fonte: Hospital Escola Gardingo).

Durante a avaliação pré-anestésica o animal apresentou frequência cardíaca de 138 batimentos por minuto (bpm), frequência respiratória de 60 mpm, temperatura corporal de 39.1°C, pressão arterial sistólica (PAS) de 151 mmHg, pressão arterial média (PAM) de 125 mmHg, pressão arterial diastólica (PAD) de 103 mmHg.

O paciente foi cateterizado e pré-medicado com infusão contínua de fentanil (0,03mcg/kg/min). Com o intuito de reduzir os riscos de tromboembolia pulmonar foi administrado no pré-operatório heparina (35UI/kg). Para a indução anestésica foi utilizado o propofol (6mg/kg), posteriormente o animal foi intubado e mantido com isoflurano sob ventilação mecânica para manutenção da normocapnia. Durante a monitoração anestésica foi avaliado eletrocardiograma (ECG), oximetria de pulso (SpO₂), pressão arterial pelo método oscilométrico, capnografia, e temperatura esofágica. Durante o transoperatório o animal apresentou arritmia cardíaca sendo então realizado *bolus* de lidocaína 2% sem vasoconstritor (1mg/kg) IV, sendo essa anormalidade corrigida. O animal apresentou durante todo o procedimento anestésico normalidade da pressão arterial sistólica, no entanto apresentou hipotermia mesmo com o uso do colchão térmico para a manutenção da temperatura.

Durante o pós-operatório o animal foi mantido sob cuidados intensivos com monitoração dos parâmetros vitais e analgesia por infusão contínua de fentanil. Apesar de todos os cuidados o animal veio a óbito, 48 horas depois o procedimento cirúrgico. O exame histopatológico da adrenal esquerda foi realizado e teve como resultado hiperplasia cortical reticular e carcinoma cortical da glândula adrenal.

4. RESULTADOS e DISCUSSÕES

O animal do presente relato apresentou ao exame clínico sinais compatíveis com HAC. No exame ultrassonográfico foi observado aumento da adrenal esquerda, medindo 2,5X1,23 cm e segundo Fossum e Caplan (2014) deve medir menos que 7,4mm em cães, sendo sugestivo de hiperplasia ou neoplasia, o que foi confirmado no exame histopatológico.

Embora a adrenalectomia seja o tratamento mais indicado em casos de tumores na adrenal em cães, as complicações anestésicas durante o procedimento cirúrgico são comuns e podem levar o animal à óbito. Deve ser feita a preparação anestésica, seleção de protocolos e gerenciamento de possíveis complicações que podem ocorrer durante o procedimento cirúrgico (WISE e BOVERI, 2016).

Os exames pré-anestésicos recomendados para pacientes encaminhados para adrenalectomia incluem hemograma completo, testes endócrinos, perfil bioquímico, urinálise e avaliação cardiológica (Fischer) conforme foi realizado neste animal.

Um tumor na adrenal pode promover sinais clínicos evidentes do HAC, como poliúria, polidipsia, polifagia, dispneia, aumento do volume abdominal, fraqueza muscular (NELSON e COUTO, 2015) e alterações fisiológicas que resultam em importantes complicações anestésicas para a adrenalectomia como hipo ou hipertensão, taquicardia, arritmias e hemorragias (WISE e BOVERI, 2016), complicações que foram relatadas por Lang (2011) com incidência de 35 a 100%. Destas complicações, o animal deste caso apresentou taquicardia, arritmia e hipertensão no período pré-operatório e baseado nestas alterações fisiológicas, o risco anestésico foi classificado em ASA 4. A taxa de mortalidade perioperatória de adrenalectomias é de 6%, estando acima da taxa de mortalidade de cães classificados como ASA 3 à 5 que é de 1,33% (WISE e BOVERI, 2016). Por este motivo, o monitoramento anestésico adequado é fundamental e como o utilizado no animal, deve incluir ritmo cardíaco, pressão arterial, concentração dióxido de carbono ao final da expiração (ETCO₂) e oximetria de pulso (FOSSUM e CAPLAN, 2014).

É recomendada a reposição de fluido antes da indução anestésica, pois o cortisol promove vasoconstrição, que pode ocasionar diminuição do retorno venoso e hipotensão durante a anestesia. Além disso, a administração de cristaloides diminui o hematócrito reduzindo o risco de tromboembolismo, melhorando a perfusão tecidual e renal (FISCHER, 2015), conforme realizado no presente paciente, onde não foi observada desidratação, sendo instituída a fluidoterapia intravenosa na taxa de manutenção de 10ml/kg/h. A terapia com glicocorticoides antes da adrenalectomia também não é indicada, pois pode piorar a hipertensão, provocar hidratação excessiva e aumentar o risco de episódios tromboembólicos (NELSON e COUTO, 2015).

A complicação mais preocupante da adrenalectomia é a tromboembolia pulmonar, que geralmente ocorre durante o procedimento cirúrgico ou nas primeiras 24 horas após, tendo alta taxa de mortalidade dos pacientes, sendo sugerida a administração do plasma heparinizado durante a cirurgia, com intuito de diminuir o risco de tromboembolia. Os cães devem fazer caminhadas curtas nas primeiras horas após a cirurgia para favorecer o fluxo sanguíneo e minimizar a formação de coágulos, sendo assim, medicamentos anestésicos e analgésicos devem ser administrados em

doses que permita ao cão andar nas primeiras quatro horas após o procedimento (NELSON e COUTO, 2015)

O protocolo anestésico ideal para a adrenalectomia deve manter a homeostase apesar das alterações fisiológicas pré-existentes. A manipulação cirúrgica da adrenal pode levar aumento das catecolaminas e manifestações cardiovasculares subsequentes do tipo de tumor adrenal presente, o protocolo anestésico também deve fornecer analgesia e relaxamento muscular (WISE e BOVERI, 2016).

Os opioides são medicamentos efetivos para o tratamento da dor na medicina veterinária, são drogas que possuem relativa segurança, uma vez que poucos interferem na fisiologia do sistema cardiovascular, tendo como efeitos adversos graus na respiração do animal, ocasionando uma depressão respiratória dose-dependente, êmese, liberação histamínica, constipação e retenção urinária (PARCHEN, 2009; PEREIRA, 2013; LAMONT e MATHEWS, 2014). Com relação a protocolo anestésico fármacos como morfina e meperidina devem ser evitados, na adrenalectomia (FOSSUM e CAPLAN, 2014), pois esses quando administrados rapidamente pela via intravenosa, podem causar liberação de histaminas e conseqüentemente, vasodilatação e hipotensão (FANTONI, 2012). Por este motivo, com o objetivo de promover o controle da dor, foi utilizada a infusão contínua de fentanil na taxa de 0,03 g/Kg/min, por ser um opioide seguro, que não promove liberação de histamina, proporcionando um bom controle da dor no período pré, trans e pós-anestésico, além de proporcionar a diminuição da concentração alveolar mínima (CAM) do isoflurano (BELMONTE, 2008).

O uso de propofol já foi relatado em estudos de adrenalectomia em cães, sendo um fármaco amplamente utilizado para indução e manutenção anestésica, promovendo rápida indução, depressão respiratória dose-dependente, sendo seu principal efeito cardiovascular a hipotensão (BERRY, 2015). O propofol pode ser associado a um benzodiazepínico como o midazolam, com o intuito de reduzir a dose do propofol em pacientes debilitados e com baixa reserva cardiovascular. (WISE e BOVERI, 2016), contudo não foi feita uma associação de fármacos nesse caso, pois a infusão contínua com fentanil foi iniciada 20 minutos antes da indução anestésica. O etomidato é um indutor anestésico que mantém os parâmetros cardiovasculares e inibe a enzima 11 β -hidroxilase necessária para a produção de cortisol, causando supressão adrenocortical em 5 horas, com duração de até 11 horas (DABBAGH *et al.*, 2009; FLESERIU e

PETERSSSEN, 2012). Entretanto, para promover a diminuição dos níveis séricos de cortisol, este fármaco deve ser administrado em bólus seguido de infusão contínua, o que pode promover hemólise intravascular (FAVARATO, 2009). Já a cetamina deve ser evitada, pois aumenta a frequência cardíaca, a pressão sanguínea arterial e os níveis circulantes de catecolaminas (FOSSUM e CAPLAN, 2014).

Os anestésicos inalatórios são amplamente utilizados para a manutenção anestésica de animais, pois promovem rápido ajuste do plano anestésico diminuindo a morbidade e mortalidade anestésica (STEFFEY *et al.*, 2015). Estes fármacos são administrados por via respiratória nas fases de indução e manutenção da anestesia geral, tem como principais características a hipnose, analgesia, amnésia, euforia, excitação e hiperreflexia em baixas doses, já com concentrações mais altas, promovem sedação profunda, relaxamento muscular e redução das respostas motoras e autonômicas ao estímulo nocivo (MOLIN, 2005). No presente trabalho, o isoflurano foi utilizado para a manutenção anestésica, corroborando com Fossum e Caplan (2014) que relatam que o isoflurano e o sevoflurano são anestésicos inalatórios de escolha na adrenalectomia, pois não sensibilizam o miocárdio às arritmias induzidas pela epinefrina e conseqüentemente, o halotano deve ser evitado.

Tendo em vista que a elevação de dióxido de carbono (CO_2) arterial provoca aumento na liberação de catecolaminas, a monitoração de CO_2 alveolar, através da pressão parcial de CO_2 ao final da expiração (ETCO_2), e conseqüente prevenção de hipoventilação diminuem a possibilidade de uma resposta de catecolaminas adicional (FOSSUM e CAPLAN, 2014), justificando a utilização de ventilação mecânica para a manutenção da normocapnia.

As arritmias ventriculares são sinais significantes de complicações induzida pela anestesia, em animais que apresentam normalidade dos parâmetros basais, sendo causadas por doença intrínseca do miocárdio ou fatores arritmogênicos liberados de vários órgãos abdominais debilitados. As arritmias ventriculares se tornam um problema para o paciente no momento em que interferem no débito cardíaco, na pressão arterial e na perfusão tecidual ou quando essas arritmias venham se transformar em fibrilação ventricular (HASKINS, 2013). A lidocaína é o antiarrítmico de eleição porque ele afeta seletivamente as células anormais sem afetar a condução das células normais (HASKINS, 2013), podendo ser administrada na dose de 1-3 mg/kg IV

(FOSSUM e CAPLAN, 2014; VIGANI, 2015), como foi utilizado durante o procedimento anestésico, na dose de 1mg/kg IV.

Os animais com HAC apresentam maior risco de desenvolverem infecções pós-operatórias devido aos elevados níveis circulantes de glicocorticoides, assim o uso de antibióticos perioperatórios devem ser administrados e continuados no pós-operatório imediato (FOSSUM e CAPLAN, 2014). Entretanto os anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) devem ser evitados, pois podem favorecer ulcerações gastrointestinais em pacientes com excesso de glicocorticoides (WISE e BOVERI, 2016). Além disso, estes pacientes também possuem risco maior de tromboembolia pulmonar no período pós-operatório. Segundo Fossum e Caplan (2014), a heparina na dose de 75 a 100 U/Kg subcutâneo, a cada 8-12 horas e pode ser utilizada no pré-operatório e por até 3 ou 4 dias no período pós-operatório em pacientes com tumor adrenocortical para prevenir a tromboembolia, corroborando com a conduta do presente caso.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A conduta anestésica no período perioperatório em casos de adrenalectomia em cães é de extrema importância vista a grande incidência de complicações anestésicas que colocam a vida do animal em risco. Portanto, o conhecimento das alterações fisiológicas que ocorrem no hiperadrenocorticismismo e em decorrência do procedimento cirúrgico, requer uma adequada preparação do animal, protocolo anestésico, bem como, a antecipação de problemas a fim de minimizar a morbidade e mortalidade destes pacientes.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELMONTE E. A. **Infusão contínua de morfina ou fentanil, associados à lidocaína e cetamina, em cães anestesiados com isofluorano.** 2008, 96p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Jaboticabal.

BERRY, S. H. Inhalation Anesthetics. In: GRIMM, K. A *et al.* **Veterinary Anesthesia and Analgesia: The Fifth Edition of Lumb and Jones.** 5 ed. Ames: Wiley Blackwell, 2015. 277- 296.

CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de Fisiologia Veterinária.** Ed. Elsevier, 2008

DABBAGH, A.; SAADAT, N.; HEIDARI, Z. **Etomidate Infusion in the Critical Care Setting for Suppressing the Acute Phase of Cushing's Syndrome.** International Anesthesia Research Society. 108:238 –9, 2009

FISCHER, B. L. **Endocrine disease**. In: SNYDER, L. B. C.; JOHNSON, R. A. **Canine and Feline Anesthesia and Co-Existing Disease**. 1 ed. Ames: Wiley Blackwell, 2015. p. 151-174.

FANTONI, D. **Tratamento da dor na clínica de pequenos animais**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012

FAVARATO, L. S. C. **Anestesia por Infusão Contínua de Etomidato e Etomidato Associado ao Remifentanil em gatas premedicadas com acepromazina**. Viçosa, 2009. 71p. Tese. Doutorado em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, MG.

FELDMAN, E.C. Hiperadrenocorticismo. In: ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária**. 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. V.2, cap.154, p.1539-1568

FOSSUM, T.W.; CAPLAN, E.R. Cirurgia do Sistema Endócrino. In: FOSSUM, T.W. **Cirurgia de pequenos animais**. 4. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. 633-684.

FLESERIU, M.; PETERSENN, S. **Medical management of Cushing's disease: what is the future?**. Pituitary (2012) 15:330–341

GRIMM, K. A.; TRANQUILLI, W. J.; THURMON, J.C. **Veterinary Anesthesia and Analgesia: The Fifth Edition of Lumb and Jones**. 5 ed. Ames: Wiley Blackwell, 2015.

GONZÁLEZ, F.D., SILVA, S.C. **Bioquímica hormonal**. In: Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003.

HASKINS, Sandee. Monitoração de pacientes anestesiados. In: GRIMM, K. A *et al.* **Anestesiologia e analgesia veterinária: Lumb e Jones**. 4 ed. Roca, São Paulo, 2013. 582-611

HERRERA, M.A., MEHL, M.L., KASS, P.H., PASCOE, P.J., FELDMAN, E.C. AND NELSON, R.W. Predictive factors and the effect of phenoxybenzamine on outcome in dogs undergoing adrenalectomy for pheochromocytoma. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 22 (6), 1333-1339. 2008

HERRTAGE, M. E. **Diagnosing canine hyperadrenocorticism**. Proceedings of the 36th world small animal veterinary congress. WSAVA – Jeju, Korea. 2011.

KYLES, A.E., FELDMAN, E.C., DE COCK, H.E., KASS, P.H., MATHEWS, K.G., HARDIE, E.M., NELSON, R.W., ILKIW, J.E. AND GREGORY, C.R. Surgical management of adrenal gland tumors with and without associated tumor thrombi in dogs: 40 cases (1994-2001). **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 223(5), 654-662. 2003

LAMONT, Leigh.; MATHEWS, Karol. Opioides, Anti-inflamatórios não Esteroidais e Analgésicos Adjuvantes. In: GRIMM, K. A *et al.* **Anestesiologia e analgesia veterinária: Lumb e Jones**. 4 ed. Roca, São Paulo, 2013. 270-304

LANG, J.M., SCHERTEL, E., KENNEDY, S., WILSON, D., BARNHART, M. and DANIELSON, B. Elective and emergency surgical management of adrenal gland tumors: 60 cases (1999-2006). **Anim. Hosp. Assoc.** 47(6), 428-435, 2011.

MASSARI, F., NICOLI, S., ROMANELLI, G., BURACCO, P. AND ZINI, E. Adrenalectomy in dogs with adrenal gland tumors: 52 cases (2002-2008). **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 239(2), 216-221. 2011

MOLIN, S. **Anestésicos inalatórios e seu efeito sobre o dano de isquemia e reperfusão: Comparação entre isoflurano e sevoflurano em modelo experimental em fígado de ratos.** 2015, 74p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de Medicina, UFRS, Porto Alegre.

NELSON, R. W.; COUTO, C.G. Doenças da Adrenal. **Medicina interna de pequenos animais.** 5ª. ed. Rio de Janeiro: ed. Elsevier, 2015.

NELSON, R. W.; COUTO, C.G. Hiperadrenocorticismo em cães. **Medicina Interna de pequenos animais.** Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, 2001

OLIVEIRA, S.T. **Transtornos dos hormônios adrenais em cães.** In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA, 2004. Rio Grande do Sul

PARCHEN, H. **Uso prático de opioides para analgesia de cães e gatos.** In: CRMV-PR, 2009.

PEREIRA, V. G. **Efeito analgésico da metadona e morfina intramuscular ou epidural, associadas ou não à lidocaína, em cadelas submetidas à mastectomia.** 2013, 61p. Dissertação (Pós-Graduação) Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa.

PETERSON, M.E. Distúrbios endócrinos e metabólicos. In: BIRCHARD, S.S., SHERDING, R.G. **Clínica de pequenos animais.** São Paulo: ed. Roca, 1998.

REIS, B. **Aspectos clínicos da Síndrome de Cushing em cães:** Revisão de literatura. Recife-PE, 2009. F. 39. Monografia, Especialização em clinica medica de pequenos animias – Universidade Federal Rural do Semi-Arido (UFERSA).

ROSA, V. M.; CARNIATO, C. H.O.; CAVALARO, G.C. **Hiperadrenocorticismo em cães.** In: VII EPCC – Encontro internacional de produção científica, 2011. Maringá, PR.

STEFFEY, E. P.; MAMA, K. R.; BROSNAN, R. J. Inhalation Anesthetics In: GRIMM, K. A *et al.* **Veterinary Anesthesia and Analgesia: The Fifth Edictin of Lumb and Jones.** 5 ed. Ames: Wiley Blackwell, 2015. p. 297-331.

VARGAS, A.M. Hiperadrenocorticismo em Cães. **Cães e gatos,** ed. 126, p. 50-55, 2009.

VIGANI, A. Cardiac Output Measurement. In: GRIMM, K. A *et al.* **Veterinary Anesthesia and Analgesia: The Fifth Edictin of Lumb and Jones.** 5 ed. Ames: Wiley Blackwell, 2015. 473-482.

WISE, I. K.; BOVERI, S. Anaesthetic management of a unilateral adrenalectomy of an adrenocortical tumour in a dog. **Open Veterinary Journal**, vol 6, p. 62-67, 2016.

DETECÇÃO DE LINFONODOS SENTINELAS EM CADELA COM NEOPLASIA MAMÁRIA, COM A UTILIZAÇÃO DO CORANTE AZUL PATENTE – RELATO DE CASO.

Acadêmicos: Pedro Henrique Dutra de Freitas e Paulo Sérgio Rodrigues Junior

Orientador: Gustavo Pereira Gonçalves

RESUMO

O tumor de mama é a neoplasia mais comum em cadelas - no Brasil estima-se que a incidência de neoplasias malignas seja de 68,4%; com isso crescendo em importância na clínica veterinária. A condição dos linfonodos é um importante fator prognóstico, sendo a sobrevivência inferior a dois anos na grande maioria das cadelas com metástases linfonodais. Não há protocolos bem estabelecidos para o estadiamento e tratamento das metástases linfonodais em cadelas. O objetivo deste trabalho é relatar a utilização do corante Azul Patente na detecção dos Linfonodos Sentinela axilar direito e inguinal esquerdo em uma cadela com massas tumorais suspeitas nas glândulas mamárias; assim elucidar a taxa de detecção dos Linfonodos Sentinela, bem como sua capacidade em prever metástases. No presente estudo, a taxa de detecção dos Linfonodos Sentinela com a utilização do corante Azul patente foi de 100%, e biópsia dos tumores revelaram carcinoma em tumor misto de grau I, e biópsia dos linfonodos não revelaram metástases. Assim o prognóstico do animal é favorável por não apresentar metástases linfonodais, mas podendo haver recidivas dos tumores.

PALAVRAS-CHAVE: Linfonodo-Sentinela; Azul-patente; Neoplasia mamária; Carcinoma em tumor misto; cadela.

1. INTRODUÇÃO

As neoplasias mamárias em cadelas vêm ganhando grande importância devido ao aumento dos casos na clínica médica de animais de companhia (FONSECA e DALECK, 2000). É a neoplasia mais comum em cães, correspondendo a 50% dos casos, acometendo cadelas adultas e idosas. O desenvolvimento das neoplasias mamárias em grande parte é dependente dos hormônios sexuais femininos, principalmente o estrogênio. Devido ao grande uso de medicamentos à base desses hormônios sexuais para inibição de cio, há o aumento da incidência de casos (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

A mastectomia é o tratamento mais recomendado para neoplasias mamárias em cadelas. Consiste na remoção de uma massa das mamas ou parte dela, com boa margem cirúrgica de tecido saudável em torno do tumor, junto à cadeia linfática regional (FOSSUM, 2015).

O sistema linfático possui grande papel, tanto no controle local tumoral como no mecanismo de transporte celular, fator esse, associado à presença de metástases

neoplásicas. Com isso, o estudo do Linfonodo sentinela em cadelas portadoras de neoplasias mamárias é cada vez mais utilizado na rotina veterinária (SOUZA *et al.*, 2013). A coloração do Linfonodo sentinela axilar e inguinal, utilizando o corante azul patente, permite a localização do sítio de drenagem, orientando ao cirurgião a determinação da margem de segurança para a retirada da cadeia linfática (PINHEIRO *et al.*, 2003).

Com isso, objetiva-se com este trabalho relatar a utilização do corante Azul Patente para identificação da cadeia linfática, juntamente com sua retirada.

A importância de pesquisas sobre o assunto é proporcionar maior conhecimento específico da drenagem linfática tumoral e seu estadiamento, oferecendo opções de maior segurança para o tratamento das regiões axilares e inguinais acometidas, através de técnicas viáveis economicamente e menor morbidade pós-operatória.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Anatomia da glândula mamária canina

As cadelas possuem de quatro a cinco pares de glândulas mamárias; são elas as torácicas craniais, torácicas caudais, abdominais craniais, abdominais caudais e inguinais (ZUCCARI *et al.*, 2001).

As glândulas são formadas por lóbulos que são separados por septos conjuntivos e não há comunicação entre as glândulas mamárias através da linha mediana. São irrigadas pelas artérias epigástricas superficiais, vasos ilíacos segmentares e circunflexos, artérias perineais e perivulvares, e artérias torácicas internas (RISATI *et al.*, 2014).

Os linfonodos axilares são responsáveis pela drenagem das glândulas mamárias torácicas craniais e caudais e estão situados na face medial da porção distal do músculo redondo maior; seu tamanho varia de 0,5 a 5 cm. Já os linfonodos inguinais drenam as glândulas mamárias abdominais caudais e inguinais e estão situados 3 cm cranialmente ao osso púbico, na face dorsolateral das glândulas mamárias; seu tamanho varia de 0,5 a 2 cm (FOSSUM, 2015). Geralmente há dois linfonodos inguinais localizados, mas podem chegar a quatro (EL KHATIB *et al.*, 2011). Apenas as glândulas mamárias abdominais craniais, possuem variações em relação à sua drenagem, podendo ser drenadas por um ou dois sistemas linfáticos,

axilar e inguinal respectivamente, e não se sabe os fatores predisponentes para tais tipos de drenagem (PINHEIRO *et al.*, 2003).

O conhecimento sobre a drenagem linfática mamária e identificação do linfonodo sentinela, são de grande importância na avaliação de possíveis disseminações de células neoplásicas dos tumores mamários (EL KHATIB *et al.*, 2011).

2.2. Neoplasias mamárias em cadelas

A oncologia é uma das áreas que vêm se desenvolvendo muito nos últimos anos na medicina veterinária. Neoplasia é um termo associado a uma mutação genética que tem como característica das células de qualquer organismo, a sua proliferação desordenada e persistente, assim alterando seu mecanismo normal de controle (RISATI *et al.*, 2014).

A neoplasia mais frequente em cadelas é a mamária, no entanto existem poucos dados epidemiológicos confiáveis. Estima-se que no Brasil a incidência de neoplasias mamárias malignas seja de 68,4% (DE NARDI *et al.*, 2002).

A probabilidade de cadelas desenvolverem neoplasias mamárias aumenta com a idade do animal, manifestando-se com mais frequência em cadelas de 9 a 11 anos de idade (RISATI *et al.*, 2014). Além disso, cadelas não castradas apresentam maior incidência de tumores mamários, quando comparadas às castradas. Este fato ocorre devido a produção de hormônios sexuais pelos ovários, que predispõem à formação de neoplasias mamárias hormônio dependentes. Dentre às raças mais acometidas podem se citar exemplos como: Poodle, Cocker Spaniel, Boston Terrier, Fox Terrier, Teckel, Labrador e Pointer (RIVERA e VON EULER, 2011).

Muitos trabalhos voltados à padronização de métodos diagnósticos, comportamento tumoral, compreensão genética e suas correlações com a biologia se encontram em andamento. A presença de metástase nos linfonodos diminui de forma considerável o prognóstico e sobrevida do animal, na maioria dos casos para menos de dois anos. Desta forma tem-se a necessidade de conhecer a rota de drenagem linfática do tumor mamário, orientando o tratamento e eventualmente na cirurgia conservadora (DE NARDI *et al.*, 2002).

O tratamento padrão para neoplasias mamárias em cadelas consiste em várias técnicas de mastectomia, juntamente com a retirada da cadeia linfática

consecutivamente. A quimioterapia pode ser utilizada em alguns casos, mas sua disponibilidade é pequena na maioria dos serviços. Já a radioterapia possui rara utilização por existir necessidade de estabelecimento de protocolos testados em animais (EL KHATIB *et al.*, 2011).

As técnicas de mastectomia como tratamento cirúrgico, podem ser regionais ou radicais, ficando a critério do cirurgião e quantidades de glândulas mamárias acometidas. Na técnica de retirada da glândula mamária inguinal é retirada a cadeia linfática inguinal, devido a sua proximidade e chances de disseminação tumoral. Já a cadeia linfática axilar não é abordada cirurgicamente na rotina, mesmo havendo uma grande possibilidade de disseminação tumoral (RIVERA, 2011).

2.3. Detecção do Linfonodo sentinela

Desde os meados do século XVIII, a drenagem linfática vem sendo usada para planejamento terapêutico do tumor de mama, descrevendo sua progressão linfática. A primeira perspectiva de cura para o tumor de mama foi com utilização da técnica de mastectomia com ressecção dos músculos peitorais, associado a linfadenectomia axilar, com ressecção em monobloco, sendo desenvolvida por Halsted no século XIX, que posteriormente foi ampliada para outros tumores malignos (PINHEIRO *et al.*, 2003).

Em 1977, Cabanas propôs o termo Linfonodo sentinela, estudando em humanos, com o objetivo de encontrar uma maneira de definir com precisão a necessidade do esvaziamento linfonodal em carcinoma de pênis, através de linfangiograma, assim denominando Linfonodo sentinela o primeiro linfonodo que fazia a drenagem deste tumor.

O sistema linfático pode transportar células malignas para os linfonodos, onde proliferam e invadem linfonodos vizinhos. O primeiro linfonodo da cadeia linfática que recebe a drenagem de determinada região, e que corresponde ao primeiro local de implantação tumoral é chamado de Linfonodo sentinela. Portanto, o estudo histopatológico e retirado do linfonodo, pode prever a presença e prevenção de metástases linfáticas (ZENDEL *et al.*, 2013).

Na medicina veterinária o método para identificação do Linfonodo sentinela em neoplasias é cada vez mais utilizado. Vários são os métodos utilizados para a

detecção do Linfonodo sentinela, como a linfocintigrafia, o uso de corantes vitais ou a combinação das duas técnicas (PINHEIRO *et al.*,2003).

A linfocintigrafia é um método que consiste na utilização de solução coloidal marcada com Tc-99m, de 2 a 24 horas antes da cirurgia, com a utilização de um aparelho denominado gama-probe, realizada de 2 a 6 horas após a injeção de solução radioisotópica na mama, para identificação do Linfonodo Sentinela, ou em outras drenagens regionais (HEGG e PRADO, 2004).A vantagem do emprego desta técnica é por apresentar maior sensibilidade que o uso de corantes vitais, indicando o número e localização de Linfonodos Sentinelas, e possibilitando incisões cirúrgicas menores e até únicas pelo cirurgião, guiadas pelo gama-probe. Como desvantagens apresenta o alto custo, necessidade de equipe técnica especializada e, sobretudo, a não disponibilidade do equipamento (CAMPANI e FRASSON, 2005).

Na técnica através da utilização de corantes vitais, é usado o Azul patente V sódico, a 2,5% e o Isossulfan, que são injetados antes do procedimento cirúrgico. O tempo é fator importante para esta técnica, uma vez que se ultrapassados mais de dez minutos da injeção, o corante poderá marcar vários linfonodos, não sendo possível a identificação do Linfonodo sentinela (HEGG e PRADO, 2004). As vantagens de utilização deste método é o fato de apresentar altos índices de localização, a simplicidade da técnica, baixo custo e detecção da localização dos linfonodos. As desvantagens é que não se pode fazer a detecção pré-operatória, e o animal pode apresentar reações adversas ao corante, como choque anafilático e urticárias, mesmo sendo raro (MENKE *et al.*, 2007).

2.4. Azul Patente

Segundo Melo e colaboradores (2006), dentre os corantes vitais, o mais utilizado no Brasil é o Azul patente, devido a facilidade de obtenção, baixo preço e grande eficiência. O Azul patente é um corante que corresponde quimicamente ao sal sódico bis (DIETILAMINO-4-FENIL)(HIDROXI-S-DISSULFO-2,4-FENIL) Metanol Anidrido, pertencente à família do Thifenilmetano. É uma solução aquosa estéril e tamponada a concentração de 2,5% através de fosfato monossódico, tornando-se isotônica com a adição de cloreto de sódio.

A injeção subcutânea demarca em poucos minutos vasos linfáticos, a intravenosa difunde em todos os tecidos e mucosas, já a intra-arterial demarca

seletivamente os tecidos correspondentes ao território da artéria e permite delimitar a área de vascularização. Todas as vias de administração difundem uma coloração azulada nos tecidos e sua eliminação é feita pela bile e urina, que se coram facilmente. Isso em um período de 24 a 48 horas após a aplicação (MELO *et al.*, 2010). A administração do corante deve ser feita 10 minutos antes da cirurgia, para que o sítio de drenagem regional e Linfonodo sentinela sejam corados (MENKE *et al.*, 2007).

2.5. Biopsias do Linfonodo sentinela

Atualmente o principal fator preditivo de recidiva e metástase são através do estudo histopatológico do Linfonodo Sentinela, podendo assim predizer a presença de metástases (QUADROS *et al.*, 2007).

A biópsia do Linfonodo Sentinela é considerada um avanço importante na cirurgia de neoplasias mamárias, pois seleciona pacientes com micrometástases linfonodais, os quais devem ser submetidos à linfadenectomia completa (PEREIRA *et al.*, 2008). Se não houver comprometimento tumoral nos Linfonodos Sentinelas no exame histopatológico, as probabilidades de haverem nos linfonodos restantes são mínimas, e quando há comprometimento, pode ser um bom marcador de doença mais avançada (PAZ *et al.*, 2001).

2.6. Estadiamento TNM

O estadiamento dos tumores de mamas em cadelas é realizado de acordo com a classificação TNM, proposta pelo World Health OMS, levando em consideração o tamanho do tumor, locais de aderência à pele ou à musculatura subjacente, a presença de linfonodos acometidos, e a presença de metástases a distância (QUADRO 1). A combinação entre esses fatores, origina o estadiamento clínico que varia de I a IV (QUADRO 2). Para a classificação histopatológica das lesões mamárias ainda não há um consenso (CASSALI *et al.*, 2017).

Quadro 1 - Classificação TNM do tumor mamário em cadelas

Tumor (T)	T0 Sem evidência de tumor primário
	T1 Tumor <3 cm a: não aderido b: aderido à pele c: aderido ao músculo
	T2 Tumor entre 3 e 5 cm a: não aderido b: aderido à pele c: aderido ao músculo
	T3 Tumor >5cm a: não aderido b: aderido à pele c: aderido ao músculo
Linfonodos regionais (N)	T4 Carcinoma inflamatório de qualquer tamanho;
	N0 Sem metástase linfonodal inguinal ou axilar
	N1 Linfonodo ipsilateral envolvido a: não aderido b: aderido
Metástases (M)	N2 Linfonodos bilaterais envolvidos a: não aderido b: aderido
	M0 Sem metástase à distância
	M1 Metástase à distância, incluindo linfonodos distantes.

Fonte: Adaptado de Cassali *et al.*, (2017).

Quadro 2 - Estadiamento clínico do tumor mamário em cadelas

	T	N	M
Estádio I	T1 a, b ou c	N0, N1a ou N2a	M0
Estádio II	T0	N1	M0
	T1 a, b ou c	N1	
Estádio III	T2 a, b ou c	N0 ou N1a	
	Todo T3	Qualquer N	M0
Estádio IV	Qualquer T	Todo N b	
	Todo T	Todo N	M1

Fonte: Adaptado de Cassali *et al.*, (2017).

3 . RELATO DE CASO

Foi atendida no Hospital Veterinário Gardingo- LTDA, uma cadela da raça Poodle, com idade de 11 anos, pesando 5,5 kg, com quadro de nodulações

mamárias de aumento progressivo. Ao se detectarem lesões mamárias suspeitas durante o atendimento da rotina, procedeu-se ao exame físico, que incluiu exame mamário, axilar e inguinal, sendo identificadas nas glândulas mamárias torácicas cranial e caudal direitas, três massas tumorais, de consistência firme e aderidas apenas à pele, já na glândula inguinal esquerda foi identificada a presença de uma massa tumoral de 5 cm, de consistência firme aderida apenas à pele.

Foram solicitados os seguintes exames complementares: radiografia de tórax em incidências látero-lateral e ventro-dorsal, para avaliação de comorbidades e para estadiamento da neoplasia mamária. A partir dos resultados não foram detectadas evidências de metástases pulmonares (FIGURA 1 A E B), e a avaliação do hemograma e do perfil bioquímico renal e hepático não apresentaram alterações.

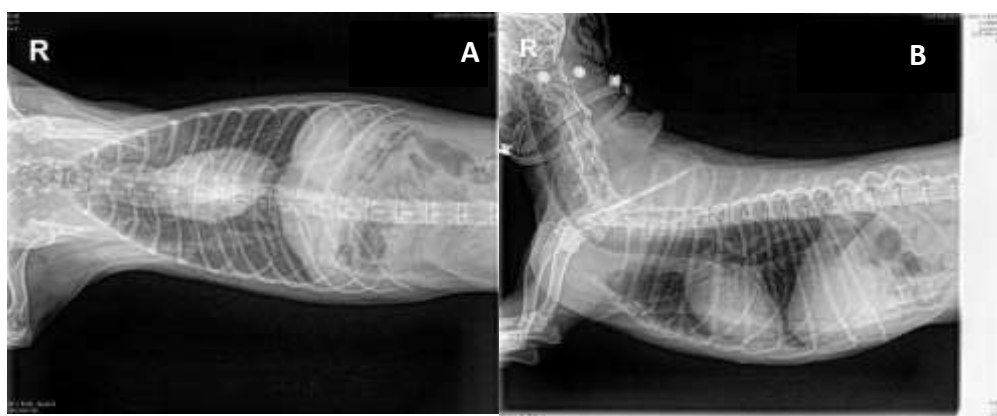


Figura 1. Radiografia do tórax em incidências A. ventro-dorsal; B. látero-lateral.

Não foi realizada biópsia prévia à cirurgia, pois as lesões eram clinicamente suspeitas de neoplasias e a mastectomia havia sido indicada como tratamento. Dessa forma, foi agendada a cirurgia após o consentimento do proprietário para a utilização do caso com fins experimentais.

No procedimento do preparo pré-operatório foi realizada tricotomia e o acesso venoso na sala de preparo. Na sala cirúrgica, foi realizada monitorização eletrocardiográfica, pressão arterial não invasiva e saturação de oxigênio. O protocolo anestésico foi baseado em: administração pré-anestésica de morfina 0,5 mg/kg subcutânea, indução anestésica com propofol 6 mg/kg intravenosa, intubação orotraqueal, bloqueio epidural com lidocaína 0,2 ml/kg associada a morfina 0,1 mg/kg, e manutenção anestésica com isoflurano via inalatória. Foi administrado Cefalotina 20 mg/kg como antibiótico profilático. O animal foi posicionado em

decúbito dorsal. A antissepsia foi realizada com solução de polivinilpirrolidona iodo (PVPI) na pele previamente tricotomizada. Logo após a colocação dos campos estéreis, foi realizada a castração do animal, pela técnica de Ovariosalpingohisterectomia (OSH), em seguida foi injetada a solução de azul patente a 2,5%, por via intradérmica, seguindo o protocolo proposto por Valadares (2014), utilizando a dose de 0,5 ml. A solução de azul patente foi injetada cranial e caudal nas regiões peritumorais, em cada massa tumoral, como mostra a Figura 2.



Figura 2. Administração intradérmica peritumoral, do corante azul patente, para demarcação do sítio de drenagem linfática da glândula mamária inguinal esquerda.

Após 10 minutos, foi observada a coloração dos sítios de drenagem linfática correspondente à cadeia da glândula mamária afetada pelo tumor (FIGURA 3).



Figura 3. Disseminação do corante Azul Patente nas glândulas mamárias torácicas cranial e caudal direitas, evidenciado na pele.

Procedeu-se à mastectomia regional das glândulas torácicas craniais e caudais direitas e glândulas abdominais caudais e inguinais esquerdas, conforme o julgamento do cirurgião, segundo técnicas descritas por Fossum *et al.*, (2015). Foram abordadas as regiões dos linfonodos axilares direitos e inguinais esquerdos, detectando com eficiência os Linfonodos Sentinelas, com a cor azulada, pelo Azul Patente (FIGURA 4).



Figura 4. Identificação do Linfonodo sentinela axilar direito, corado com Azul Patente.

Após a detecção, foi realizada a linfadenectomia completa dos respectivos linfonodos abordados, e foram coletadas amostras dos tumores e linfonodos para exames histopatológicos, e estes revelaram Carcinoma em tumor misto de grau I nas amostras dos tumores e não detectaram metástases linfonodais nas amostras dos linfonodos. Seu prognóstico é favorável por não haver metástases, mas há chances de recidivas do tumor na mama.

Após a cirurgia, animal foi encaminhado para sala de internação, onde sua recuperação foi monitorada, recebendo alta no dia seguinte.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O animal apresentava nodulações multifocais mamárias, nas glândulas torácicas craniais e caudais direitas e glândula inguinal esquerda. É maior a incidência de tumores mamários nas glândulas inguinais, devido à possível maior abundância de receptores hormonais nessa região e à grande quantidade de parênquima mamário em relação às outras glândulas mamárias. Os tumores mamários multifocais correspondem a 50% dos casos, devido à demora dos

proprietários em levar seus animais para o atendimento veterinário, proporcionando o desenvolvimento de neoplasias multifocais (CAMPOS *et al.*, 2011; RIBAS *et al.*, 2012).

Exames radiológicos não apresentaram evidências de metástases pulmonares (FIGURA 3). O pulmão é o local de maior ocorrência de metástases em cães, sendo mais frequentes que as neoplasias mamárias pulmonares primárias (RIBAS *et al.*, 2012).

Durante o procedimento, 10 minutos após a administração intradérmica do corante Azul Patente na região peritumoral nas glândulas mamárias, observou-se a coloração dos vasos linfáticos pela pele. Obteve 100% de eficiência na detecção do linfonodo sentinela axilar direito, responsável pela drenagem das glândulas mamárias torácicas craniais e caudal direitas, e linfonodo sentinela inguinal esquerdo, responsável pela drenagem da glândula mamária inguinal esquerda, evidenciados durante a mastectomia (FIGURA 4). De acordo com El Khatib (2011), a utilização do corante Azul Patente possui alta taxa de detecção dos Linfonodos Sentinelas, axilares e inguinais, em média de 94%. Assim reforçando o uso do Azul Patente como marcador linfático em procedimentos cirúrgicos, auxiliando a retirada dos Linfonodos Sentinelas com margem de tecido saudável.

O animal não apresentou reações de hipersensibilidade durante e após os procedimentos. Shinzato *et al.*, (2006) relataram a ocorrência rara em cadelas de reações alérgicas como urticária e choque anafilático.

O diagnóstico foi feito através do exame histopatológico do tumor, constatando Carcinoma em tumor misto de grau I. De acordo com a nova classificação da OMS, segundo Benjamin *et al.*, (1999), são denominados Carcinomas ou sarcomas as lesões que possuem apenas um componente maligno em tumor misto. A neoplasia apresentava proliferação neoplásica pouca delimitante e multifocal, originada primeiramente em túbulos mamários, formando padrão tubular. Porém, há áreas extensas de metaplasia cartilaginosa e mixomatosa de estroma. De acordo com Ribeiro (2010), os tumores mistos da mama da cadela correspondem à proliferação de células morfológicamente similares a elementos epiteliais (luminais ou mioepiteliais) e células mesenquimais que podem produzir cartilagem, tecido ósseo e tecido adiposo, em combinação com tecido fibroso.

As amostras das biópsias dos linfonodos revelaram não existir metástases linfonodais axilares e inguinais e nem metástases à distância.

Através do exame físico, observações durante o procedimento e resultados histopatológicos foram feito o estadiamento clínico dos tumores mamários, sendo classificados como Estádio II. O tumor localizado na glândula mamária torácica cranial e os tumores localizados na glândula torácica caudal direita possuíam 3 cm (T2), aderidos à pele (b), e não apresentavam metástases linfonodais (N0) e ausência de metástases a distância (M0). O tumor localizado na glândula mamária inguinal esquerda possuía 5 cm (T2), aderido à pele (b), não apresentava metástase linfonodal inguinal (N0) e ausência de metástases a distância (M0). O prognóstico das neoplasias mamárias em cadelas depende do tipo histológico do tumor, o tamanho, sendo mais desfavorável o prognóstico quando o tumor é maior que 3cm, a presença de linfonodos regionais envolvidos e evidência histológica tumoral nos linfonodos (RISATI *et al.*, 2014). Devido ao tipo de tumor e idade do animal, há à chance de recidiva dos tumores mamários. O prognóstico é favorável por não apresentar metástases linfonodais e nem a distância, como foi citado por Campaniet *al.*, (2005).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste relato de caso, a utilização da técnica de detecção do Linfonodo sentinela através do corante Azul Patente mostrou ser eficiente e viável em procedimentos com cadelas acometidas por neoplasias mamárias, devido a sua alta capacidade de detecção, fácil execução e valor acessível.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENJAMIN, L. E., GOLIJANIN, D., ITIN, A., PODE, D., KESHET, E.; Selective ablation of immature blood vessels in established human tumors follows vascular endothelial growth factor withdrawal. **Journal of Clinical Investigation**, 103(2), 1999.

CABANAS, R. M.; An approach for the treatment of penile carcinoma. **Cancer**, 39(2), 456-466. 1977

CAMPANI, J., FRASSON, A. L.; Avaliação da morbidade do membro superior homolateral à cirurgia após biópsia do Linfonodo sentinela versus dissecação axilar em pacientes com câncer de mama. **Rev. Bras. Mastologia**, v. 15, n. 4, p. 157-161,

2005. CAMPOS, C. B., DOS SANTOS, H. R., COBUCCI, G. C., BOTELHO, F. P. R., LAVALLE, G. E., CASSALI, G. D.; Abordagem cirúrgica das neoplasias mamárias em pequenos animais: perfil do paciente, comportamento e epidemiologia tumoral. **Veterinária e Zootecnia**, v. 18, n. 2, p. 7-13, 2011.
- CASSALI, G. D., LAVALLE, G. E., DE NARDI, A. B., FERREIRA, E., BERTAGNOLLI, A. C., ESTRELA-LIMA, A., SOBRAL, R. A.; Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumors. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 4, n. 2, p. 153-180, 2017.
- DE NARDI, A. B., RODASKI, S., SOUSA, R. S., COSTA, T. A., MACEDO, T. R., RODIGHIERI, S. M. PIEKARZ, C. H.; Prevalência de neoplasias e modalidades de tratamentos em cães, atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, 7(2). 2002.
- EL KHATIB, E. M., DE ALMEIDA PIRES, P. F. T., REPETTI, C. S. F., FRANCO, R. P., HATAKA, A.; Uso do azul de metileno na identificação do Linfonodo sentinela em cadelas com neoplasias mamárias. **Veterinária e Zootecnia**, 18(2), 60-66, 2011.
- FONSECA C. S. DALECK C. R.; Neoplasias mamárias em cadelas: influência hormonal e efeitos da ovario-histerectomia. **Ciência Rural**, 30(4). 2000
- FOSSUM, T. W.; **Cirurgia de Pequenos Animais**. 4. Ed. São Paulo: ELSEVIER, 2015.
- RIBEIRO, G. M.; **Carcinoma em tumor misto da mama da cadela: avaliação de aspectos morfológicos e perfil imunofenotípico**. Dissertação de Mestrado, UFMG 2010.
- HEGG, R., PRADO, L. C. B.; Aspectos atuais do Linfonodo sentinela no carcinoma mamário. **Prática Hospitalar**, São Paulo, 4(36), 137-142, 2004.
- MELO, A.F.B.; FREITAS J. R., PAULINELLI, R. R., RAHAL, R.M. S., LUCATO, M. T., MOREIRA, M.M.R.; VILELA, M.H.T.; Estudo prospectivo randomizado comparando o azul patente e o azul de metileno na identificação do linfonodo sentinela em pacientes com câncer de mama. In: **CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UFG, Goiânia. Anais eletrônicos do XIV Seminário de Iniciação Científica**, 2006.
- MELO, J. R. D. M. T., PINHEIRO, L. G. P.; Linfonodo sentinela: importância na cirurgia do câncer gástrico e perspectiva da aplicação de um modelo experimental em caninos. **ABCD Arq. Bras. Cir. Diag.** 23(3), 192-195, 2010.
- MENKE, C. H., XAVIER, N. L., BIAZUS, J. V., CAVALHEIRO, J. A., CERICATTO, R., BITTELBRUNN, A. C., SCHUH, F.; Linfonodo sentinela em câncer de mama: 14 anos depois. **Prática Hospitalar**, 9, 15-19, 2007.
- OLIVEIRA, L. O. D., OLIVEIRA, R. T. D., LORETTI, A. P., RODRIGUES, R.,

DRIEMEIER, D.; Aspectos epidemiológicos da neoplasia mamária canina. **Acta Scientiae Veterinariae**. Porto Alegre, RS. Vol. 31, 2003.

PAZ, W. A., PAIM, S. D. P., MELLO, G. L., RANGEL, K. K., CHRISTO, R. C., KOMSTSUZAKI, F.; Linfadenectomia axilar: análise retrospectiva de 470 casos de câncer de mama em diferentes estádios clínicos. **Rev. Bras. mastologia**, 11(2), 57-65. 2001.

PEREIRA, R. J., DE OLIVEIRA FILHO, R. S., ZULIANI, C. R., DE SOUZA, R. V., VIDEIRA, M. M. S., ENOKIHARA, S., PINHEIRO, L. G. P.; Solução de carvão ativado e corante vital para a biópsia de Linfonodo sentinela em ratos. **Einstein (São Paulo)**, 6(4), 463-466. 2008.

PINHEIRO, L. G. P., MORAES, M. O. D., SOARES, A. H., LOPES, A. J. T., NAGUÉRE, M. A. S. P., GONDIM, F. A. D. L., SILVA, J. M. D. M.; Estudo Experimental de Linfonodo sentinela na mama da cadela com azul patente e tecnécio Tc99. **Acta Cir Bras**, 2013.

QUADROS, L. G. D. A., GEBRIM, L. H.; The sentinel lymph node biopsy in breast cancer in the practice of the Brazilian gynecologist: a revision. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, 29(3), 158-164. 2007

RIBAS, C. R., DORNBUSCH, P. T., DE FARIA, M. R., DE FIGUEIREDO WOUK, A. F. P., CIRIO, S. M.; Alterações clínicas relevantes em cadelas com neoplasias mamárias estadiadas. **Archives of Veterinary Science**, 17(1), 60-68. 2012.

RIVERA, P., VON EULER, H.; Molecular biological aspects on canine and human mammary tumors. **Veterinary Pathology**, 132-146. 2011.

RISATI, A. C.; DANEZE, E. R.; MAGALHÃES, G. M.; Diagnóstico citopatológico em neoplasias mamárias de cadelas: revisão de literatura. **Nucleus Animalium**, v. 6, n. 1, 2014.

SHINZATO, J. Y., MARCACCINI, A. C. P., BRAGA, A. D. F. D. A., RIBEIRO, A. R., RUBIO, J. E. M., SOUZA, J. P. D. D.; Reação anafilática ao corante azul patente durante a biópsia do Linfonodo sentinela em câncer de mama inicial: relato de caso. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, 28(12), 728-32. 2006.

SOUZA, F. W. D., BRUN, M. V., NARDI, A. B. D., HUPPES, R. R., QUARTERONE, C., RAPOSO, T. M. M., GUEDES, R. L.; Linfadenectomia laparoscópica em cadela com neoplasia mamária. **Ciência Rural**, 750-753. 2013.

VALADARES, F. D.; **Pesquisa do Linfonodo sentinela em cadelas portadoras de tumor de mama**. Dissertação de Mestrado, UFV. 2015.

ZENGEL, B., YARARBAS, U., SIRINOC AK, A., OZKOK, G., DENECLI, A. G., POSTACI, H., USLU, A.; Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: review on various methodological approaches. **Tumori**, 99(2), 149-53. 2013.

ZUCCARI, D. A. P. C., SANTANA, A. E., ROCHA, N. S.; Fisiopatologia da neoplasia mamária em cadelas—revisão. **Clínica Veterinária**, São Paulo, 32, 50-54. 2001.

ESTABELECIMENTO DE PROTOCOLO BASE IATF EM NOVILHAS GUZERÁ

Acadêmicos: Saulo Martins Rodrigues

Orientador: Alberto Yukio Chaya

RESUMO

A IATF é uma técnica de inseminação artificial mais aprimorada que visa a sincronização do cio, regulando o momento da ovulação das fêmeas através da utilização de hormônios. O cruzamento entre raças e a inseminação artificial (IA) foram fundamentais para que utilizassem sêmen de reprodutores geneticamente superiores e obtivessem o maior controle da eficiência reprodutiva no rebanho bovino. O objetivo deste trabalho foi avaliar a taxa de concepção em novilhas leiteiras Guzerá submetidas a um protocolo de IATF (Inseminação Artificial Tempo Fixo) a base do hormônio FSH, no município de São Felix de Minas – MG. Foram utilizadas 40 novilhas nulíparas da raça: Guzerá, Guzolando e Girolando, divididos em 4 grupos. Todas tinham a mesma idade (2 anos), submetidas ao mesmo manejo e apresentavam escore corporal bom (3-4). Os resultados mostraram que não houve diferença ($p>0.05$) entre os grupos quanto a taxa de concepção. Com este trabalho, pode-se concluir que o índice reprodutivo de nulíparas da raça Guzerá submetidas ao protocolo base de IATF com utilização do hormônio FSH, obteve-se uma taxa de prenhez desejável, comparado com animais de outros cruzamentos e raças. Contudo, não ocorreu diferença significativa na taxa de concepção quando comparada entre as demais raças estudadas.

PALAVRAS CHAVES: IATF, Guzerá, Guzolando.

1. INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira possui uma posição de destaque na economia do país. Ela é responsável por 6% do PIB, possui o segundo maior rebanho comercial do mundo com 211 milhões de animais e uma produção de carnes que ocupa a segunda maior do mundo, atrás somente dos EUA (ANUALPEC, 2013).

O melhoramento genético e a reprodução animal foram dois dos principais fatores que contribuíram para a ascensão da bovinocultura no país. O cruzamento entre raças e a inseminação artificial (IA) foram fundamentais para que utilizassem sêmen de reprodutores geneticamente superiores, obtivessem o maior controle de doenças sexualmente transmissíveis e que permitissem o maior controle da eficiência reprodutiva no rebanho bovino (SÁ FILHO *et al.*, 2010).

A eficiência reprodutiva é um fator que pode afetar diretamente a produtividade e a lucratividade da bovinocultura leiteira. O manejo reprodutivo e as biotecnologias adotadas, como a utilização da IA, permitem a melhor exploração do potencial de fertilidade tanto dos machos quanto das fêmeas e que os possibilitem a produção de crias saudáveis (FILHO *et al.*, 2010). A IA é uma técnica que consiste em introduzir o

sêmen do macho, por meios instrumentais, no local mais apropriado do aparelho genital da fêmea em estro, possibilitando a ocorrência da fertilização do oócito (SILVA, 2011).

Já a inseminação artificial tempo fixo (IATF) é a IA mais aprimorada, pois não é necessário a observação do estro. Há a utilização de protocolos hormonais que sincronizam o estro das vacas e suas ovulações. Conseqüentemente, nota-se menor intervalo entre partos e o maior ganho econômico com manejo e mão de obra (SÁ FILHO & BARUSELLI, 2010).

Assim como a raça Gir, que possui uma posição significativa na pecuária leiteira, tanto pela rusticidade, quanto pela fertilidade, principalmente em cruzamentos com o gado Holandês, as vacas Guzerá vem se destacando pela sua dupla aptidão na pecuária: a de corte e a de leite. A raça é apontada como “melhoradora das demais raças”, sendo destaque nos cruzamentos F2 por demonstrar forte habilidade materna, e a única raça que apresenta programa de melhoramento genético para ambas as aptidões (MIRANDA & FREITAS, 2009).

Apesar do crescimento da raça Guzerá, esta raça já está no Brasil há 50 anos. Uma raça dócil, caracterizada por um úbere grande, ligamentos fortes, caixa torácica ampla e aprumos mais resistentes aos solos brasileiros. Características importantes para a fêmea leiteira Guzerá (MIRANDA & FREITAS, 2009).

Portanto, esse trabalho tem como o objetivo avaliar a taxa de concepção em novilhas leiteiras Guzerá submetidas a um protocolo base de IATF (Inseminação Artificial Tempo Fixo) no município de São Felix de Minas – MG.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 BOVINOCULTURA BRASILEIRA

O Brasil ocupou o 5º lugar de maior produtor de leite do mundo em 2014, com uma taxa de crescimento de 2,7% em relação ao ano anterior, (EMBRAPA, 2015), ficando com produção de leite de 36,2 milhões de toneladas (t) em 2016 ficando atrás da União Europeia com 149,0 milhões t, Índia com 132,4 milhões de t, Estados Unidos com 96,3 milhões de t e a china com 37,2 milhões de toneladas (CONAB, 2016; MEZADRI, 2016).

O rebanho brasileiro é constituído por 215.199.488 de bovinos sendo 21.751.073 de vacas ordenhadas com uma produtividade de 1.525 litros/vaca/ano (IBGE, 2015),

porém esses animais encontram-se divididos em diversos estados do Brasil: Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Paraná, Goiás e Santa Catarina, sendo estes os estados com maior produtividade e rebanho no país (MEZADRI, 2016).

Outra atividade de grande importância para a economia do país é a pecuária de corte. Segundo a IBGE (2014) no 4º trimestre de 2013, o abate de bovinos no Brasil atingiu pela terceira vez consecutiva o recorde na série trimestral, com a marca de 8,888 milhões de cabeças abatidas. Esse valor foi 0,3% maior que o recorde do trimestre anterior (8,859 milhões de cabeças) e 8,6% superior ao valor registrado no 4º trimestre de 2012. Nos comparativos anuais dos mesmos trimestres, o 4º trimestre de 2013 foi o nono trimestre consecutivo em que tem sido observado aumento da quantidade de bovinos abatidos, confirmando o bom desempenho da bovinocultura brasileira.

2.2 RAÇA GUZERÁ

A raça Guzerá tem sido utilizada cada vez mais pelos produtores, tanto para leite quanto para corte. Diante de cruzamentos entre outras raças, melhoramentos genéticos, nutricionais e técnicas de manejo, a produção leiteira da raça Guzerá vem crescendo consideravelmente por todo Brasil, devido ser uma raça rústica, resistente aos diversos climas, e quando associada a raça Holandesa, obteve-se um maior ganho na produção de leite (CNPC, 2000).

A raça Guzerá, também se destaca quanto sua habilidade materna, docilidade, rendimento de carcaça, conversão alimentar, entre outras características que são passadas para seus filhos e também em cruzamento com outras raças como a holandesa formando F1 Guzolando (MIRANDA & FREITAS, 2009). Além disso o Guzerá é introduzido no cruzamento F2 com a raça Girolando formando Tri-cross leitero (CNPC, 2000).

As combinações dos dois sangues dão destaque à aptidão leiteira do gado Holandês, sem perda da capacidade de produção de carne e leite, rusticidade e adaptabilidade aos trópicos, características pronunciadas no Guzerá. As fêmeas têm elevada aptidão leiteira e ostentam a forma tradicional de cunha, úbere bem inserido e desenvolvido. Uma Guzolando tem condições de produzir cerca de 25 a 30kg de leite por dia (ACGB, 2017).

O objetivo do cruzamento é fazer com que a raça Holandesa transfira para a raça Guzolando as suas características produtivas no que se refere à quantidade de

leite. Da mesma forma, a raça Guzerá que cede à rusticidade que apresenta uma melhor adaptação ao clima tropical e melhor aproveitamento das pastagens grosseiras, tornando o custo de produção do leite mais baixo (ACGB, 2017).

O Gir Leiteiro é um evidente sucesso como arranjo institucional moderno, que tem entregue resultados concretos para a sociedade brasileira, de maneira contínua, têm sido muito úteis à pecuária nacional porque, além da boa produtividade, oferecem maior tolerância ao calor, a doenças e parasitas tropicais. Essa raça fornece o cruzamento com outras raças, como por exemplo, a holandesa formando o Girolando (PANETTO *et al.*, 2016)

O Girolando e o cruzamento da raça Gir com Holandêz obtendo a formação de um gado mais rustico e resistente a ectoparasitas, contudo caracterizada pela grande funcionabilidade diante da produção leiteira. Vacas dessa raça possuem características fisiológicas e morfológicas que se adequam à produção no clima tropical do Brasil, devido sua boa conversão alimentar, alta eficiência reprodutiva (MIRANDA & FREITAS, 2009).

2.3 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL (IA)

Entende-se IA o procedimento de depositar o sêmen no útero da fêmea utilizando meios artificiais em lugar da copula natural. Basicamente, a IA apresenta vantagens decorrente do melhoramento genético dos rebanhos, incluindo incremento quantitativo e qualitativo da produção, obtido pelo emprego de técnicas para diminuição de doenças e de custos para obtenção de uma prenhez (ALVAREZ, 2008).

Isso acontece porque a taxa de prenhez quando a inseminação artificial (IA) é utilizada é menor, o que torna a técnica menos atrativa para os rebanhos comerciais. O decréscimo na eficiência reprodutiva pode ser explicado pelas dificuldades na inseminação, no manejo diário e principalmente na detecção do estro (AMARAL *et al.*, 2014).

Apesar da monta natural possuir uma maior taxa de prenhes, várias são as vantagens do uso da IA, entre as quais podem ser citadas: possibilidade de uso de sêmen de touros superiores e de regiões distantes; redução na disseminação de doenças; aumento no número de fêmeas fecundadas com um mesmo ejaculado; redução do risco de acidentes em vacas e novilhas quando o touro é muito pesado; utilização de touros mesmo depois de sua morte (ALVAREZ, 2008).

Além disso, o uso da IA dispensa os custos de depreciação e manutenção do touro de monta natural e, apesar de haver custos elevados ao longo do processo de inseminação, permite que um número muito maior de fêmeas sejam inseminadas, diminuindo o desgaste do animal. Contudo, existem obstáculos: necessidade de infraestrutura e mão-de-obra especializada; boas condições de manejo e nutrição; pessoal capacitado para detecção do estro (cio)(ALVAREZ *et al.*, 2008).

Segundo Magalhães, (2013) a maioria das vacas tem um padrão de comportamento que se modificou ao fim do ciclo, o melhor indicador para determinar se a vaca está no cio é observar quando a mesma fica parada ou aceita a monta tanto pelas outras companheiras de rebanho quanto pelo touro. Uma série de sinais podem indicar que o cio está próximo podendo ser observado: comportamento semelhante ao de touro; sinais de inquietação; aproximação súbita; posicionamento de cabeça contra cabeça; encostando em outras vacas; cheirando a vagina e urina de outras vacas, estes atos às vezes seguidos de reflexo de Fleming; movimento de perseguição de alguns animais. tentam colocar o queixo na garupa de outras vacas que pode ser seguido ou não por atividade de monta; vagina hiperêmica e entumescida e descarga de muco transparente pela vulva.

2.1 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF)

A IATF, além de possibilitar o melhoramento genético, utiliza-se hormônios permitindo sincronizar ciclo estral e a ovulação das fêmeas, melhorando desta forma, os índices de concepção (SÁ FILHO *et al.*, 2010).

2.1.1 DESENVOLVIMENTO FOLICULAR E CICLO ESTRAL

O ciclo estral é o período compreendido entre dois estros, de duração de 20 e 21 dias, apresenta fases bastante evidentes e caracterizadas por modificações na genitália tanto interna como externa, bem como no comportamento da fêmea. Quanto ao desenvolvimento do ciclo estral as vacas são classificadas como poliêstricas anuais. As fases do ciclo podem ser didaticamente divididas em pró-estro, metaestro e diestro.(REECE, 1996).

O estro é a fase em que o animal se encontra apto e receptivo para a atividade sexual, tem duração em média 18 horas, sendo a fase mais fácil de ser identificada e que tem fim quando o animal deixa de aceitar a monta (HAFEZ & HAFEZ, 2004).No

estros as glândulas uterinas, cervicais e vaginais secretam grande quantidade de muco de consistência viscosa. A vagina e a vulva tornam-se edemaciadas e dilatadas e a cérvix está relaxada (ARTHUR, 1979).

Os acontecimentos que ocorrem ao longo do ciclo estral se devem principalmente a cinco hormônios: GnRH (hormônio liberador de gonadotrofinas), FSH (hormônio folículo estimulante), LH (hormônio luteinizante), estradiol e progesterona (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

O GnRH são liberados no sistema porta-hipotalamo-hipofisário a qual atua na hipófise anterior promovendo a liberação de LH e FSH. O FSH quando é liberado tem a função de atuar no crescimento e maturação dos folículos ovarianos, mas o FSH sozinho não tem a capacidade de induzir a produção de estrogênio, por isso a necessidade de LH em conjunto com FSH pois ambos hormônios induzem o recrutamento e seleção de dominância folicular (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

A partir do momento que ocorre o crescimento folicular, desencadeia a liberação de outros hormônios como a ativina, inibina e folistatina. A ativina tem a função de estimular ao invés de inibir a liberação do FSH, já a inibina e folistatina é responsável pela inibição do FSH e além de tudo a folistatina possui o mecanismo de inibir a atividade da ativina (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

Quando o folículo apresenta-se no estágio de dominância ele libera o hormônio denominado estrogênio que são produzidos pelos folículos antrais, o estrogênio provoca a inibição do crescimento dos folículos que estava desenvolvendo junto com folículos dominante provocando atresia do mesmo, e inicia a formação de receptores de LH e diminui a do FSH. O LH que é liberado pela hipófise é responsável por induzir a ovulação no animal por ser o hormônio denominado luteinizante por provocar o rompimento da parede do folículo e forma o corpo lúteo (CUNNINGHAM *et al.*, 2014; HAFEZ & HAFEZ, 2004).

O corpo lúteo é o responsável pela produção de progesterona o hormônio que atua na manutenção da gestação e quando atua sinergicamente com o estrogênio é responsável pelo comportamento do cio, e também desempenha o papel fundamental na regulação do ciclo estral (FRANÇA, 2012)

A prostaglandina são liberadas em diversos órgãos e tecidos porém a de grande interesse para esse trabalho é a prostaglandina PGF_{2α}, que é o agente lúteo natural que é responsável pela fase final lútea do animal, ou seja, permitindo o

desenvolvimento de uma nova onda folicular quando apresenta a ausência de fertilização (CUNNINGHAM *et al.*, 2014).

Após o estro inicia-se a fase de metaestro, é que ocorre a ovulação na vaca. O corpo lúteo (CL) secreta progesterona, nesta fase segue níveis crescentes até atingir a produção máxima. Essa fase dura entre 3 e 4 dias e tem fim quando o CL alcança a produção máxima de progesterona (FRANÇA, 2012).

A fase seguinte, o diestro, é a de maior duração e aquela onde predominam níveis elevados de progesterona, uma vez que, caso ocorra a fecundação, possa ser dada continuidade à gestação. Então, apresentam-se duas possibilidades: se houver a fecundação, o CL mantém sua função, secretando progesterona e permitindo a manutenção da gestação; se não houver a fecundação, o corpo lúteo regride, há decréscimo dos níveis de progesterona e o organismo se prepara para o início de um novo ciclo estral (VALLE, 1991).

2.1.2 HORMÔNIOS UTILIZADOS NA IATF

A utilização de fármacos para manipular os principais eventos do ciclo estral e induzir a manifestação do cio. Entre esses fármacos, os mais utilizados são: gonadotrofina coriônica equina (eCG), gonadotrofina coriônica humana (hCG), hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH), a prostaglandina (PGF2 α) a progestágenos e o benzoato E2 (MORETTI *et al.*, 2013).

2.1.2.1 PROSTAGLANDINA F2A (PGF2A)

A PGF2 α está diretamente relacionada ao processo de luteólise diminuindo os níveis de progesterona para que se inicie um novo crescimento folicular. Além disso, a PGF2 α influencia o desenvolvimento dos folículos, contribuindo para a atividade mitótica dos folículos, fazendo com que o crescimento se dê de forma mais rápida mediante sua aplicação (SANTOS & VASCONCELOS, 2011).

Valle, (1991) ressalta que o uso da prostaglandina F2 α deve levar em consideração a maturação do corpo lúteo para que apresente uma resposta adequada. O ideal é que a aplicação se dê entre o 6^o e o 15^o dia do ciclo estral, de modo que as chances da PGF2 α induzir a luteólise são maiores quanto maior for a maturação do corpo lúteo. Aplicações de PGF2 α em períodos que o corpo lúteo não estiver funcional podem decorrer em falha do processo, já que o CL não responde à aplicação.

2.1.2.2 PROGESTÁGENOS

O uso de progestágenos se dá por meio da administração de progesterona (P4) ou um de seus análogos por um período, de modo a simular a ação do CL. Assim, quando retirada a fonte de P4, os animais que serão utilizados no protocolo terão seu ciclo sincronizado (ANDREWS *et al.*, 2008). Para França, (2012), enquanto os níveis de P4 se mantiverem elevados estará suprimida a liberação de gonadotrofina e a maturação dos folículos. Quando os níveis de P4 estão baixos, aumentam-se os pulsos de LH, o que ocorre no início da fase luteal e após a luteólise, ou seja, nos momentos em que CL não está secretando P4. Por meio da aplicação de progestágenos é possível simular a fase luteal e, quando cessada a administração, provoca-se a luteólise e picos de LH.

Pereira, (2014) ressalta que a exposição prolongada à P4 pode acarretar maturação ovocitária anormal, transporte de gametas e do embrião anormais, diminuindo as taxas de concepção. Além disso, pode ocorrer preparação inadequada do útero, causando a morte do embrião.

2.1.2.3 17 β ESTRADIOL

Para Pereira, (2014), a importância da utilização do 17 β estradiol (E2) em protocolos de IATF se dá por causa de sua capacidade de induzir os pulsos de LH pré-ovulatórios, a luteólise durante a fase folicular e a atresia folicular.

A aplicação de 17 β estradiol diminui os níveis de FSH, inibindo o crescimento do folículo dominante. Posteriormente há um pico de FSH, que leva a uma nova onda de crescimento folicular, segundo BO *et al.*, (1993), entre 3 e 5 dias após.

É importante a aplicação do 17 β estradiol concomitantemente com a administração de progestágeno, de modo a garantir maiores níveis de P4 durante a ação do E2 e mais efetividade na supressão do folículo dominante, já que os níveis de FSH permanecerão baixos por mais tempo (cerca de 24 horas) do que se o E2 fosse aplicado sozinho (cerca de 6 horas) (MANTOVANI *et al.*, 2003).

2.1.2.4 HÔRMONIO FOLÍCULO ESTIMULANTE

O hormônio folículo estimulante (FSH) estimula o crescimento e a maturação do folículo ovariano ou folículo de Graaf. O FSH por si só não causa secreção de 9

estrógenos pela camada da granulosa do folículo ovariano, ao contrário, necessita da presença do LH para estimular a produção estrogênica (CUNNIGHAN *et al.*, 2014).

A base de sua ação e ligação é ativação de receptores de FSH nas células da granulosa, principalmente dos folículos de tamanho médio e pequeno, estimulando o crescimento contínuo desses, provavelmente pelo fato de inibir a apoptose (Armstrong, 1993). No entanto, existem evidências de que receptores para FSH seriam ativos funcionalmente, durante o desenvolvimento pré-antral (CUNNIGHAN *et al.*, 2014).

Por meio dessa técnica o produtor pode definir uma data para realizar a inseminação, eliminando a necessidade de detectar o cio e possibilitando que muitos animais sejam inseminados em um mesmo momento. Logo, a IATF pode ser usada como estratégia comercial, dando mais controle ao produtor em relação à reprodução de seu rebanho (SILVEIRA, 2010).

Entre os principais benefícios, destaca-se a possibilidade de facilitar a inseminação artificial de vacas em lactação, diminuindo o intervalo entre partos, agrupar os partos, antecipar a prenhez na estação de monta e uniformizar os lotes de bezerros, aumentando a eficiência no momento do desmame e refletindo de modo direto na centralização da mão-de-obra e no custo/benefício da operação (SILVEIRA, 2010).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado na fazenda Homem de Pedra, localizada no município de São Felix de Minas – MG, a 393 km da capital Belo Horizonte. Foram utilizadas ao todo 40 novilhas das raças Guzerá e 1/2 sangue Guzolando e 3/4 Girolando com peso médio de 300 kg e idade média de 2 anos.

Todas as novilhas apresentavam bem nutridas, escore corporal entre 3 e 4, todas vacinadas para Brucelose, Raiva e leptospirose, criadas em manejo semi-intensivo em pastagem de *Brachiaria decumbens* e capim Mombaça, suplementadas com sal mineral a vontade, ração a base de milho e soja e água *ad libitum* em bebedouros tipo calha.

Todos os animais foram submetidos a um protocolo base para IATF. Este protocolo foi estabelecido, segundo Ferreira (2010), como: dia 0, às 8h, foi implantado o dispositivo intravaginal contendo 1 g de progestágeno (Primer TECNOPEC) e administração de benzoato de estradiol (Ric-be) por via intramuscular (2mg/kg=2ml

para cada novilha). No dia 8, às 8h, foi realizada a retirada do dispositivo intravaginal e administração de FSH (FOLLTROPIN-TECNOPEC) por via intramuscular (10 mg/kg=0,5 ml por novilha). Foi administrado também prostaglandina (PROLISE-TECNOPEC) por via intramuscular (1,5 ml por novilha). No dia 9, às 8h, foi realizada a administração de benzoato de estradiol (Ric-be-TECNOPEC) por via intramuscular (2mg/kg=2ml para cada novilha). E no dia 10, às 14h, foi realizada a inseminação artificial, utilizando as paletas macrotube de 5 µL de quatro touros distintos, adultos, todos aptos a reprodução, segundo exames andrológicos realizados periodicamente.

Das 40 novilhas totais, 10 eram novilhas da raça Guzerá. Estas foram submetidas ao protocolo de IATF e inseminadas pelo touro Guzerá (1225 SULA). Outras 10 novilhas também da raça Guzerá, foram submetidas ao mesmo protocolo, mas inseminadas com um touro Holandês (ISAAC). As outras também 10 novilhas eram da raça Guzolando e foram submetidas ao mesmo protocolo de IATF que as últimas duas, e inseminadas com o touro Guzerá (Vandalo RF). O último grupo, 10 novilhas da raça 3/4 Girolando submetidas ao mesmo protocolo de IATF.

A característica reprodutiva observada entre as novilhas foi o diagnóstico de gestação aos 30 dias após a IATF por ultra-sonografia.

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise de dados foi realizada pelo programa BoiEstat foi utilizado os métodos de análise de variância e ki quadrado.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do presente experimento estão na Tabela 1. Os dados da Tabela 1 mostraram que não houve diferença ($p > 0.05$) entre os grupos de novilhas quanto a taxa de prenhez, ou seja, o protocolo base utilizado no presente trabalho foi eficiente a todos os grupos, não existindo diferenças entre as raças estudadas. Apesar de não ter existido diferença significativa entre os grupos na taxa de prenhez, o que pode-se notar, é a relação entre o maior peso corporal do grupo C, com a maior taxa de prenhez também do grupo C.

Através deste estudo, pode-se afirmar que a efetividade do protocolo base está relacionado ao peso vivo do animal submetido a estes hormônios. Os animais de todos os grupos apresentavam pesos corporais semelhantes, escores corporais entre 3 e 4, e

para todos os grupos, foram utilizados reprodutores com resultados excelentes ao exame andrológico, obtiveram uma nutrição balanceada e adequada, tinham a mesma idade e foram submetidos ao mesmo manejo e ambiente. O que corrobora com o trabalho de Cutaia e Bó (2004), nos quais afirmaram que animais com melhores escore corporal, possuíam maior taxa de concepção no programa de IATF.

Tabela 1: Resultados do protocolo base de IATF.

Grupo	Idade (anos)	Peso (kg)	IA (Reprodutor)	Taxa de prenhez (%)
A	2	362	X	40 ^a
B	2	361	Y	50 ^a
C	2	389	W	70 ^a
D	2	350	Z	60 ^a

(p > 0.05). A: Guzerá leiteiro vs Holandês; B: Guzerá leiteiro vs Guzerá leiteiro; C: Gurolando vs Guzerá; D: Girolando vs 3/4 Gir. x: Isaac; y: 1225; w: Vandaló; z: Barbante TE.

A raça girolando, por ser a raça mais utilizada na pecuária leiteira e possuir um bom índice na reprodução, um excelente escore corporal e ótima produção leiteira, no presente trabalho não apresentou excelente resultado. O peso corporal deste grupo D foi o mais baixo e a segunda maior taxa de prenhez (60%). Porém, apresentou resultados semelhantes aos de Almeida et al. (2016). Apesar destes autores terem avaliados vacas mestiças e multíparas com protocolos a base de GnRH, benzoato estradiol (BE) e eCG e o presente estudo ter avaliado o FSH. Os resultados mostraram que dentre os protocolos adotados, aquele que mostrou mais eficiente foi o utilizado com eCG (68,8%), depois com o GnRH (45,5%) e o BE (42,6%). Segundo Baruselli (2003), o eCG além de possuir atividade foliculo estimulante (FSH) e luteinizante (LH), também aumentam os níveis de progesterona em fêmeas bovinas, melhoram a taxa de crescimento folicular, promovem o desenvolvimento de um maior foliculo dominante e maior corpo lúteo e, conseqüentemente, obtêm maiores chances de ocorrer a gestação.

O atual trabalho foi preconizado o protocolo de IATF a base de FSH em animais da raça Guzerá nulíparas, com escore corporal bom. Os resultados mostraram taxa de prenhez no grupo A de 40%, no grupo B de 50%, no grupo C de 70% e no grupo D de 60%. Estes dados não corroboram com Grilo *et al.* (2015), os quais utilizaram animais da raça Nelore com escore corporal ruim e protocolo de IATF a base de eCG. Eles obtiveram uma taxa de prenhez de 86% para nulíparas, 45,3% para as primíparas e 76,8% para as multíparas. Porém, está de acordo com Viana *et al.* (2015), que

utilizaram fêmeas Nelore múltiparas e protocolo a base de eCG, com uma taxa de prenhez de 62%. E corrobora com Borges et al. (2008), os quais afirmaram que são considerados índices bons para IATF, quando a taxa de prenhez varia de 25 a 70%.

Segundo Silva et al, (2011), o sêmen de touros influencia diretamente a taxa de prenhez. A utilização do sêmen convencional adquirido de centrais de inseminação é o melhor método de prenhez no programa de IATF. A utilização deste sêmen pode obter uma taxa de prenhez de 43,7%. Dados estes que também podem justificar a boa taxa de prenhez do presente estudo (55%), utilizando sêmen convencional de touros aptos a reprodução.

Uma análise realizada por Landaeta-Hernandez et al. (2002), relataram que o estresse é um dos fatores que também influencia o índice reprodutivo das fêmeas. O trabalho de Viana et al. (2015) realizado em onze fazendas, apresentou um índice médio de 62% de prenhez. Porém, em uma fazenda, a taxa de concepção foi de 50%. Segundo os mesmos, este baixo índice foi devido ao problema relacionado ao manejo, pois os animais desta propriedade tiveram que ser transportados após a IA, ficando susceptíveis ao estresse. Dentre os resultados referido por Viana et al. (2015), as demais propriedades que evitaram o estresse dos animais, obtiveram uma taxa de concepção acima de 50%, semelhante a do presente trabalho (taxa de prenhez de 55%) que evitou-se o estresse após a IA e todos os grupos foram submetidos ao mesmo tipo de manejo e alimentação.

O manejo é de suma importância para a eficiência reprodutiva, principalmente quando se trata de nutrição. A nutrição é uma das ferramentas que pode afetar direta ou indiretamente a reprodução. O estado nutricional e metabólico da vaca em reprodução influenciam nos parâmetros endócrinos, nos padrões de crescimento folicular, na atividade lútea e secretória uterina (BATISTA et al., 2012).

A insuficiente ingestão de energia esta correlacionada com a baixa performance reprodutiva, o que reflete em um maior intervalo entre partos (MELLO, 2014). Os animais dos grupos de A, B, C e D foram submetidos à alimentação de *Brachiaria decumbens* e capim Mombaça a pasto e suplementado com ração a base de milho e sal mineral *ad libitum*.

Nicodemum et al., (2004) afirmaram que as fêmeas durante a reprodução, principalmente nas fases de gestação e lactação, podem apresentar diferentes repostas em razão das diferentes exigências de minerais. Deficiências de minerais na

alimentação podem se manifestar por fertilidade reduzida, ciclos irregulares, anestro e abortos, pois o manganês e o zinco são minerais que estão intimamente relacionados a estes problemas (NICODEMUM *et al.*, 2008).

4. CONCLUSÃO

Com esse trabalho concluímos que o índice reprodutivo de nulíparas da raça Guzera, submetidas ao protocolo base IATF com utilização do hormônio FSH, obteve-se uma taxa de prenhez desejável, comparado com animais de outros cruzamentos e raças. Contudo, não ocorreu eficiência na taxa de concepção quando compara entre as demais raças.

5. REFERÊNCIAS

ACGB- Associação dos Criadores de Guzera e Guzolando Brasil. **Guzolando e suas Vantagens**. Disponível em: < <http://www.guzera.org.br/novo/?tela,20>> Acessado: 06/06/2017.

ALVAREZ, R. H. Considerações sobre o uso de inseminação artificial em bovinos. 2008. Disponível em:<http://www.infobibos.com/Artigos/2008_1/Inseminacao/index.htm>. Acesso em: 10 out. 2016.

AMARAL, T. B; CORREA, E. S; COSTA, F. P. **Inseminação artificial ou monta natural: aspectos produtivos e econômicos.** 2014. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/radarestecnicos/melhoramentogenetico/inseminacao-artificial-ou-monta-natural-aspectos-produtivos-e-economicos-19399/>>. Acesso em: 08 out. 2016.

ALMEIDA, I. C.; GOMES, T. B.; PINHO, M. M.; SIQUEIRA, J. G.; SENA, L. M.; FONTES, C. A. A. Taxa de prenhez em vacas de leite após uso de protocolos hormonais de inseminação artificial em tempo fixo. **Revista Brasileira Ciencia Veterinaria**. v.23, n°1-2, p.99-103, 2016.

ANDREWS A.H., BLOWEY R.W., BOYD, H.; EDDY, E.R.G. **Medicina bovina: doenças e criação de bovinos.** 1080p. 2ª ed. São Paulo: Roca, 2008.

Anualpec: Anuário da pecuária brasileira. São Paulo: Instituto FNP. p.380, 2015.

ARTHUR, H.G. **Reprodução e Obstetricia em Veterinária.** 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1979.

ARMSTRONG, D.T. **Recent advances in superovulation of cattle.** *Theriogenology*. v.39, p.7- 24, 1993.

BATISTA, D. S. N.; ABREU, U. G.; FILHO, P. B. F.; ROSA, A. N. Índices reprodutivos do rebanho nelore da fazenda Nhumirim Pantanal da Nhecolândia. **Acta Scientiarum Animal Sciences**. v.34, n°.1, p.71-76, 2012.

BARUSELLI, P.; BO, G.A.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. In: I Simpósio Internacional de Reprodução Animal aplicada. Biotecnologia da Reprodução em Bovinos. Londrina, **Anais...**, Córdoba, Argentina, 2003. p.103-116.

BO, G. A.; ADAMS, G. P.; NASSER, L. F.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Effect of Estradiol Valerate on Ovarian Follicles, Emergence of Follicular Waves and Circulating Gonadotropins in Heifers. **Theriogenology**. v. 40, n°. 2, p. 225-239, 1993.

BORGES, L. F. K.; FERREIRA, R.; SIQUEIRA, L. C. Sistema para inseminação artificial sem observação de estro em vacas de corte amamentando. **Ciência Rural**, v.39, n.2, p.496-501, 2008.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). **Leite e derivados**. p.1-7, 2016.

CNPC – Conselho Nacional da Pecuária de Corte. **Guzerá**. 2000. Disponível em: <<http://cnpc.org.br/pecuaria/racas-de-gado/guzera.html>> acessado: 06/06/2017.

CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 5.ed. Rio de Janeiro, Editora Elsevier. p. 417- 420, 2014.

CUTAIA, L.; BÓ, G.A. **Factores que afectan los resultados en programas de inseminación artificial a tiempo fijo en rodeos de cría utilizando dispositivos com progesterona**. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN BOVINA, 1., 2004, Barquisimeto. Anais... Barquisimeto, 2004. p.109-123.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cartilha panorama do leite**. v.7. n°.75, Juiz de Fora, 2015.

FRANÇA. G. A. Inseminação artificial em tempo fixo (iatf). TCC/Graduação – Curso de Medicina Veterinária, Universidade Tuiuti do Paraná, p.88, 2012.

FERREIRA, M. C. N.; MIRANDA, R.; FIGUEIREDO, M. A.; COSTA, O. M.; PALHANO, H. B. Impacto da condição corporal sobre a taxa de prenhez de vacas da raça nelore sob regime de pasto em programa de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). **Seminário: Ciências Agrárias, Londrina**. v.34, n°.4, p.1861-1868, 2013.

FILHO, M. F. S; SALES, J. N. S; CREPALDI, G. A; BARUSELLI, P. S. "**Iatf em fêmeas Bosindicus em condições tropicais**". 2010. Disponível em: http://abspecplan.com.br/upload/library/IATF-femeas_tropicais_Baruselli.pdf.

Acesso em: 20 setembro de 2016.

GRILLO, G. F.; GUIMARÃES, A. L. L.; COUTO, S. R. B.; FIGUEIREDO, M. A.; PALHANO, H. B. Comparação da taxa de prenhez entre novilhas, primíparas e

múltiparas da raça Nelore submetidas à inseminação. **Revista Brasileira Medicina Veterinária**. v.37, n.º.3, p.193-197, 2015.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7ªed, Editora Manole Ltda, Barueri-SP, p. 3-54, 2004.

IBGE. **Estatísticas na produção pecuária**, 2014- IBGE Brasil. Instituto brasileiro de geografia e estatísticas, Brasil, disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201304_publ_completa.pdf> acesso em: 11/05/2017.

IBGE. **Estatísticas na produção pecuária**, 2015- IBGE Brasil. Instituto brasileiro de geografia e estatísticas, Brasil, disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2015/>>. acesso em: 15/04/2017.

LANDAETA HERNANDEZ, A. J.; YELICH, J.; LEMASTER, J.W. Environmental, genetic and social factors affecting the expression of estrus in beef cows. **Theriogenology**, v. 57, p. 1357-1370, 2002.

MAGALHÃES, P. C. M. **Estratégias para adoção da inseminação artificial em vacas zebuínas**. Dissertação de mestrado da Universidade José do Rosário Vellano-UNIFENAS, Faculdade de Medicina Veterinária. p.1-54, 2013

MANTOVANI, A. P. **Utilização prolongada de dispositivo intravaginalcontendprogesterone (CIDR) para indução de folículos persistentes em receptoras de embrião bovino** / Ana Paula Mantovani – São Paulo, 2003. 84f. Dissertação (mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, 2003.

MELLO, R. R. C. Perdas reprodutivas em fêmeas bovinas. **Agropecuária Científica no Semiárido- ACSA**. v.10, n.º.4, p.7-23, 2014.

MEZZADRI, F. P. Leite- Análise da Conjura Agropecuária. **SEAB – Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento**. p.1-15, 2016.

MIRANDA, J. E. C.; FREITAS, A. F. Raças e tipos de cruzamentos para produção de leite. **Embrapa Circular Técnica**. juiz de fora. p.1-12, 2009.

MORETTI, A.S; MARTINS, S. M. M. K; ANDRADE, A. F. C; PARAZZI, L. J; OLIVEIRA, M. L. Controle farmacológico do ciclo estral. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.37, n.2, p.213-219, 2013.

NICODEMO, M. L. F.; MORAES, S. S.; S`THIAGO, L. R. L.; MACEDO, M. C. M.; CAXIAS, E. L.; NOGUEIRA, E.; VIEIRA, J. M.; VAZ, E. C. Desempenho de vacas jovens nelore em pastagens de *Brachiaria brizantha* suplementadas ou não com

fósforo/cálcio e ração durante a seca. **Revista brasileira e Zootecnia**. v.33, n°.6, p.2151-2160, 2004.

NICODEMO, M. L. F.; SERENO, J. R. B.; AMARAL, T. B. Minerais na eficiência reprodutiva de bovinos. **Embrapa Pecuária Sudeste**. p.1-68, 2008.

NOGUEIRA, E.; SILVA, A. S.; DIAS, A. M.; ITAVO, L. C. V.; BATISTOTE, E. Taxa de prenhez de vacas Nelores submetidas a protocolos de IATF no pantanal de MS. **Circular técnica Embrapa**. Corumbá, MS. p.1-5, 2011.

PANETTO, J. C. C.; VERNEQUE, R. S.; SILVA, M. V. G. B.; MACHADO, M. A.; MARTINS, M. F.; BRUNELI, F. Â. T.; PEIXOTO, M. G. C. D.; SANTOS, G. G.; ARBEX, W. A.; REIS, D. R. L.; GERALDO, C. C.; MACHADO, C. H. C. Programa nacional de melhoramento do Gir Leiteiro sumário Brasileiro de touros resultado do teste de progenie 7° prova de pre-seleção de touros maio 2016. **Embrapa Gado de leite**. p.1-82, 2016.

PEREIRA, J. V. T. N **Variáveis Morfométrica e Hormonais Ovariana e Sanguínea de Vacas Nelore Submetidas a Diferentes protocolos de iatf/** Jhonata Vieira Tavares do Nascimento Pereira. – Viçosa, MG, 2014. 59p. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, 2014.

PILAU A.; LOBATO J.F.P. Desenvolvimento e desempenho reprodutivo de vacas primíparas aos 22/24 meses de idade. **Revista Brasileira Zootecnia**.v.38, p.728-736, 2009.

REECE, O.W. **Fisiologia de Animais Domésticos**. São Paulo:Roca, p.289 p, 1996.
SANTOS, R. M; VASCONCELOS, J. L. M. **Acelerando a redução de progesterona após luteólise induzida aumenta a fertilidade de vacas leiteiras tratadas com Ovsynch**. 2011. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/reproducao/acelerando-a-red.aspx>. Acesso em: 18 out. 2016.

SÁ FILHO, M. F.; BARUSELLI, P. S. Buiatria para o século XXI: como incrementar a eficiência reprodutiva. **Veterinária e Zootecnia**.Goiânia,Brasil.v.18, n.4,p.116,2011.

SÁ FILHO, M. F. ; SALES, J. N. S; CREPALDI, G. A; BARUSELLI, P. S. "**Iatf em fêmeas Bosindicus em condições tropicais**". 2010. Disponível em: <[http://www.abspecplan.com.br/upload/library/IATF-femeastropicais Baruselli.pdf](http://www.abspecplan.com.br/upload/library/IATF-femeastropicais_Baruselli.pdf)>
Acesso em: 20/09/2016

SILVA, C. L. A. **Inseminadas com sêmen heterospérmico hiperconcentrado e rediluído após 12 horas de armazenamento a 5°C no diluído glicina-gema de ovo**. Dissertação de mestrado Universidade Federal de Minas Gerais Escola de Veterinária. 2011.

SILVEIRA, A. P. **Uso de protocolos de IATF para aumentar a eficiência reprodutiva de gado de corte / Ana Paula Silveira – Presidente Prudente, 2010. 56p. Dissertação, Fisiopatologia Veterinária**. Mestrado em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista, 2010.

VALLE, E.R. O ciclo estral de bovinos e métodos de controle. Campo Grande : **EMBRAPA**-CNPGC. (EMBRAPA-CNPGC. Documentos, 48). p.24, 1991.

VIANA, W. A.; COSTA, M. D.; RUAS, R. M.; AMARAL JUNIO, L. T.; SEIXAS, A. A.; SERAFIM, V. F. Taxas de prenhez de vacas zebuínas com uso da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em fazendas do norte de Minas Gerais. **Revista Científica de Medicina Veterinária**. n°. 24, p.1-8, 2015.

ESTUDO RETROSPECTIVO DOS CASOS DE PARVOVIROSE E GASTROENTERITES REFERENCIADOS NO HOSPITAL ESCOLA VETERINÁRIO GARDINGO LTDA, MATIPO - MG (JANEIRO DE 2015 A JANEIRO DE 2017)

Acadêmicos: Gabriel Ribeiro Fernandes e Cinthia Genelhu Silva

Orientadora: Mayara Cristini Ferreira de Aguiar

RESUMO

A gastroenterite se trata de uma inflamação, que afeta parte do intestino e estômago, que ocorre devido à infecção por parasitos, vírus e bactérias. A parvovirose canina é uma doença infectocontagiosa, caracterizada por uma gastroenterite hemorrágica onde há perda de fluidos, eletrólitos e proteínas, sendo a desordem infecciosa mais comum em cães jovens com diarreia. O diagnóstico precoce e definitivo da etiologia das gastroenterites caninas torna-se necessário para o tratamento e controle da disseminação do agente etiológico. O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo retrospectivo da parvovirose canina e gastroenterites no Hospital Escola Veterinário Gardingo LTDA no período de janeiro de 2015 a janeiro de 2017. Utilizamos para análise deste trabalho o levantamento de todas as fichas dos animais atendidos com caso de parvovirose canina e gastroenterites, os resultados obteve-se que 3,97% dos casos atendidos no hospital tiveram diagnóstico de gastroenterite, 3,12% tiveram diagnóstico de parvovirose canina. Dentre os animais com parvovirose 54,50% eram machos e 45,50% fêmeas. Os animais jovens foram os mais acometidos entre os animais diagnosticados com parvovirose eram 54,50% dos animais diagnosticados com parvovirose eram SRD. Destes 45,40% foram vacinados com vacina não ética, 36,40% não eram vacinados e 18,20% eram vacinados com vacina ética. Com isso, ressalta-se a importância da realização de protocolo vacinal correto com vacinas éticas e realizada por Médicos Veterinários para a prevenção e controle da parvovirose canina.

PALAVRAS- CHAVE: Parvovirose canina, gastroenterite hemorrágica, doença infectocontagiosa.

1. INTRODUÇÃO

O parvovírus canino (CPV) é um vírus sem envelope (CARVALHO *et al.*, 2013), pertence à família Parvoviridae. O parvovírus tem tropismo pelo tecido digestivo, medula óssea e tecidos linfoides e pode infectar animais de qualquer idade, porém é mais comum em cachorros de quatro a doze semanas de idade (NELSON e COUTO, 2010; CARVALHO *et al.*, 2013). Os cães das raças Dorberman, Pinscher, Rottweiler, Pitbull, Labrador e Pastor Alemão são mais predispostos a terem a parvovirose do que os cães de outras raças (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Após três a quatro dias de infecção, o vírus cai na corrente sanguínea invadindo tecidos alvos, incluindo o timo, o baço, os linfonodos, a medula óssea, os

pulmões, o miocárdio e finalmente o jejuno distal e o íleo, assim continua a se replicar (ANGELO *et al.*, 2009). Os animais afetados que contraem a doença podem perder líquidos rapidamente e podem morrer de um a dois dias após o aparecimento dos sinais. Os sinais clínicos geralmente aparecem de dois a quatro dias após a exposição inicial (infecção). De um a três dias após a infecção, ocorre uma hipotermia presença de vírus já pode ser encontrada no sangue antes do aparecimento da gastroenterite, e ocorre hipertermia (ANGELO *et al.*, 2009).

Os principais sinais clínicos e laboratoriais da parvovirose são febre, leucopenia, além de sintomas cardíacos nos filhotes, anorexia, depressão, vômitos, rápida desidratação, diarreia sanguinolenta, líquida e fétida e perda de peso (ANGELO *et al.*, 2009).

A estabilidade do parvovírus canino no ambiente e a excreção de grandes quantidades de vírus por animais doentes podem expor filhotes suscetíveis a doses infecciosas maciças do agente (CARVALHO *et al.*, 2013).

O diagnóstico precoce e definitivo da etiologia das gastroenterites caninas torna-se necessário para o tratamento e controle da disseminação do agente etiológico, principalmente se o CPV estiver envolvido (MENDES *et al.*, 2011). Os tratamentos existentes servem apenas para suporte do animal e consistem principalmente na administração de fluidos, eletrólitos e antibioticoterapia para controle de infecções bacterianas secundárias (CARVALHO *et al.*, 2013). Em cães jovens, a maioria da proteção contra o CPV corresponde à imunização passiva materna natural. Após o declínio desses anticorpos, esses animais tornam-se altamente suscetíveis à infecção (CARVALHO *et al.*, 2013). O protocolo de vacinação é feita a partir dos 45 dias de vida, correspondente de seis a oito semanas de idade (NELSON e COUTO, 2010). Foi realizado um estudo no estado do Rio de Janeiro com 341 cães de até seis meses de idade com gastroenterite, 46% dos animais foram diagnosticados com parvovirose e 54% com gastroenterites não causada pelo CPV (CASTRO *et al.*, 2007). De acordo com estudo realizado por Santana (2016), 64% dos animais atendidos no HVET – UNB em Brasília no período de janeiro de 2014 a março de 2016 foram diagnosticados com parvovirose canina.

O objetivo desse trabalho foi fazer um levantamento do número de casos ocorridos no período de janeiro de 2015 a janeiro 2017 no Hospital Escola Veterinário

Gardingo LTDA de modo a traçar um perfil epidemiológico da doença no município de Matipó – MG e arredores.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1- Agente etiológico

A parvovirose é uma doença e infectocontagiosa, causada por um vírus principal, o parvovírus canino (CPV). Observado em cães, este vírus é pertencente à família *Parvoviridae* (ANGELO *et al.*, 2009). Dentre os vírus de tropismo digestivo, a parvovírus é o mais importante agente etiológico das afecções digestivas, responsável por altas taxas de morbidade e mortalidade, com alta frequência relacionada à grande resistência do vírus no ambiente (MENDES *et al.*, 2011).

Há dois sorotipos capazes de levar a infecção em cães, o parvovírus canino – 1 (PVC-1) e o parvovírus canino – 2 (PVC-2) considerando que o PVC-2 é mais comum de enterite viral em cães. O PVC-1 pode produzir enfermidade que pode ser leve à subclínica em cães com menos de oito semanas de idade e sua significância é baixa (SANTANA, 2016).

2.2- Sinais clínicos:

Os sinais clínicos na maioria das vezes aparecem de dois a quatro dias após a exposição inicial (STROTTMAN *et al.*, 2008) e dependem da virulência do vírus, do período de incubação, da imunidade do animal e idade infectado e se pode ter presença de outros agentes (NELSON e COUTO, 2010).

No início do curso da doença (um a três dias após a infecção), ocorre uma profunda viremia antes do aparecimento da gastroenterite, e pode ocorrer hipertermia (STROTTMAN *et al.*, 2008).

Muitos animais apresentam apatia, anorexia, vômitos e nem sempre haverá diarreia nas primeiras 24 a 48 horas e pode ou não haver melena.

A diarreia pode ter diferentes, com cor amarela, traços de sangue ou até hemorragias (NELSON e COUTO, 2010; GRANO, 2009).

Os sinais clínicos mais comuns da parvovirose são hipertermia, diminuição dos leucócitos, além de sintomas cardíacos nos filhotes, anorexia, depressão, vômitos, rápida desidratação, diarreia sanguinolenta, líquida e fétida e rápido emagrecimento. (ANGELO *et al.*, 2009 e STROTTMAN *et al.*, 2008).

A leucopenia se transforma rapidamente em aumento de leucócitos devido a infecção secundária por bactérias, à medida que os sinais clínicos se tornam mais claros (STROTTMANNI *et al.*, 2008).

O parvovírus, dentre os vírus de tropismo digestivo, é o agente etiológico das afecções digestivas, responsável por altas taxas de morbidade e letalidade no interior de coletividades, relacionada com a grande resistência do vírus no meio externo (MENDES *et al.*, 2011).

2.3- Transmissão

O CPV é transmitido por contato oronasal com vômito, fezes e fômites contaminados. O vírus também pode ser propagado por roedores, pássaros e insetos (GRANO *et al.*, 2009)

O período de incubação pode variar de dois a quatro dias, embora seja mais comum cinco a sete dias. A excreção viral nas fezes começa três a quatro dias após a exposição durante o período de incubação continua intermitente por até duas semanas. Cães com infecção subclínica também excretam o vírus nas fezes. Cães infectados podem transmitir o vírus por um período de 30 dias após a infecção (ANGELO, 2009; GRANO *et al.*, 2009).

2.4- Diagnóstico

O diagnóstico rápido e definitivo da etiologia das gastroenterites é essencial para o tratamento e controle da disseminação do agente etiológico (MENDES *et al.*, 2011). O diagnóstico na maioria das vezes se dá só pelos achados clínicos apresentados no exame físico (NELSON e COUTO, 2010).

O diagnóstico clínico da parvovirose é sugestivo, mas deve sempre ser diferenciado de gastroenterites bacterianas como a salmonelose e de outras gastroenterites virais como a cinomose (ANGELO *et al.*, 2009).

2.5- Tratamento

A doença inicia de modo rápido e o tratamento deve ser imediato, pois o animal pode vir a óbito em poucos dias (SOUZA e ZAPA, 2008). O tratamento dos cães com Parvovirose consiste em medicamentos via parenteral e via enteral, sendo esta última via utilizada quando não há presença de êmese. Soluções isotônicas de sais minerais,

como de glicose e Ringer-lactato associadas a vitaminas, antibioticoterapia para evitar e/ou combater infecções, antieméticos e antipiréticos são essenciais, consistindo assim em um tratamento sintomático e sendo de suma importância a reposição eletrolítica (SOUZA e ZAPA, 2008; PRADO *et al.*,2008).

A associação de antibiótico de amplo espectro é mais indicada, como proteção contra as infecções bacterianas tais como sepse, pneumonia dentre outras que causam as patologias secundárias (FERREIRA, 2011; PRADO *et al.*,2008).

A administração é feita para cães febris ou gravemente neutropênicos. Os medicamentos usados são cefazolina, amoxicilina associado ácido clavulânico e ampicacina (PRADO *et al.*,2008; NELSON e COUTO, 2010; FERREIRA, 2011).

Caso o paciente não apresente quadro de vômito, são administrados aminoglicosídeos, (neomicina, gentamicina, ou canamicina) para a redução da flora bacteriana do trato intestinal, como medida preventiva contra a invasão sistemática dos coliformes intestinais normais, que podem levar a um choque endotóxico (PRADO *et al.*,2008).

2.6- Prognóstico

Na maioria dos casos os animais se recuperam, quando à desidratação as complicações bacterianas são controladas adequadamente. A morte da consequência da sepse bacteriana, imunossupressão e rompimento da barreira da mucosa intestinal, sendo mais comumente observada em filhotes e cães jovens (BICHARD e SHERDING, 2013).

A idade e a gravidade dos sinais clínicos podem ser utilizadas como fator de prognóstico, uma vez que a ausência de vômito e uma menor idade estão associadas a uma menor probabilidade de sobrevivência sendo que a presença de sinais da síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) na apresentação clínica foi relacionada com uma maior mortalidade e gravidade da infecção (VIEIRA *et al.*, 2011).

No estudo de Vieira *et al.* (2011), letalidade em 104 casos de gastroenterite por CPV em amostras colhidas em Portugal, durante o período de 2006 a 2009, foi de 22%. Com terapia imediata e tratamento de suporte é possível atingir taxas de sobrevivência da ordem dos 85 a 96%. Quando comparadas as taxas de sobrevivência em clínicas veterinárias com as de hospitais com cuidados intensivos, foi possível observar um aumento da taxa de sobrevivência e um aumento da duração da hospitalização (média

de 3 dias para 6 dias, respectivamente) associada aos casos hospitalares. Dadas as consequências da infecção por CPV e os elevados custos terapêuticos associados ao tratamento desta doença, os indicadores de prognóstico tornam-se muito úteis na abordagem clínica destes animais (OTTO *et al.*, 2001).

2.6- Prevenção

A desinfecção ambiental é de grande importância na prevenção da parvovirose canina, uma vez que o vírus pode persistir no ambiente de meses a anos principalmente em locais abrigados da luz solar. Essa desinfecção deve ser feita com hipoclorito de sódio uma vez que a maioria dos detergentes e desinfetantes não possui poder viricida sobre o CPC-2. A limpeza com vapor de água pode ser uma alternativa eficiente, nas superfícies e nos materiais que não tolerem a exposição ao hipoclorito de sódio (NELSON e COUTO, 2010).

O protocolo de vacinação deve ser iniciado com a vacinação quando o animal completar 45 dias de vida, com as duas doses seguintes repetidas a cada três semanas, ou seja, a aplicação da vacina deve ser realizada até o animal atingir seis, nove e doze semanas de idade. Somente depois a revacinação anual é recomendada, para reforçar o esquema inicial (ANGELO *et al.*, 2009).

A vacinação é um meio efetivo e determinante na prevenção da parvovirose canina (ANGELO *et al.*, 2009). A vacina contra a parvovirose é recomendado a ser aplicada nas fêmeas pré-cio ou pós-cio, pois recebendo uma nova dose da vacina, induzirá aumentar a imunidade no período da gestação, isto dará a oportunidade de através da circulação inter-placentaria que os filhotes nasçam com razoável imunidade passiva (SOUZA e ZAPA, 2008). Geralmente as vacinas atenuadas garantem resultados melhores e mais duradouros quando comparadas às inativadas (ANGELO *et al.*, 2009).

3. METODOLOGIA

Trata-se de um estudo descritivo realizado no Hospital Escola Veterinário Gardingo LTDA, Matipó MG, foram avaliadas as fichas clínicas dos animais atendidos no período de janeiro de 2015 a janeiro de 2017 com diagnóstico de parvovirose e gastroenterite de origens diversas ou não identificadas.

Os dados obtidos foram estratificados de acordo com idade, raça, sexo e doenças associadas. Quanto à idade, os animais foram organizados em filhote (até 12 meses de idade), adultos (acima de 12 meses a oito anos de idade) e idosos (acima de oito anos de idade). Quanto ao protocolo vacinal foram classificados como completo ético, completo não ético, incompleto ou inexistente. Em relação ao gênero foram divididos apenas como macho e fêmea, não havendo consideração se o animal era inteiro ou castrado. Os dados obtidos foram organizados e processados pelo programa *Microsoft Excel 2010 (Microsoft Office 2010)*. Foram detectadas as incidências considerando a estratificação das variáveis (sexo, raça, idade, gastroenterites diversas) proporcionalmente ao total de atendimentos de casos de parvovirose atendidos no Hospital Escola.

4.RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 352 fichas clínicas de animais atendidos no período de janeiro de 2015 a janeiro de 2017, onde 3,97% dos casos atendidos tiveram diagnóstico de gastroenterite e 3,12% tiveram diagnóstico de parvovirose canina (TABELA 1).

Tabela 1- Número de casos de gastroenterite e parvovirose canina atendidos no Hospital Escola Veterinário Gardingo LTDA

	N	%
Número total de atendimento de gastroenterite	14	3,97%
Número total de animais com diagnóstico confirmado de parvovirose	11	3,12%
Número total de atendimentos no período de janeiro de 2015 à janeiro de 2017	352	100%

Em um estudo realizado no estado do Rio de Janeiro com 341 cães de até seis meses de idade com gastroenterite, 46% dos animais foram diagnosticados com parvovirose e 54% com gastroenterites não causada pelo CPV (CASTRO *et al.*, 2007).

No estudo realizado por Santana (2016), 64% dos animais atendidos no HVET – UNB em Brasília no período de janeiro de 2014 a março de 2016, foram diagnosticados com parvovirose canina.

Com base nos estudos realizados por Santana (2016) e Castro *et al.*, (2007), pode-se considerar que os índices encontrados no Hospital Veterinário de Matipó se encontram. Isso pode ser explicado pelo baixo número de atendimentos no período em

estudo, pela falta de um diagnóstico final baseado em exames laboratoriais e pela falta de informação da população regional quanto a protocolos de vermifugação e a CPV, uma vez que tal patologia tem curso rápido podendo levar o animal a óbito em poucos dias.

As doenças gastrintestinais são as maiores casuística na clínica de cães e gatos, sendo o vômito e diarreia com sangue ou não, os sinais clínicos mais encontrados, podendo levar o animal a óbito rapidamente dependendo da causa da gastroenterite (MENDES *et al.*, 2011).

Quanto ao sexo, nota-se que a parvovirose canina teve maior incidência em cães machos (54,50%), do que em cadelas, onde a incidência foi de 45,50%. A mesma relação se estabeleceu para os casos de gastroenterite, em que a maioria dos animais acometidos eram machos (64,30%) (Figura1).

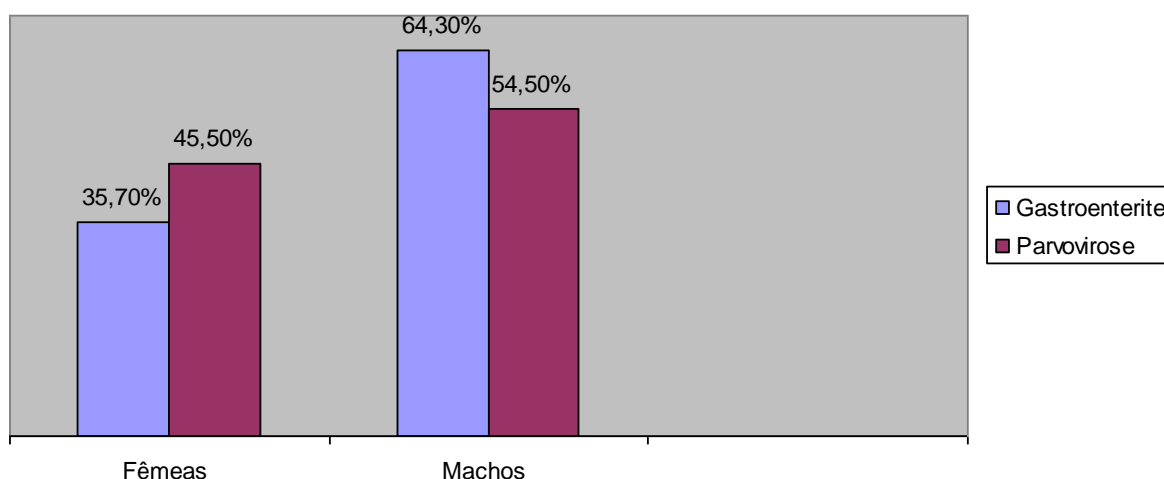


Figura 1- Porcentagem de fêmeas e machos com gastroenterite/parvovirose canina

De acordo com Couto (2010), não existe predisposição sexual para parvovirose canina e gastroenterites, podendo estas patologias afetar animais de diferentes sexos.

No estudo realizado por Reddy *et.al*, (2015) em Tirupathi e em torno da Índia, foram encontrados resultados semelhantes a este estudo onde a prevalência de CPV revelou-se maior nos cães do sexo machos (37,30%) do que nas fêmeas (27,47%).

Com relação a idade, os animais mais afetados foram os animais jovens, seguidos pelos adultos, como demonstrado na (Figura 2).

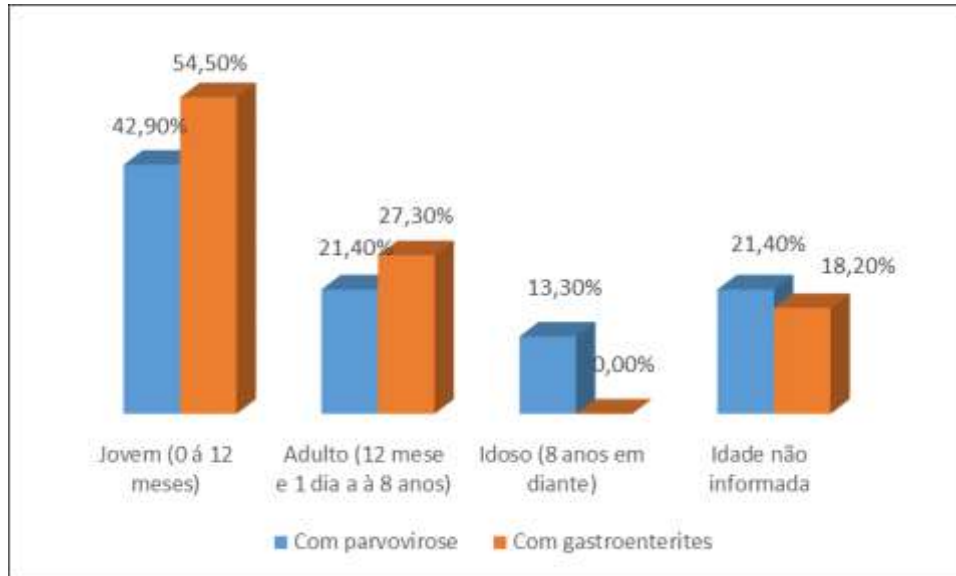


Figura 2- Idade dos animais com gastroenterite e parvovirose canina

Cães de todas as idades são vulneráveis a infecção, desde que sua imunidade seja incompleta ou ausente. Cães de 2 semanas a 6 meses são mais predispostos a ter à gastroenterites devido a interferência dos anticorpos maternos na resposta imune ativa à vacina (SELLON & CRAWFORD, 2010).

Cães adultos com imunidade parcial são susceptíveis à infecção pelo CPV, porém na maioria das vezes não há desenvolvimento de sinais clínicos ou estes são leves (GREENE & DECARO, 2012; SELLON & CRAWFORD, 2010).

De acordo com Raddy *et. al* (2015) a maior ocorrência em filhotes mais jovens pode ser devida à imunidade inata inadequada contra o vírus e à estreita afinidade do vírus da parvovirose canina com células que se dividem rapidamente no intestino em animais jovens, já a prevalência reduzida em cães acima de 1 ano pode ser devida à imunidade adquirida devido à exposição constante ao vírus de campo.

Já as gastroenterites não causadas pelo CPV tem elevada incidência, sendo os nematódeos mais encontrados em cães jovens tendo papel importante na saúde pública, visto que alguns gêneros possuem potencial zoonótico. O ascarídeo *Toxocara canis* causa alguns sinais como diarreia, perda de peso, falha no crescimento e abdômen abaulado em filhotes (SCHANTZ, 1991; JACOBS *et al.*, 1994). Em casos mais graves, há relato de obstrução e até perfuração intestinal e a transmissão das larvas pode ser transplacentária, por ingestão do leite materno, pela ingestão de ovos ou hospedeiros intermediários, como aves e roedores. Já o *Ancylostoma caninum* e o *Strongyloides stercoralis* podem também estar associados à enterite hemorrágica

podendo gerar sinais de fraqueza, palidez, diarreia, vômitos, desidratação e anemia, sendo comuns em filhotes (HALL & GERMAN, 2010).

Quanto as raças, a de maior incidência foram os cães sem raças definidas, seguido dos cães da raça Rottweiler, Boxer, Lhasa Apso e Labrador (Figura 3).

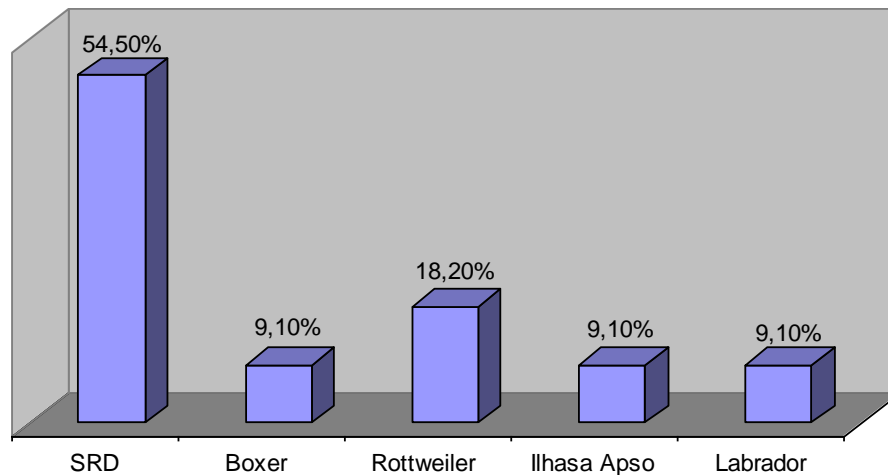


Figura 3 – Raças acometidas pela parvovirose canina

De acordo com a literatura os cães das Raça como Rottweiler, Doberman Pinscher, American Pit Bull Terrier, Labrador Retriever e Pastor Alemão são conhecidos por apresentar maior fator de risco para a enfermidade e as raças Poodle Toy e Cocker Spaniels apresentam menor risco (SELLON & CRAWFORD, 2010).

Miranda *et al.* (2016), mostraram em seus estudos que raça e sexo não tiveram influência em seus resultados. Estudos anteriores também não estabeleceram a raça como fator de risco (CASTRO *et al.*, 2007 citado por Miranda *et al.* 2016). Por outro lado, Kalli *et al.* (2010), relataram que raças puras são mais propensas a desenvolverem infecção que cães sem raça definida, pois tem menos resistência.

Foi observado que animais vacinados com vacinas não ética apresentaram maior índice de parvovirose com vacina ética (45,40%), em seguida os não vacinados com 36,40% e entre os vacinados ocorreu em apenas 18,20% (Figura 4). Estes resultados se alinham com os obtidos por Santana (2016), em que 69% (33/48) dos cães acima de quatro meses, acometidos por parvovirose, não eram vacinados ou possuíam protocolo vacinal incompleto (duas doses, uma dose ou não vacinados) e/ou não eram vacinados em clínicas veterinárias, ao passo que 23% (11/48) possuíam esquema vacinal considerado completo.

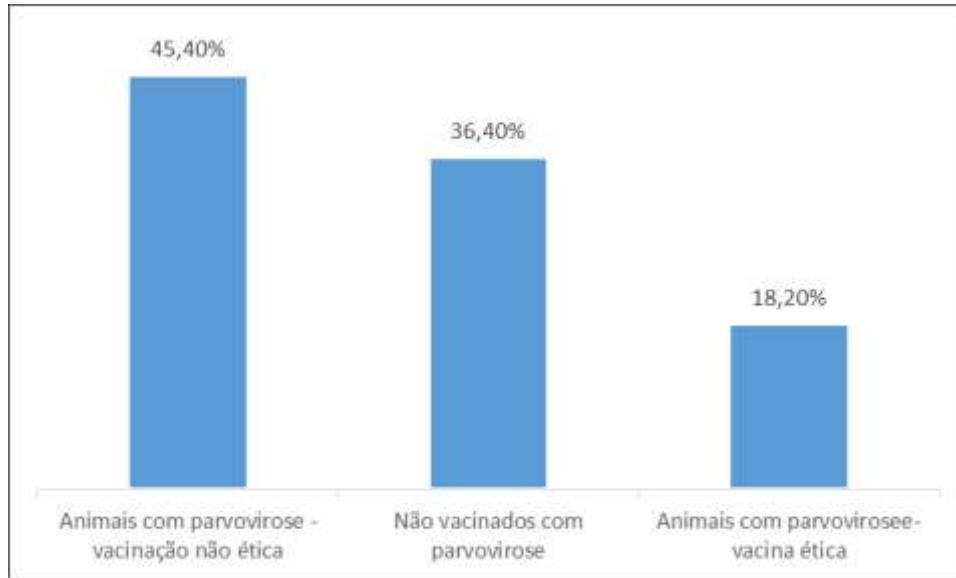


Figura 4 – Vacinação

O processo de vacinação é de suma importância na produção de anticorpos. De acordo com Souza e Zapa (2008), a vacina contra a Parvovirose deve ser aplicada preferentemente nas fêmeas pré cio ou após da gestação, mesmo que tenham sido anteriormente imunizadas, pois recebendo uma nova dose da vacina, terão sua imunidade aumentada durante a gestação, e a oportunidade de através da circulação inter-placentária garante a seus futuros filhotes uma razoável imunidade passiva.

Pereira *et al.* (2005) e Reddy *et. al* (2015) observaram que cães vacinados em clínicas veterinárias apresentaram maiores níveis de anticorpos, através da inibição de hemaglutinação, sendo que vacinas não éticas as quais não são aplicadas por médicos veterinários, não apresentam a mesma tecnologia de fabricação e qualidade de cepas, logo não conferindo uma produção de anticorpos adequada.

O fato de cães vacinados com vacina ética adquirirem a parvovirose canina é explicado pela ausência de novas variantes de CPV e coronavírus canino (CCoV), disponíveis no mercado, logo a população canina brasileira está susceptível a graves surtos, como ocorridos em vários países, comprometendo a sanidade desses animais (PINTO, 2013).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A parvovirose canina é uma doença infectocontagiosa de alta incidência nas clínicas e hospitais veterinários. No estudo retrospectivo realizado no Hospital Escola Veterinário Gardingo, os índices de gastroenterites e parvovirose canina encontra-se baixo por razões como exames laboratoriais não realizados, falta de informação da população e número de animais atendidos dentro tempo do estudo.

Os animais jovens foram os mais acometidos pela patologia o que comprova a predisposição nessa idade, uma vez que não apresentam anticorpos suficientes para combater a doença, ou mesmo não apresentam protocolo vacinal e vermifugação adequada, logo conclui-se que é de suma importância a vacinação das mães caninas para ganho de anticorpos e vacinação ética de filhotes realizado por médicos veterinários e protocolo correto de vermifugação para a prevenção e controle das gastroenterites hemorrágicas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGELO, G.; CICOTI, C. A. R.; ZAPPA, V. Parvovirose Canina – Revisão de Literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Ano VII, nº 12, p.1-7. Editora FAEF: Julho de 2009.

BICHARD, Sthepen J.; SHERDING, Robert G.. Manual Sanders Clínica de Pequenos Animais. São Paulo: Roca, 2013.

CARVALHO, O. V.*et al.* Potencial antiviral da quercetina sobre o parvovírus canino. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.2, p.353-358, 2013.

CASTRO, T. X. et. al Clinical and epidemiological aspects of canine parvovirus (CPV) enteritis in the State of Rio de Janeiro: 1995-2004. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 2, p. 333-339, 2007.

FERREIRA, M. O. **Diferentes abordagens terapêuticas em cães com parvovirose: caracterização do uso de antibióticos** [online]. 2011. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa. Disponível em: <http://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/3135>. Acesso em: 01 jun. 2017

GRANO, F.S.; HAMZÉ,A.L.;PACHECO,A.M. Gastroenterite Hemorrágica – **Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária**. Ano VII – Número 13 – Julho de 2009.

HALL, E. J. & GERMAN, A. J. Diseases of the small intestine. In S.J. Ettinger & E.C. Feldman (Eds.), **Textbook of veterinary internal medicine**, v. 2. 7.ed. St. Louis: Elsevier Saunders. p.1526-1572, 2010

JACOBS, D. E.; ARAKAWA, A.; COURTNEY, C. H.; GEMMELL, M. A.; MCCALL, J. W.; MYERS, G. H., & VANPARIJS, O. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics for dogs and cats. **Veterinary Parasitology**, v. 52, n. 3, p. 179-202, 1994.

KALLI, I.; LEONTIDES, L. S.; MYLONAKIS, M. E.; ADAMAMA-MORAITOU, K.; RALLIS, T., & KOUTINAS, A. F. Factors affecting the occurrence, duration of hospitalization and final outcome in canine parvovirus infection. **Research in veterinary science**, v. 89, n. 2, p. 174-178, 2010.

MENDES, R.S.; SOUZA, A.P.; SILVA, R.M.N.; BORGES, O.M.M.; TORRES, L.M.; DANTAS, A .K.F.P. Perfil hematológico e bioquímico de cães com gastroenterite hemorrágica por parvovírus diagnosticados pelo método de imunocromatografia. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.5, n.3, p.278-283, 2011.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais**. Tradução da 4ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

OLIVEIRA, E.C.; PESCADOR, P.A.; SONNE, L.; PAVARINI, S.P.; SANTOS, A.S.; CORBEIN, L .G.; DRIEMEIER, D. Análise imuno-histoquímica de cães naturalmente infectados pelo parvovírus canino. **Pesquisa Veterinária Brasileira** V.29,n2,p.131-136, 2009.

OTTO, C. M., JACKSON, C. B., ROGELL, E. J., PRIOR, R. B., AMMONS, W. S. Recombinant bactericidal/permeability-increasing protein (rBPI21) for treatment of parvovirus enteritis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 15, nº 4, p. 355-360. 2001.

PEREIRA, A. L. **Título de anticorpos contra o vírus da parvovirose em cães vacinados na área urbana em estabelecimentos do município de Viçosa - MG 2005**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. Disponível em: <http://www.locus.ufv.br/handle/123456789/5004> Acesso em: 20 maio 2017

PRADO, M. O.; SPIGOLON, Z.; FERRARI, M. L. O.P.; PICCININ, A. PARVOVIROSE. **Revista Científica Eletônica de Medicina veterinária**. ANO VI, Nº10, p.1-5 Editora FAEF: 2008.

PINTO, L.D. **Detecção e caracterização de Parvovirus canino e coronavirus canino**. Tese doutorado Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de veterinária, Programa de pós graduação em ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR, 2013.

REDDY, K. B. et. al. Prevalence of Canine ParvoViral/Infection in Dogs In and Around Tirupathi of India. **International Journal of Livestock Research**. Vol 5(3) March'15

SCHANTZ, P. M. Parasitic zoonoses in perspective. **International Journal for Parasitology**, v. 21, n. 2, p. 161-170, 1991.

STROTTMANN, D.M.; SCORTEGAGNALL,G.; KREUTZII,L.C.; BARCELLOS,L.J.G.; FRANDOLOSO,R.; ANZILI, E.R.O.D. Diagnóstico e estudo sorológico da infecção pelo parvovírus canino em cães de Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v.38, n.2, mar-abr, 2008.

SANTANA, R. B. **Estudo retrospectivo de casos de gastroenterite hemorrágica em cães filhotes atendidos no Hvet - UnB.** / Rosália Bezerra de Santana; orientação de Christine Souza Martins. – Brasília, 2016

SOUZA, J.M.; ZAPPA, V. Parvovirose Canina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária.** Ano VI, nº 11, p. 1-4. Editora FAEF: 2008.

SELLON, R. K. & CRAWFORD, C. P. Canine Viral Diseases. In: S.J. Ettinger & E.C. Feldman. **Textbook of veterinary internal medicine, volume 1.** 7 ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2010. p. 959, 960.

VIEIRA MJ. **Parvovirose Canina** . Tese de doutorado em Ciências Veterinárias. Instituto de Ciências Médicas Abel Salazar, Universidade do Portugal, 2011

HISTOGRAMA DE CÓRTEX RENAL EM CADELAS COM PIOMETRA, COMO AUXÍLIO DIAGNÓSTICO

Acadêmicos: Raquel Garcia Lima Rodrigues e Suelen Martins Romualdo

Orientadora: Mayara Cristini Ferreira de Aguiar

RESUMO

A piometra é caracterizada pelo acúmulo de exsudato purulento uterino em consequência de uma infecção bacteriana, muitas vezes por bactérias oportunistas presentes no trato genital. O diagnóstico desta afecção pode ser dado através da ultrassonografia, que é um exame complementar não invasivo, prático, que não necessita na maioria das vezes de contenção química. O tratamento pode ser terapêutico ou cirúrgico. Como consequência da resposta do sistema imune a esta doença, ocorre a deposição de imunocomplexos nos rins, podendo causar glomerulonefrite. Para diminuir a subjetividade da ultrassonografia temos o histograma que avalia a ecogenicidade e a ecotextura do órgão, mostrando dessa forma possíveis alterações estruturais e funcionais dos rins. No presente estudo foram coletadas imagens ultrassonográficas longitudinais do córtex renal direito e esquerdo, de cadelas com idade entre 6 meses e 10 anos, que foram diagnosticadas com piometra e de cadelas híginas, e feito o histograma de cada imagem. Após obtermos os valores de ecogenicidade e feito análise estatística não foi detectado diferença significativa ($p < 0,05$). Não houve diferença estatística. Mas isso pode se dever a artefatos, ao número de animais utilizados no estudo, entre outros fatores. São necessárias mais investigações para determinar a real eficiência do histograma.

PALAVRAS- CHAVE: Glomerulonefrite; Imunocomplexos; Ultrassonografia; Rins.

1. INTRODUÇÃO

A piometra é que o acúmulo de pus na cavidade uterina, sendo resultado de uma infecção bacteriana (CHEN *et al.*, 2007). A principal bactéria encontrada na piometra é a *Escherichia coli*, porém, outras bactérias podem estar associadas a esta patologia, como por exemplo: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Proteus* e *Pasteurella* (GARCIA *et al.*, 2009), estas, desencadeiam a formação de imunocomplexos (OLIVEIRA, 2007). A deposição de imunocomplexos nos glomérulos indica o comprometimento da função renal, devido às endotoxinas decorrentes da infecção, processo que acarreta a azotemia renal, devido o déficit de perfusão dos glomérulos (CHEN *et al.*, 2007). Alguns achados comuns nestes casos são: poliúria, polidipsia, letargia, vômito, anorexia, proteinúria e azotemia pré-renal devido à desidratação (SANTOS *et al.*, 2013). Outro fator predisponente para a ocorrência da piometra é a hiperplasia endometrial cística (OLIVEIRA, 2007) e acompanhada de infecção bacteriana secundária pode levar à septicemia (LARA *et al.*, 2008).

A fisiopatologia da doença tem se mostrado complexa e dependendo do estado do paciente e do tempo de progressão, podem ser acometidos outros órgãos como rins e fígado (GARCIA FILHO *et al.*, 2012). Estudos histopatológicos revelam diferentes extensões de injúria tubulointersticial nos rins das cadelas acometidas com piometra (SANTOS, 2013). A apresentação clínica pode evoluir para choque e morte (GARCIA FILHO *et al.*, 2012).

Um método muito utilizado na clínica para o diagnóstico de piometra e alterações renais é o exame ultrassonográfico, que permite a avaliação da estrutura de diversos órgãos de maneira não invasiva (SILVA *et al.*, 2015b). O aparelho de ultrassonografia permite a confecção de histogramas, que avaliam a ecogenicidade e ecotextura de órgãos e tecidos (SANTOS *et al.*, 2009).

Dessa forma objetiva-se com este trabalho verificar a possibilidade de diagnóstico precoce de alterações renais decorrentes da piometra, por meio da avaliação de ecogenicidade do córtex renal utilizando o histograma.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. PIOMETRA

A piometra é caracterizada por ser uma doença em que há acúmulo de exsudato purulento uterino causado por uma série de fatores que vão desde a idade, quantidade de ciclos estrais, fatores hormonal e presença de bactérias no interior do útero (OLIVEIRA, 2007). A piometra pode se apresentar com a cérvix aberta e presença de secreção vaginal ou fechada sem presença de secreção (CHEN *et al.*, 2007).

Normalmente a lesão primária que levará a ocorrência da piometra é a hiperplasia endometrial cística, devido exposição repetida à progesterona que estimula a secreção e a atividade proliferativa das glândulas endometriais (GARCIA *et al.*, 2009), que ocorre comumente em cadelas mais velhas com mais de sete anos (CHEN *et al.*, 2007). O diestro particularmente longo também predispõe a piometra (GARCIA *et al.*, 2009). Além disso, a piometra pode ocorrer devido ao tratamento hormonal com contraceptivos, pois o estrógeno exógeno aumenta o número de receptores de progesterona no útero (CHEN *et al.*, 2007).

A fisiopatologia desta doença tem se mostrado cada vez mais complexa, podendo com o tempo, estado do paciente e evolução acometer e influenciar a

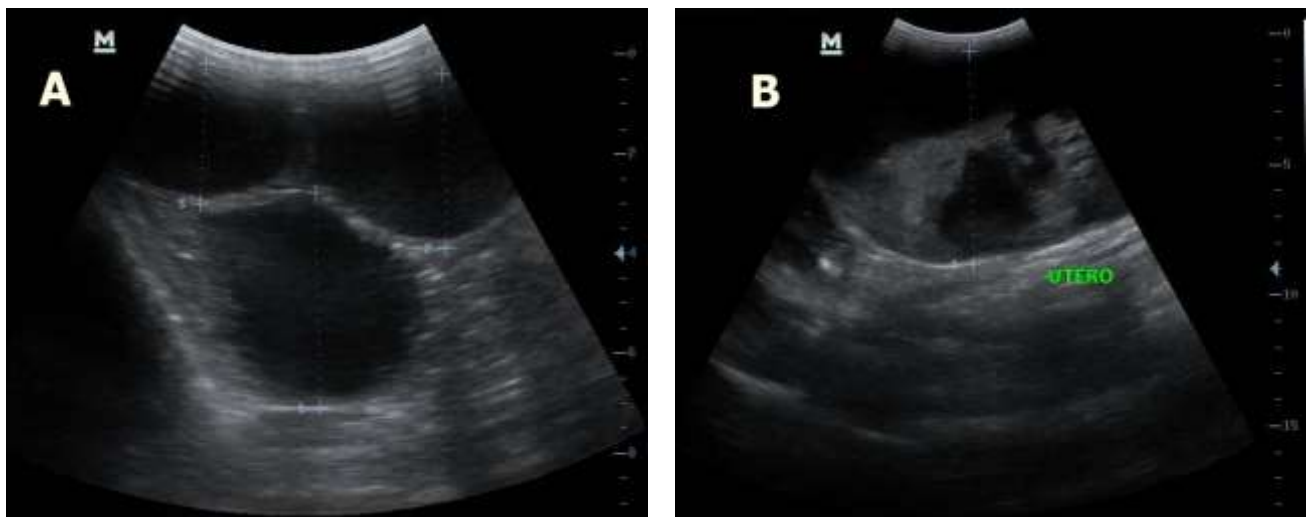
funcionalidade de outros órgãos como rins, fígado (GARCIA FILHO *et al.*, 2012), aparelho digestório e cardíaco (TONIOLLO *et al.*, 2000).

A *Escherichia coli* é a bactéria mais comumente encontrada na piometra, porém outras bactérias também são isoladas, estas fazem parte da microbiota comum do trato genital das fêmeas, porém são oportunistas do evento; entre elas se destacam: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp*, *Pseudomonas spp* e *Proteus spp* (GARCIA FILHO *et al.*, 2012).

Os sinais clínicos da piometra variam de acordo com a gravidade, sendo os mais comuns: letargia, poliúria, polidipsia, anorexia, depressão (OROZCO *et al.*, 2005).

A ultrassonografia é o método mais eficaz para o diagnóstico da piometra visto que se pode observar a distensão dos cornos uterinos e corpo do útero apresentando conteúdo anecóico ou hipoeicoico (FIGURA 1) (REUSING *et al.*, 2015).

Figura 1: Imagens ultrassonográficas obtidas do aparelho de ultrassom Mindray Z6 Vet, utilizando-se



probe convexa com frequência 7,5 mHz, no Hospital Escola Veterinário da Faculdade Univértix de útero canino com piometra. A: Corte transversal de corno uterino esquerdo, preenchido com conteúdo anecóico. Imagem em “Favo de mel”. B: Corte longitudinal de corno uterino preenchido por conteúdo anecoico, com endométrio hiperplásico e irregular.

O diagnóstico também pode ser baseado nos sinais clínicos, radiografias, exames laboratoriais como hemograma, bioquímica sérica e citologia vaginal. Os achados no hemograma normalmente são: leucocitose com neutrofilia e desvio a esquerda, monocitose e anemia não regenerativa. No perfil bioquímico sérico terá hiperproteinemia, azotemia pré-renal e aumento da fosfatase alcalina (GARCIA FILHO *et al.*, 2012).

O tratamento da piometra pode ser terapêutico ou cirúrgico, isso dependerá de uma série de fatores. A ovariosalpingohisterectomia (OSH) é recomendada quando a piometra é fechada, quando a inflamação já está em grau avançado, quando o paciente é idoso, e quando o proprietário não tem interesse em reproduzir (OLIVEIRA, 2007). No tratamento medicamentoso é descrito a utilização de prostaglandinas, e antiprogesteronas como a aglepristone, e pode ser indicado para cadelas de alto valor econômico onde a cirurgia não é uma opção (MOLINA, 2015). A escolha de utilização de antimicrobianos depende da experiência do médico veterinário, porém a conduta mais adequada continua sendo a realização da OSH (GARCIA *et al.*, 2009).

2.2. INSUFICIÊNCIA RENAL AGUDA

A insuficiência renal aguda (IRA) é uma das principais complicações da piometra, trata-se de uma lesão secundária. A injúria renal está relacionada principalmente às bactérias gram negativas como a *E. coli*, pois estas, liberam endotoxinas que causarão glomerulonefrite por deposição de imunocomplexos, estes são componentes da parede celular de bactérias gram negativas junto às imunoglobulinas (SILVA *et al.*, 2015a), ou seja, a insuficiência renal é resultante de uma glomerulonefrite de origem imunológica (SILVA *et al.*, 2015c).

Uma das consequências da inflamação renal é depressão do hormônio antidiurético, alterando os fenômenos da reabsorção líquida, tendo como consequência poliúria e polidipsia compensatórias (SILVA *et al.*, 2015c). Um dos primeiros exames complementares solicitados para avaliação dos rins é a ultrassonografia, devido às informações que pode sugerir a respeito da topografia, dimensões, contornos e arquitetura interna (SILVA *et al.*, 2008).

Os sinais da piometra podem evoluir para choque ou morte principalmente devido a IRA, elevando a mortalidade (EVANGELISTA *et al.*, 2010).

2.3. ULTRASSONOGRAFIA E HISTOGRAMA

A ultrassonografia é um método de diagnóstico por imagem não invasivo que avalia diferentes órgãos e estruturas corpóreas (PEREIRA *et al.*, 2011) identificando condições patológicas e apresentando as condições fisiológicas dos tecidos quando realizada de forma dinâmica (PEIXOTO *et al.*, 2010).

O exame ultrassonográfico por si só se torna muito subjetivo e individual o que faz com que venhamos a recorrer a técnicas mais específicas como o histograma que irá quantificar ecogenicidade e textura (VESCOVI *et al.*, 2009) de uma região selecionada demonstrando a distribuição de frequência na intensidade de eco, mostrando assim a variação dos espectros de cinza que compõe a imagem da área selecionada. Essa escala de cinza começa no preto absoluto que é representado por 0 (zero) e vai até 255 (duzentos e cinquenta e cinco) que é completamente branco (SANTOS *et al.*, 2009).

A ecogenicidade é quantificada a partir da quantidade de ecos que retornam ao transdutor (medida de Lmean) e a ecotextura é determinada pela quantidade de pontos luminosos que mais se repetem na região selecionada (medida de Nmost/Nall) e pela diferença de amplitude de ecos ultrassonográficos que retornam ao transdutor e formam a imagem selecionada (VESCOVI *et al.*, 2009). O desvio padrão da amplitude do eco “STANDARD DEVIATION” (SD) constitui outro valor referente à ecotextura, devido ao fato de mensurar a amplitude que o eco variou. Quanto menor o valor SD mais homogênea é a imagem. Valores baixos do LMEAN apontam imagens mais escuras, e médias altas, correspondem à imagens mais claras. O eixo X do gráfico do histograma representa os níveis de cinza, e o eixo Y a quantidade de pixel para cada nível de cinza (SANTOS *et al.*, 2009). Este tipo de análise pode dar informações úteis sobre a estrutura e condições funcionais do órgão (SILVA *et al.*, 2015b).

O histograma está disponível em muitos modelos comerciais de aparelhos ultrassonográficos, mas sua aplicação tem sido restrita ao meio acadêmico, necessitando de valores padronizados para uso na prática clínica. As confecções de protocolos experimentais são descritos tanto na medicina humana quanto na medicina veterinária (MONTEIRO *et al.*, 2010).

3. METODOLOGIA

Participaram deste estudo 15 cadelas de raças distintas, com idade entre 6 meses e 10 anos, diagnosticadas com piometra, provenientes da rotina do Hospital Escola Univértix de Matipó, e 6 cadelas híginas foram utilizadas como grupo controle, entre o período de julho de 2015 e março de 2017.

Foram utilizadas imagens ultrassonográficas longitudinais do córtex dos rins esquerdo e direito, de cadelas que foram diagnosticadas com piometra e que estão

registradas no aparelho de ultrassom do Hospital Veterinário. As cadelas híidas passaram por ultrassonografia para obtenção de imagens longitudinais do córtex renal esquerdo e direito de cada uma. Posteriormente foram realizados os histogramas das imagens, análise comparativa e verificado o grau de acometimento do rim das cadelas doentes, com o objetivo de se obter valores que possam sugerir variações na ecogenicidade do parênquima renal, evitando dessa forma a subjetividade da avaliação ultrassonográfica (BELOTTA *et al.*, 2014).

Para a avaliação ultrassonográfica renal das cadelas híidas foi utilizado um aparelho de ultrassom portátil (Modelo: MindRay Z6 Vet) (FIGURA 2), com transdutor linear reto e linear convexo de 7,5MHz de frequência, sendo os animais mantidos em decúbito dorsal e contidos manualmente, sem utilização de tranquilizantes. Para avaliação da ecogenicidade do córtex renal (CR), foi realizada a tricotomia abdominal, e então aplicada uma camada de gel de carboximetilcelulose sobre a topografia renal na região hipocondríaca direita onde se encontra o rim direito, e na região lateral esquerda onde se encontra o rim esquerdo, o transdutor foi posicionado longitudinalmente ao maior eixo, sendo realizada a varredura eletrônica no plano sagital (FIGURA 3).



Figura 2: Aparelho de ultrassom portátil (Modelo: MindRay Z6 Vet) do Hospital Escola Veterinário da Faculdade Univértix.

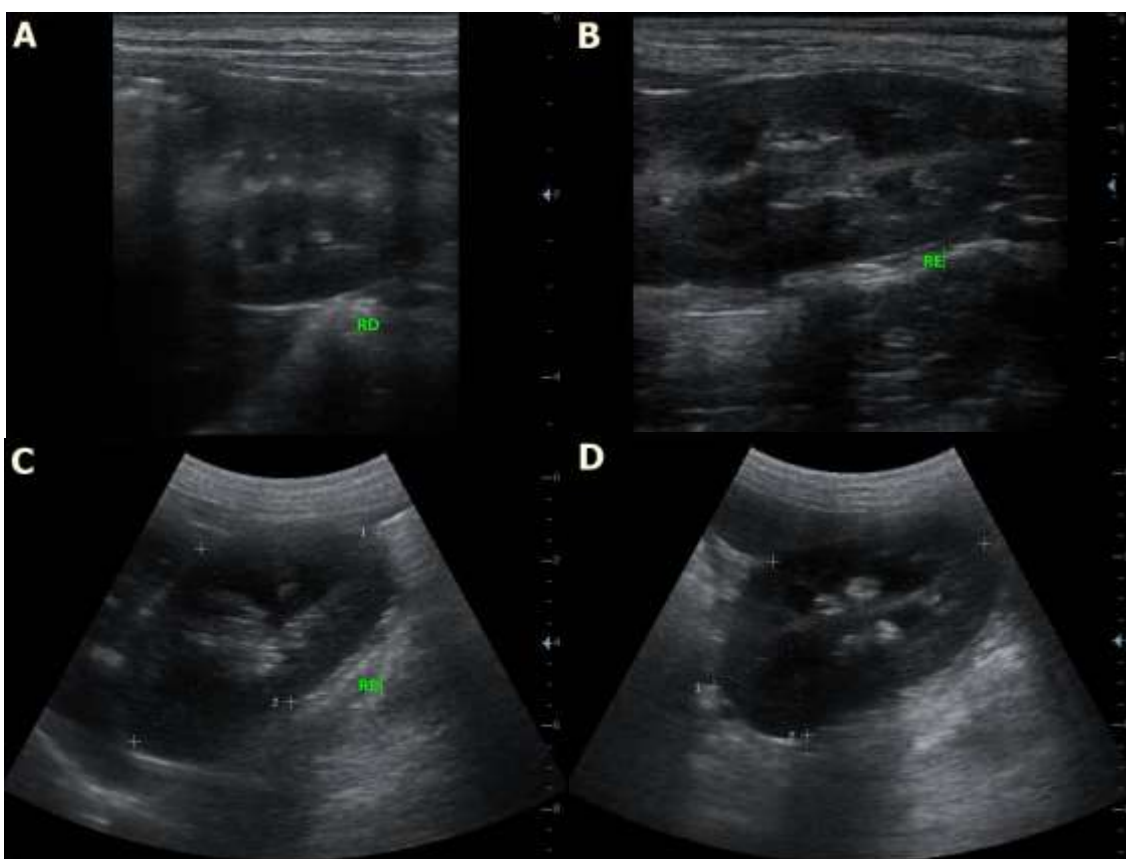


Figura 3: A: Corte longitudinal de rim direito de cadela hígida. B: Corte longitudinal de rim esquerdo de cadela hígida. C: Corte longitudinal de rim direito de cadela com piometra. D: Corte longitudinal de rim esquerdo de cadela com piometra. Imagens ultrassonográficas obtidas do aparelho de ultrassom Mindray Z6 Vet, utilizando-se as probes convexa e linear reta com frequência 7,5 mHz.

Para minimizar as variáveis que poderiam interferir nos resultados, todas as varreduras foram realizadas pelos mesmos operadores e o aparelho de ultrassom calibrado da mesma forma quanto ao posicionamento do foco principal e a intensidade de brilho e contraste. As imagens capturadas foram transferidas para um dispositivo móvel de armazenamento, e posteriormente foram analisadas em computador por meio da extensão CollorZilla para o navegador Google Chrome e do site Binary Hex Converter (<http://www.binaryhexconverter.com/hex-to-decimal-converter>).

Para elaboração do histograma, foram selecionadas três áreas de interesse em cada plano longitudinal de varredura dos rins de cada animal, sendo um ponto em terço cranial, um ponto em terço médio e uma em terço caudal do córtex renal. Ao final foi calculada a média das três aferições. A delimitação foi realizada utilizando área selecionada com o posicionamento do cursor. A escala utilizada para mensurar o percentual de tonalidade de cinzas (intensidade de pixels da imagem) deve variar de 0

a 12705787, indicando respectivamente, imagem totalmente anecóica e imagem hiperecogênica.

Para avaliação estatística foi realizado teste t pareado para comparação das médias entre as amostras do grupo controle e do grupo teste. As análises foram realizadas utilizando o pacote estatístico Microsoft Office Excel 2007, com nível de significância mínima de 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Segundo Belotta (2014), o histograma avalia a ecogenicidade do parênquima dos órgãos abdominais para se obter valores que possam sugerir alterações. O objetivo desta técnica é quantificar os níveis de cinza ultrapassando a barreira da subjetividade do exame ultrassonográfico (VESCOVI *et al.*, 2009).

A avaliação das imagens obtidas por meio da técnica de histograma demonstrou que não houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os valores médios de ecogenicidade do grupo composto por animais saudáveis e do grupo de animais doentes nas regiões de polo cranial e polo caudal de rim esquerdo e rim direito. Os valores de ecogenicidade de terço médio de rim esquerdo também não apresentaram diferença estatística (TABELAS 1, 2 e 3).

Tabela 1: Médias globais de ecogenicidade de rim direito.

Rim direito			
	Polo Cranial	Polo caudal	Média global
Doentes	1623109,833 ^a	1842419,833 ^a	1396460,722 ^a
Saudáveis	2215307,333 ^a	2044210,867 ^a	2159737,178 ^a

a - valores seguidos por letras diferentes diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

Tabela 2: Médias globais de ecogenicidade de rim esquerdo.

Rim esquerdo			
	Polo Cranial	Polo caudal	Média global
Doentes	2379729,333 ^a	1469636 ^a	1820488,833 ^a
Saudáveis	2443389,733 ^a	1750489,733 ^a	2086679,578 ^a

a - valores seguidos por letras diferentes diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

Tabela 3: Médias globais de ecogenicidade de terço médio de rim esquerdo.

	Rim esquerdo
	Terço médio
Doentes	1612101,167 ^a
Saudáveis	2066159,267 ^a

a – valores seguidos por letras diferentes diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

Apesar de não haver diferença estatística no presente trabalho, o histograma tem se revelado uma ferramenta muito eficaz na percepção de alterações que o exame ultrassonográfico não é capaz de detectar. O ultrassom é um procedimento que permite visualizar indicativos de doenças renais, como: aumento ou diminuição da ecogenicidade do córtex renal, perda de definição corticomedular, contornos irregulares, dimensões alteradas e presença de sinal de margem ou banda (SILVA, *et al.*, 2008). Porém o exame ultrassonográfico simples, sem avaliação Doppler, não é capaz de perceber as variações iniciais decorrentes do envolvimento renal na piometra. Por meio da avaliação Doppler pode-se avaliar a hemodinâmica do fluxo sanguíneo dos rins e a anatomia em tempo real (SANTOS *et al.*, 2013).

A avaliação Doppler se mostrou precoce em experimento conduzido por Bragato (2015), revelando alterações precoces dos índices Doppler, tais como índices de resistividade (IR), pulsabilidade (IP), pico da velocidade sistólica, do final da velocidade diastólica e a da média de tempo máximo de velocidade.

A ultrassonografia junto ao histograma não foi eficiente na detecção de alterações estruturais, porém exames laboratoriais como hemograma completo e bioquímico sérica são capazes de detectar alterações funcionais decorrentes de glomerulopatias, como: leucocitose, neutrofilia com desvio a esquerda e azotemia renal (CAMPOS *et al.*, 2016).

Em um estudo avaliando 351 cadelas diagnosticadas com piometra, dentre elas, 132 animais apresentaram creatinina $\geq 2,4$ mg/dL e/ou ureia ≥ 80 mg/dL e/ou aumentos relativos de 100% de creatinina e/ou ureia séricas, sendo que 81 apresentaram estas alterações no momento do diagnóstico; 39 cadelas 24 horas após a OSH e apenas 12 na remoção da sutura cutânea, demonstrando o impacto da piometra sobre o funcionamento renal a curto e a longo prazo (FERREIRA *et al.*, 2010).

Segundo Kealy *et al.*, (2012) glomerulonefrite de origem aguda ou crônica pode vir a apresentar na ultrassonografia halos de maior ecogenicidade na parte externa da

medula ou na junção cortico-medular, entretanto no presente trabalho não foram descritas alterações compatíveis com a relatada na literatura.

A avaliação ultrassonográfica por meio de histograma na região de terço médio do rim direito demonstrou diferença estatística entre as médias avaliadas de cadelas com piometra e saudáveis (TABELA 4).

Tabela 4: Médias globais de ecogenicidade de terço médio de rim direito que demonstrou diferença estatística.

Rim direito	
Terço médio	
Doentes	723852,5 ^a
Saudáveis	2219693,333 ^b

a; b - valores seguidos por letras diferentes diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

Apesar de a ultrassonografia ser uma excelente ferramenta na avaliação dinâmica de diversas estruturas, ela apresenta como uma desvantagem a possível interferência de artefatos que podem se formar na imagem por diversos motivos, não traduzindo de forma fiel a real imagem. Alguns dos motivos de se ocorrer esse tipo de situação é incidir o feixe de ultrassom em ângulo incorreto, presença de gás, ou áreas mineralizadas, entre outros motivos (KEALY *et al.*, 2012). A diferença estatística neste trabalho pode-se dever a artefatos ultrassonográficos, pois se obteve em uma das imagens analisadas um sombreamento acústico (FIGURA 3).



Figura 3: Corte longitudinal de rim direito de cadela hígida. Imagem com artefato de sombra acústica de terço médio.

Para minimizar a ocorrência de artefatos deve-se proceder com tricotomia e limpeza de pele bem feita, o uso abundante de gel, para um bom contato acústico para a formação de uma melhor imagem. A manipulação habilidosa e a experiência do ultrassonografista também são fatores que contribuem para a diminuição deste tipo de interferência (CARVALHO, 2004).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo não foram detectadas diferenças estatísticas na avaliação de córtex renal de cadelas com piometra em comparação à cadelas saudáveis por meio do histograma. Diante das análises feitas das imagens ultrassonográficas através do método de histograma e dos resultados estatísticos, é possível concluir que são necessárias mais investigações, visando diminuir interferências como artefatos e aumentar o número de animais avaliados para determinar a real eficiência do histograma no diagnóstico precoce de afecções renais.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELOTTA, A. F.; SARTO, C. G.; MAMPRIM, M. J.. Avaliação Quantitativa da Ecogenicidade Hepática de Cães Obesos com Infiltração Gordurosa Sugerida ao Ultrassom. **IV Simpósio Internacional de Diagnóstico por Imagem Veterinário** - Belo Horizonte – 2014.

BRAGATO, N. **Ultrassonografia em Modo B em Modo Doppler Pulsado para Avaliação da Injúria Renal Aguda Induzida em Cães**. 2015. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Universidade Federal De Goiás - Escola De Veterinária E Zootecnia.

CAMPOS, L. G. M. de; ASSIS, M. M. Q.; GASPARI, R. de; MARANGON, W. F.; LUZ; J. C. dos S. da. Diagnóstico Clínico de Insuficiência Renal Associada a Piometra. **Anais do VII CONCCEPAR: Congresso Científico da Região Centro Ocidental do Paraná** / Faculdade Integrado de Campo Mourão – 2016.

CARVALHO, C.F. **Ultra-sonografia em Pequenos Animais**. São Paulo: Roca, 2004.

CHEN, R. F. F.; ADDEO, P. M. D.; SASAKI, A. Y. Piometra Aberta Em Uma Cadela de 10 Meses. **Revista Acadêmica**. v. 5, n. 3, p. 317-322, jul./set. Curitiba, 2007.

COGGAN, J. A.; MELVILLE P. A.; OLIVEIRA C. M. de; FAUSTINO M.; MORENO A. M.; BENITES N. R.. Microbiological And Histopathological Aspects Of Canine Pyometra. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 39, p.477-483, 2008.

EVANGELISTA, L. S. de M.; QUESSADA, A. M.; ALVES, R. P. A., LOPES, R. R. F. B.; GONÇALVES, L. M. F.. Função Renal em Cadelas com Piometra Antes e Após Ovariosalpingohisterectomia. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.4, n.3, p.153-161, 2010.

FERREIRA, P. C. DE C.; STOPIGLIA, A. J.; OLIVEIRA, C. M. DE; ANDRADE, L. da C.; FANTONI, D. T.; BARBOSA, D.; FAUSTINO, M.; TALIB, M. S. F.; SCHINIZU, M. H. M.. Avaliação da Terapia com Fluido no Período Perioperatório da Ovariosalpingohisterectomia , em Cadelas com Piometra e Insuficiência Renal Aguda. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 4, p. 282–292, 2010.

GARCIA, C. Z.; NOGUEIRA, A. R.; PINHEIRO JÚNIOR, O. Á. Piometra Aberta em Cadela – Relato de Caso. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Ano VII – Número 13 – Julho de 2009.

GARCIA FILHO, S. P. G.; MARTINS L. L.; MACHADO A. S.; MACHADO M. R. F.. Piometra em Cadelas: Revisão de Literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Ano IX N. 18. Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia de Garça – FAMED/FAEF. Janeiro de 2012.

KEALY, J. K.; MCALLISTER, H.; GRAHAM, J. P.. **Radiografia e Ultrassonografia do Cão e do Gato**. 5ª Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

LARA, V.M.; DONADELI, M.P.; CRUZ, F.S.F.; CARREGARO, A.B.. Multirresistência Antimicrobiana em Cepas de *Escherichia Coli* Isoladas de Cadelas com Piometra. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.4, p.1032-1034, 2008.

MOLINA, V.. Eficacia del aglepristone con y sin cloprostenol en el tratamiento del piómetra canino. **Revista MVZ Córdoba**. Vol. 20 n.2, p. 4636-4645, Maio - Agosto 2015.

MONTEIRO, J. N. M.; SANTOS, W. G. dos; OLIVEIRA, D. C.de; BORLINI, D. C.; MARTINS FILHO, S.; MACHADO, F. M.; COSTA, F. S.. Ultrassonografia quantitativa do fígado de gatos hípidos – Nota prévia. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v. 47, n. 5, p. 367-370, 2010.

OLIVEIRA, K. de S.. Complexo hiperplasia endometrial cística. **Acta Scientiae Veterinariae**. V. 35, p.270-272, 2007.

OROZCO, S. C.; QUIROZ, V. H.; GÓMEZ, L. F.; VILLEGAS, J. P.. Piómetra y gestación simultáneos en una perra: reporte de un caso. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias** Vol. 18, n.2, 2005.

PEIXOTO, G. C. X.; LIRA, R. A.; ALVES, N. D.; SILVA, A. R.. Bases Físicas da Formação da Imagem Ultrassonográfica. **Acta Veterinária Brasileira**, v.4, n.1, p.15-24, 2010.

PEREIRA, B. J.; NUNES, L. de C.; MARTINS FILHO, S.; COSTA, F. S.. Avaliação dos Efeitos da Terapia com Prednisona em Cães Utilizando Análises Ultrassonográfica, Citopatológica e Histopatológica. **Revista Ceres**. Viçosa, v. 58, n.5, p. 561-566, setembro/outubro, 2011.

REUSING, M. S. O.; PONCZEK, C. A. C.; SILVA, D. M. da; OLIVEIRA, D. M.; SOUSA, M. C., R. S.; DITTRICH, R. L.; S. D. GUERIOS. Teste Rápido Para Detecção da Proteína C-Reativa (Fastest® Crp Canino) Como Auxílio Diagnóstico de Piometra em Cadelas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. V.35, n.12, p.975-979, Dezembro, 2015.

SANTOS, R. V.; MERLINI, N. B.; SOUZA, L. P.; MACHADO V. M. V.; PANTOJA, J. C. de F. e PRESTES, N. C.. Ultrassonografia Doppler na Avaliação Renal de Cadelas Diagnosticadas com Piometra Antes e Após Tratamento com Ovariosalpingohisterectomia. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.33, n.5, p.635-642. Maio, 2013.

SANTOS, W. G. dos; MONTEIRO, J. N. M.; OLIVEIRA, D. C. de; BORLINI, D. C.; MARTINS FILHO, S.; MACHADO, F. M.; NUNES, L. de C.; COSTA, F. S.. Ultrassonografia Quantitativa do Fígado em Gatos com Tirotoxicose Induzida. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v. 46, n. 6, p. 438-447, 2009.

SILVA, A. K. DA; TANAKA, F. Y. R.; PELEGRINI, J. C.; SANTANA, N. F.,; SANT' ANNA, M. C.. Insuficiência Renal em Cadelas com Piometra por Bactérias Gram Positivas. **42º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária e 1º Congresso Sul-Brasileiro da ANCLIVEPA** - Curitiba – PR, 31/10 a 02/11 de 2015. (a)

SILVA, E. G.; GONÇALVES, M. T. C.; PINTO, S. C. C.; SOARES, D. M.; OLIVEIRA, R. A.; ALVES, F. R.; ARAÚJO, A. V.C.; GUERRA, P. C.. Análise quantitativa da ecogenicidade testicular pela técnica do histograma de ovinos da baixada ocidental maranhense. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 35, n.3, p.297-303. Março, 2015.(b)

SILVA, T. F. da; VELASKI, C.; BORGES, L. F. K.. Piometra e Insuficiência Renal em Cadela - Relato De Caso. **XX Seminário Interinstitucional de Ensino, Pesquisa e Extensão**. Unicruz – Rio Grande do Sul, outubro de 2015. (c)

SILVA, V. C. DA; MAMPRIM, M. J.; VULCANO, L. C.. Ultra-Sonografia no Diagnóstico das Doenças Renais em Pequenos Animais. **Veterinária e Zootecnia**. v.15, n.3, dez., p.435-444, 2008.

TONIOLLO G. H. ; FARIA JUNIOR, D. de ; LEGA E. ; BATISTA C. M.; NUNES N.. Piômetra na espécie felina – Relato de um caso em *Panthera onca*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. V.37, n.2 São Paulo, 2000.

VESCOVI, L. A.; MONTEIRO, J. N. M.; SANTOS, W. G. dos; OLIVEIRA, D. C. de; BORLINI, D. C.; MACHADO, F. M.; MARTINS FILHO S.; COSTA F. S.. Ultrassonografia Quantitativa do Baço de Gatos Normais. **Veterinária em Foco**. Canoas, v.7, n.1. Julho/dezembro, 2009.

INTUSSUSCEPÇÃO JEJUNOJEJUNAL SECUNDÁRIA À INFECÇÃO POR *Parascaris equorum* EM POTRA – RELATO DE CASO

Acadêmicos: Eliza Frances do Nascimento Vieira e Jamily de Oliveira Horst

Orientadora: Bruno Santos Cândido de Andrade

RESUMO

O abdome agudo equino ou síndrome cólica é uma das principais condições que requerem atendimento de emergência na espécie equina, caracterizada por um conjunto de sinais clínicos que refletem a dor relativa ao trato gastrointestinal ou anexo, sendo desencadeada por diversos fatores como produção excessiva de gases, fermentação de alimentos, obstruções e torções intestinais. As intussuscepções são acidentes intestinais incomuns que podem desenvolver-se espontaneamente ou de forma secundária a distúrbios de motilidade intestinal causado por enterites e infecções por helmintos. O objetivo desse trabalho é descrever o atendimento clínico e tratamento cirúrgico de uma potra referenciada ao Hospital veterinário da Univértix com sinais clínicos de cólica por intussuscepção secundária ao parasitismo por *Parascaris equorum*.

PALAVRAS-CHAVE: Ascarídeos; Cólica equina; Manejo; Obstrução.

1. INTRODUÇÃO

As afecções que compreendem o sistema digestório de equinos, tais como cólica, diarreias e as enterotoxemias equivalem a 50% dos atendimentos clínicos em equinos que resultam em morte (LARANJEIRA *et al.*, 2009).

Os equinos possuem particularidades anatômicas que em conjunto com falhas no manejo vão predispor a alterações morfológicas e fisiológicas do aparelho digestório responsáveis por sinais de dores abdominais intensas, conhecidas como abdômen agudo ou síndrome cólica (DI FILIPPO *et al.*, 2009).

A cólica por relacionar fatores de natureza e grandeza distintos apresenta patogenia variável desde um distúrbio passageiro à episódios de difícil resolução constituindo assim uma afecção severa e comum na clínica de equinos (DI FILIPPO *et al.*, 2010).

Diversos fatores podem estar relacionados à síndrome cólica, tais como produção excessiva de gases no estômago, fermentação de alimentos, obstruções e torções intestinais (FRANCELLINO *et al.*, 2015).

Frequentemente outros fatores como alterações no manejo, na atividade física, ou dieta, infestações parasitárias e fatores intrínsecos como sexo, raça, idade tornam o equino predisposto à episódios de cólica (LARANJEIRA *et al.*, 2008).

A intussuscepção é definida como a invaginação de um segmento intestinal (intussuscepto) e seu mesentério, no lúmen do segmento distal adjacente (intussuscepiente). Esta invaginação pode causar obstrução parcial ou completa do lúmen de ambos os segmentos. Quanto maior o comprimento do intussuscepto maior a compressão dos vasos sanguíneos o que resulta em congestão vascular e edema levando a uma ocasional necrose isquêmica da parede intestinal (PIEREZAN, 2009).

A intussuscepção é uma afecção grave e ocorre com maior frequência em potros. Sua etiologia está relacionada a variações no peristaltismo provocado por enterites, infestações por ascarídeos, mudanças repentinas na dieta e neoplasias intraluminais (PIEREZAN, 2009).

O *Parascaris equorum*, é um parasito do intestino delgado de equinos, sobretudo potros e cavalos jovens, que se alimenta do conteúdo intestinal de forma passiva, levando a quadros clínicos bastante severos, associados à obstrução e/ou perfuração do intestino que pode conduzir à morte (FLORES *et al.*, 2014). A falha no manejo adequado quanto à vermifugação geralmente está associada à intussuscepção (DIAS *et al.*, 2013), o que justifica a importância do relato.

O objetivo do presente trabalho é relatar um caso de intussuscepção jejunojejunal secundária à infecção por *Parascaris equorum* em uma potra encaminhada à clínica de grandes animais do Hospital Veterinário Vértice – Univértix.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Síndrome cólica

A síndrome cólica ou abdômen agudo equino é caracterizado por episódios de dor abdominal e é uma das principais condições que requerem atendimento na clínica médica de equinos (LARANJEIRA *et al.*, 2008; MACHADO *et al.*, 2011; PESSOA *et al.*, 2012). Devido ao elevado custo com o tratamento e possibilidade de morte dos animais, a cólica é responsável por grandes perdas econômicas na equideocultura (LARANJEIRA *et al.*, 2008; PESSOA *et al.*, 2012).

Fatores relacionados ao tipo de manejo, restrição de atividades físicas, dieta a base de concentrados, volumosos de baixa qualidade, privação de água, transporte, estresse e confinamento vão ter influência fundamental sobre a fisiologia e funcionamento do aparelho digestório (LARANJEIRA *et al.*, 2008).

Boa parte das dores abdominais são provenientes de distúrbios gastrointestinais e outra parte relacionada a distúrbios em outros órgãos que desencadeiam a síndrome cólica (MACHADO *et al.*, 2011), sendo as cólicas de origem gastrointestinal as mais comuns (LARANJEIRA *et al.*, 2008).

Os fatores que desencadeiam a síndrome cólica são muitos e entre as principais causas de cólica em equinos, podemos citar as obstruções simples por compactações intraluminais, por corpos estranhos e parasitoses. Além das cólicas por obstruções estrangulativas, onde há o compromisso arteriovenoso das alças intestinais devido à ocorrência de encarceramentos, vólvulos e intussuscepções, há também aquelas de origem funcional, ocasionadas também pelo uso de fármacos que afetem a função do aparelho digestório e a motilidade intestinal (PESSOA *et al.*, 2012).

Os sinais clínicos que aparecem de maneira geral são devidos ao aumento de pressão intra-luminal, de alterações de posicionamento das alças, contrações espasmódicas ou alterações inflamatórias causadas por obstruções ou fermentações indesejadas de alimentos (MACHADO *et al.*, 2011) podendo envolver diferentes porções do aparelho digestório, com ou sem estrangulamento vascular (LARANJEIRA *et al.*, 2008). A síndrome cólica normalmente ao se agravar, leva a um quadro de insuficiência circulatória aguda denominada choque, secundária a isquemia intestinal e endotoxemia (MACHADO *et al.*, 2011).

2.2. Epidemiologia

As afecções do sistema digestório de equinos, tais como cólicas, diarreias e as enterotoxemias equivalem a 50% dos atendimentos clínicos em equinos, que resultam em morte (DI FILLIPO *et al.*, 2010). As cólicas apresentam alta incidência e alta letalidade passando de 13% em casos sem indicação de tratamento cirúrgico e até 31% para casos com indicação cirúrgica (LARANJEIRA *et al.*, 2008).

Em estudo epidemiológico, Pierezan (2009) ao avaliar relatórios de necropsia de 79 animais afirmou que as patologias do aparelho digestório são as principais causas de morte em equinos, com cerca de 21,5% (17/79) devido alterações de posicionamento dos intestinos e seguidas de 17,7% (14/79) de obstruções e compactações.

2.3. Cólicas em potros

As alterações que envolvem o Trato Gastrointestinal (TGI) em potros são comuns e de grande relevância, pois apresentam um grande desafio para o clínico devido às restrições físicas na avaliação clínica de potros, que pelo tamanho impossibilita o exame transretal, importante auxílio diagnóstico e pela rápida degradação fisiológica causada por estas patologias nessa população específica. As causas mais comuns de cólica em potros são a retenção de mecônio, seguida de úlceras gastroduodenais, frequente em lactentes, diarreias, coprólitos ou fecalomas de cólon menor e as obstruções parasitárias principalmente no intestino delgado (RIZZONI *et al.*, 2012; MELO *et al.*, 2007).

Os potros possuem um baixo limiar de dor em relação a equinos adultos, apresentando de forma mais rápida sinais clínicos intensos do que animais mais velhos. A rápida distinção entre a necessidade de tratamento clínico ou cirúrgico é fundamental para a sobrevivência do potro, pois ele apresenta poucas reservas para suportar as alterações cardiovasculares e metabólicas que estão associadas às disfunções intestinais graves (MELO *et al.*, 2007).

2.4. *Parascaris equorum*

O *Parascaris equorum* é um verme nematódeo pertencente à superfamília Ascaridoidea, localizam-se no intestino delgado dos equinos e asininos. Por serem extremamente grandes, robustos e esbranquiçados, dificilmente podem ser confundidos com outro parasita intestinal (TAYLOR *et al.*, 2010).

A infecção pelo *P. equorum* é relatada em diversos países e tem grande influência sobre o sistema de criação desses animais, já que além de comprometer seu desenvolvimento, principalmente de potros com um pouco mais de um ano de idade, pode leva-los a um estado de grande debilidade e morte. Sua importância se dá também pelo fato dos potros eliminarem por dia uma alta carga de ovos nas fezes. Esses ovos infectantes podem permanecer por muito tempo no solo, por essa razão, uma das principais fontes de infecção para os potros são as pastagens ou cocheiras utilizadas anteriormente por outros potros ou até mesmo pelas éguas (FRASER, 1996). Além disso, há estudos como o de Lindgren (2007), que afirmam que há uma lacto transmissão de mães também parasitadas.

A transmissão por esse parasita é horizontal, e se dá pela ingestão de ovos presentes no ambiente. O ciclo de vida se caracteriza por ser de forma direta e migratória, iniciando quando os ovos da fêmea adulta atingem seu estágio infectante (L3), entre 10 a 14 dias no meio ambiente. Por volta de 48 horas após a ingestão e eclosão dos ovos, as larvas penetram a parede intestinal chegando até o fígado e após duas semanas elas chegam até os pulmões, migrando para os brônquios, traqueia (onde são deglutidas) e retornando ao intestino delgado (TAYLOR *et al.*, 2010).

Uma alta carga parasitária pode gerar em infecções intestinais graves sintomas alternados como: constipação, diarreia de odor fétido, possivelmente levando a cólica, pelos sem brilho, fraqueza e perda de peso. Durante a fase migratória o animal também poderá apresentar sintomas respiratórios como taquipneia, dispneia e tosse, acompanhados de febre (DURO, 2010).

2.5 Aspectos clínicos das Intussuscepções

Em potros, as intussuscepções de pequenos segmentos como íleoileais, podem causar cólicas recorrentes devido à obstrução parcial intermitente. Intussuscepções jejunais ou ileocecais envolvem segmentos maiores, causando obstrução completa e estrangulativa do lúmen intestinal. Quanto maior o comprimento do intussuscepto maior a compressão dos vasos sanguíneos o que resulta em congestão vascular e edema levando a uma ocasional necrose isquêmica da parede intestinal (PIEREZAN, 2009).

As obstruções estrangulativas têm necessidade de intervenção cirúrgica (LARANJEIRA *et al.*, 2008), possuem maior gravidade dos casos e menor taxa de sobrevivência (PAGLIOSA, 2009). A ocorrência de obstruções estrangulativas em potros é baixa, com exceção da

intussuscepção e vólvulos do intestino delgado, que normalmente são secundárias às diarreias (MELO *et al.*, 2007). Grande parcela dos casos de cólicas cirúrgicas devem-se as obstruções de delgado (LARANJEIRA *et al.*, 2008).

A intussuscepção é uma afecção grave e deve ser diagnosticada e tratada imediatamente com cirurgia antes que o dano torne-se irreversível. Na forma aguda, há dor abdominal de início súbito com progressão dos sinais de dor contínua e refratária ao uso de anti-inflamatórios. Na subaguda ocorre anorexia, depressão e dor persistente. Na sua forma crônica, os surtos são recorrentes de obstrução e causarão alterações compensatórias próximas ao jejuno, incluindo dilatações jejunais mesmo quando vazio espessamento da muscular e áreas de equimoses ao longo da borda antimesentérica (MELO *et al.*, 2007).

As intussuscepções de delgado podem ser jejunojejunal, jejunoileal e íleoíleais. O envolvimento do jejuno compromete grande extensão do segmento o que resulta em obstrução completa, gerando desconforto abdominal agudo e progressivo, sinais toxêmicos e alterações cardiovasculares são encontrados e podem progredir de acordo com o envolvimento do intestino ou ruptura do mesmo (LEIRIA *et al.*, 2016; PIEREZAN, 2009).

Pouco ainda se sabe sobre a etiologia da intussuscepção, normalmente a relacionam com a motilidade anormal intestinal. Cavalos podem estar predispostos a intussuscepções provocadas por enterites devido a mudanças alimentares rápidas ou parasitismo intenso de ascarídeos como exemplo o *Parascaris equorum*, corpos estranhos, arterite mesentérica e neoplasias intraluminais (NELSON *et al.*, 2012).

Os sinais clínicos podem varias desde dores abdominais leves e intermitentes com diminuição do apetite à quadros de cólica severa com desidratação grave devido à obstrução completa do delgado. Os sinais clínicos vão depender da extensão da lesão e localização. Cavalos com intussuscepções crônicas podem apresentar uma diminuição no apetite, produção fecal e piroxia, dificultando o diagnóstico (NELSON *et al.*, 2012).

Comumente na clínica observa-se uma forma aguda onde o animal manifesta sinais de desconforto abdominal moderado a acentuado e uma forma crônica em que o paciente apresenta desconforto abdominal intermitente, com redução do peso corporal e anorexia (PIEREZAN, 2009).

O diagnóstico é baseado no histórico e nos sinais clínicos apresentados. A ultrassonografia transabdominal é potencialmente útil, apesar da sensibilidade normalmente ser baixa, porém a visualização de uma imagem do tipo “alvo” observada no exame complementar, define normalmente o diagnóstico final de intussuscepção (NELSON *et al.*, 2012).

Devido limitações na avaliação de abdômen agudo em potros por meio de palpação transretal, a ultrassonografia transabdominal torna-se um exame de imagem valioso por ser uma técnica não invasiva e dinâmica. Sua avaliação é realizada por meio do conhecimento

topográfico, tamanho, características anatômicas, conteúdos intraluminais e motilidade (AMARAL, 2014).

A intervenção cirúrgica é sempre necessária em casos de intussuscepções, sendo a ressecção e anastomose do segmento intestinal muitas vezes indicada devido à desvitalização da alça intestinal, sendo nos casos de encarceramento terminantemente desaconselhado o desencarceramento do intussuscepto (NELSON *et al.*, 2012; PIEREZAN, 2009).

As complicações associadas à intussuscepção no intestino delgado incluem frequentemente a apresentação de íleo adinâmico acompanhado de refluxo enterogástrico no pós-operatório imediato, podendo estender-se durante 48 horas ou mais, além de cólicas recorrentes, diarreias, aderências, febre, taquicardia, infecção incisional e peritonite, que podem suscitar a necessidade de relaparotomia ou mesmo a eutanásia do paciente em casos muito graves (NELSON *et al.*, 2012).

A terapia vai ser determinada de acordo com a necessidade de cada caso. Em casos em que houver hipovolemia deve ser feita sua correção com uso de cristaloides, que podem ser associados à terapia com pró-cinéticos em infusão contínua para o tratamento do íleo adinâmico, frequentemente observado nos pacientes atendidos tardiamente, nos quais se verifica inflamação difusa e extensa do intestino delgado distante dos segmentos eleitos para enterectomia (NELSON *et al.*, 2012).

A lavagem peritoneal pode ser indicada em casos de peritonite, com uso intraperitoneal de soluções cristaloides de forma abundante, associadas ou não a antibióticos pela mesma via. E deve se fazer o uso de terapia medicamentosa adicional conforme necessário: analgésicos, antimicrobianos, agentes pró-cinéticos, nutrição clínica, entre outros (NELSON *et al.*, 2012).

O prognóstico vai ser dependente de fatores como a extensão do comprometimento intestinal, duração do quadro clínico, viabilidade do intestino e o estado de saúde do paciente no momento da cirurgia. Quanto maior a extensão da lesão desenvolvida pela intussuscepção, pior o prognóstico. Em intussuscepções de delgado, acima de 50% dos pacientes sobrevivem por muito tempo e retornam a função normal do intestino (NELSON *et al.*, 2012).

3. RELATO DE CASO

Um equino de 2 meses de idade, fêmea, de 83 kg da raça Mangalarga Marchador foi encaminhada para a clínica de grandes animais do Hospital Veterinário Vértice - UNIVÉRTIX apresentando sinais de desconforto abdominal agudo.

Durante a anamnese o proprietário relatou que a potra apresentou sinais de dor abdominal de início súbito e intermitente e anorexia desde a manhã do dia do encaminhamento, com a intenção de controlar a dor havia sido administrado 3 ml de Buscofin (dipirona associada à hioscina) pela via intravenosa ainda na propriedade, sem melhora do quadro clínico. Sua

alimentação consistia em leite materno e capim picado e não havia histórico sanitário de vermifugação e vacinação do animal.

Ao exame clínico o paciente apresentava frequência cardíaca (FC) de 110 batimentos por minuto (bpm), frequência respiratória (FR) de 40 movimentos respiratórios por minuto (mpm), temperatura retal de 38.4°C, tempo de preenchimento capilar maior que 3 segundos, mucosas orais e oculares congestas e ausência de motilidade intestinal com discreta distensão abdominal, demonstração constante de dor intensa e reluta para permanecer em estação ao exame clínico.

Realizou-se antissepsia para coleta da amostra de sangue para análise de hemograma completo, o qual revelou uma anemia moderada normocítica e hipocrômica e uma leucocitose discreta por neutrofilia com linfopenia e monocitopenia.

Foi realizada tricotomia na região da jugular externa direita, antissepsia local, e acesso venoso com o cateter 18 Gauge Neodelta, para o início da fluidoterapia com solução de Ringer Lactato para corrigir a hidratação.

Devido a existência persistente de sinais de dor intensa e contínua, foram administrados em sequência na tentativa de controlar a dor abdominal os fármacos Buscofin (dipirona e hioscina) na dose de 25mg/kg por via intravenosa (IV), depois de algum tempo Flunixin meglumine na dose de 1,1 mg/Kg/IV e em seguida Detomidina na dose de 20 mcg/kg/IV, conseguindo-se por fim controlar a dor abdominal. Após a sedação, com auxílio de sonda nasogástrica foi feita a lavagem estomacal e observada a presença de nematódeos *Parascaris equorum*.

Com o auxílio de um aparelho ultrassom Z6 VET MINDRAY e probe convexa na frequência de 5,0 MHz e álcool 70%, foi realizada a ultrassonografia transabdominal. O exame de imagem revelou muitos segmentos distendidos do intestino delgado, ausência de motilidade e dois pontos específicos na imagem como “alvo”, com estrutura intestinal sobreposta aumentando a suspeita diagnóstica de um caso de intussuscepção. Então foi feita uma ampla tricotomia desde o início do púbis até o processo xifoide, realizada a lavagem dos cascos e boca, e em seguida a paciente foi encaminhada à sala de indução, posteriormente para o bloco cirúrgico para celiotomia exploratória.

A antibioticoterapia profilática consistiu na administração de Gentamicina na dose de 6,6 mg/kg pela via intravenosa (IV) previamente à administração da medicação pré-anestésica (MPA). A MPA consistiu na administração de Detomidina na dose de 20mcg/kg/IV. A indução anestésica foi feita com cetamina 2,2 mg/kg/IV, seguida de intubação oro-traqueal, manutenção anestésica inalatória (Isoflurano) e aporte ventilatório mecânico em decúbito dorsal.

Durante todo o procedimento cirúrgico a manutenção anestésica foi realizada com anestesia inalatória associada de infusão contínua de lidocaína (0,03mg/kg/min/IV), cálcio

(5ml/IV/hora) e cloreto potássio (0,03 MEq/kg/h), além de infusão contínua de fluidos cristaloides na taxa de 10ml/kg/hora e de Cloridrato de Dobutamina para o controle da pressão arterial.

Foi realizada a antisepsia da pele com iodo-povidona e álcool, rotina em casos de cólica, seguida de colocação dos panos de campo. O campo cirúrgico foi preparado seguindo as técnicas assépticas cirúrgicas, em seguida, a pele do abdomen foi coberta com um campo cirúrgico estéril. A pele não preparada e as bordas do campo cirúrgico foram cobertas com panos de campo estéreis.

A celiotomia foi feita através de uma incisão mediana que se estendeu cranialmente ao umbigo cerca de 15 cm de comprimento, aprofundando-se ao tecido subcutâneo. Após a hemostasia dos vasos da derme, foi incisada a linha alba, seguida da difusão romba do tecido adiposo retroperitoneal, apreensão do peritônio, que foi elevado com auxílio de uma pinça Allis e incisado com tesoura Metzenbaum curva.

Após abertura da cavidade abdominal, procedeu-se a decompressão das alças intestinais com auxílio de aspirador cirúrgico e agulha 40x12, permitindo-se então a exploração de toda a cavidade abdominal e intestino delgado, visualizando-se a intussuscepção jejunojejunal de aproximadamente um metro de comprimento.

Após as ligaduras de 3 arcos mesentéricos, este foi dissecado para melhor exposição e isolamento do segmento a ser excisado com uso de compressas umidificadas com solução de Ringer lactado. A porção imediatamente oral à intussuscepção foi apoiada em uma mesa auxiliar para enterotomias e uma incisão de 4 cm na borda antimesentérica do mesmo foi realizada para permitir a ordenha e decompressão do segmento oral ao processo obstrutivo, quando notou-se a intensa presença da infecção pelo parasito *Parascaris equorum*.

Grande quantidade da forma adulta do parasito foi ordenhada pela enterotomia do jejuno, que teve que ser ampliado devido obstrução recorrente em função da formação de êmbolos verminóticos que se formaram após a ordenha das secreções fluidas retidas.

Após a decompressão e ordenha de secreções e de grande quantidade de parasitos, utilizaram-se drenos de Penrose para a oclusão dos segmentos proximal e distal à intussuscepção para garantir o não extravasamento de conteúdo intestinal durante a enterectomia. As bordas mesentéricas e antimesentéricas foram posicionadas com reparos de fios de Náilon 0, num ângulo de aproximadamente 45° em relação à borda mesentérica, para excisão do segmento afetado, gerando dois cotos terminais para a anastomose terminal jejunojejunal.

Após aposição das bordas, duas suturas semi-circulares de início na borda mesentérica em direção à antimesentérica, cada uma em um antímero do intestino, com padrão Lambert contínuo foram realizadas com fio Poliglecaprone 2-0. Após a enteroanastomose o defeito do

mesentério foi também corrigido com padrão de sutura Ford e fio Poliglecaprone 2-0. A alça foi lavada com soro aquecido e reposicionada. O restante do TGI também foi inspecionado, descomprimido e as alças reposicionadas.

Previamente à celiorrafia, procedeu-se a infusão de 4 litros de soro Ringer Lactato aquecido, associados à heparina (20 UI/Kg), Dimetilssulfóxido (50mg/kg) e Gentamicina (2 mg/kg) na cavidade peritoneal, afim de prevenir possíveis lesões inflamatórias, formação de aderências e peritonite séptica.

A celiorrafia em três planos foi realizada, com sutura simples contínua em fio de náilon 0,60 pela muscular, Sutura simples contínua em fio Poliglecaprone 2-0 no subcutâneo e sutura de Colchoeiro em fio Náilon 3-0 para dermorrafia. No período pós-operatório, imediato continuou-se a reposição de fluidos e a terapia de efeito procinético à base de lidocaína, cálcio e potássio até 6 horas pós-cirurgia.

A antibioticoterapia consistiu na administração de penicilina 20.000 UI/kg por via intramuscular (IM) 2 vezes ao dia por 5 dias (BID), gentamicina 6,6 mg/kg/IV 1 vez ao dia diluído (SID) em 1 litro de soro Ringer Lactato por 3 dias, heparina 50 UI/kg por via subcutânea (SC) (BID) por 3 dias, Meloxicam 0,6 mg/kg/IV (SID) por 5 dias, protetores de mucosa Omeprazol 4 mg/kg por via oral (PO) (BID) por 15 dias, ranitidina 1,1 mg/kg/IV BID por 5 dias e 40 ml de óleo de canola (PO) (BID) durante toda internação.

Foi realizada limpeza diária da ferida cirúrgica 2 vezes ao dia com clorexidina 2% e gaze, seguida de aplicação tópica de rifamicina spray e a colocação da cinta abdominal para proteção da ferida cirúrgica.

A evolução clínica no período pós-operatório ocorreu de forma satisfatória e sem complicações. Seis horas após o ato operatório, na ausência de refluxo enterogástrico, a sonda foi retirada e já foi permitido à paciente mamar o leite materno à cada hora.

Todos os parâmetros vitais mantiveram-se dentro da normalidade, com ausência de dor, presença de motilidade intestinal à auscultação, presença de apetite, comportamento ativo e ausência de refluxo. Após 48 horas, iniciou-se a realimentação com volumoso (pastejo de gramíneas e feno), apresentando a paciente defecação normal nesse período. Aos 15 dias de internação ocorreu a alta médica.

4. DISCUSSÕES

O atendimento clínico de potros muito jovens em síndrome cólica normalmente representa um desafio clínico para a obtenção do diagnóstico preciso de forma eficaz devido particularidades relacionadas ao tamanho dessa classe animal e às restrições aos métodos normalmente utilizados para elucidação do diagnóstico, como por exemplo, o exame transretal.

Sendo assim, um exame pormenorizado em todas as etapas, desde a anamnese até a solicitação de exames complementares se faz muito importante para se obter de forma rápida a indicação entre os tratamentos clínico ou cirúrgico.

As informações coletadas na anamnese da paciente mostraram-se relevantes juntamente com o exame físico ao conduzir a suspeita clínica de parasitismo e intussuscepção, já que a paciente não havia sido, desde o nascimento, submetida à desparasitação e ter apresentado refluxo de *P. equorum* à sondagem nasogástrica.

Outro aspecto importante do relato do curso da cólica ainda no haras que reforçou a necessidade de tratamento cirúrgico foi a dor intensa refratária ao uso de antiinflamatórios não esteroides (AINEs), que também foi observada em ambiente hospitalar, levando à necessidade de administrações seriadas de analgésicos de maior potência para o controle da dor.

Segundo Fernandes (2009), a analgesia é um dos aspectos mais importante no tratamento de casos de cólica e pode ser alcançada por meio de fármacos de diversas classes, como a hioscina, que apresenta um efeito anticolinérgico de ação curta no relaxamento da parede intestinal e em combinação com a dipirona (Buscopan®) está indicada no tratamento da cólica espasmódica e por timpanismo, bem como dos casos ligeiros de obstrução por ingesta sendo que a ausência de resposta sugere a presença de um problema mais grave.

A flunixinina-meglumina é o AINE mais potente para o tratamento da dor abdominal e a administração de uma dose única (1,1 mg/kg) pode inibir a produção de prostaglandinas durante 8 a 12 horas (FERNANDES, 2009).

A detomidina é um sedativo e analgésico mais potente que a xilazina que pode proporcionar uma interrupção completa da dor abdominal durante um período de até 3 horas, mascarando os sinais clínicos, sendo o único fármaco que foi efetivo em controlar a dor da paciente desse relato (FERNANDES, 2009).

Além da dor, os parâmetros frequência cardíaca e frequência respiratória elevada acima do normal, têm correlação direta com a gravidade do quadro clínico e também justificaram a necessidade de intervenção cirúrgica (FERNANDES, 2009).

O acesso venoso realizado com antisepsia cirúrgica e cateter de média permanência garantiu pleno acesso à via intravenosa durante todo o atendimento clínico, trans e pós-cirúrgico, garantindo que todas as medicações, em especial as de potencial em causar tromboflebite, fossem administradas corretamente no leito vascular. Uma das complicações que aumentam a morbidade e que colaboram para o agravamento de afecções em equinos é a ocorrência de tromboflebitas jugulares.

Cavalos portadores de infecções do trato digestório e obstruções estrangulativas são susceptíveis ao desenvolvimento de distúrbios de coagulação que aumentam significativamente o risco de ocorrência de tromboflebitas (BARBOSA *et al.*, 2009), justificando a utilização dessa

técnica. Por se tratar de um potro jovem, a permanência do acesso venoso também facilitou o manejo do paciente, já que as frequentes administrações intravenosas dispensaram a venopunção constante, que causa desconforto e riscos adicionais de administrações perivasculares.

A ultrassonografia transabdominal constitui grande auxílio ao diagnóstico de afecções do trato digestório de equinos ao permitir avaliar as faces parietais de vísceras de amplo lúmen, como os cólons, revelando alterações inflamatórias pelo espessamento de suas paredes, distúrbios posicionais nos casos de deslocamentos e encarceramentos, quadros obstrutivos ou funcionais do intestino delgado, entre outras possibilidades (SCHARNER *et al.*, 2002).

Para a elucidação do quadro da paciente considerou-se de grande valia na elucidação do diagnóstico, podendo ser observados uma sequência de anéis de intestino delgado distendido e em atonia e a característica imagem tipo “alvo”, gerada pela sobreposição das paredes dos segmentos intussuscepto e intussusceptiente.

A importância desse exame nesse relato é reforçada em função do curto tempo de cólica, uma vez que não foi encontrado refluxo enterogástrico à sondagem nasogástrica, achado muito comum e indicativo de obstruções simples ou estranguladas de intestino delgado (FERNANDES, 2009). Dessa forma, o exame ultrassonográfico transabdominal também contribuiu para a rápida tomada de decisão e planejamento cirúrgico adequado.

Potros com cólicas por obstruções estrangulativas desenvolvem alterações cardiovasculares intensas, estão propensos ao choque e são especialmente sensíveis à anestesia geral. Portanto, o protocolo anestésico visou causar mínima depressão cardiorrespiratória, com a utilização de baixas doses de α -agonista na MPA e ciclohexamina para indução, como preconiza Cruz (2011).

Para analgesia, diminuição da Concentração Alveolar Mínima (CAM) de Isoflurano e efeito pró-cinético, instituiu-se a infusão contínua de Lidocaína e eletrólitos, o que propiciou relaxamento muscular adicional durante a manipulação cirúrgica e contribui para amenizar os efeitos depressores do Isoflurano, que apesar de proporcionar plano anestésico adequado, causa depressão da função cardiovascular, hipotensão e redução do débito cardíaco de forma dose dependente (DÓRIA, 2006). A infusão contínua de baixas doses de Dobutamina também foi necessária como auxílio à manutenção da pressão arterial, mostrando-se como recurso terapêutico eficiente.

Durante a celiotomia, vários recursos de técnica operatória foram empregados no tratamento da condição, podendo-se destacar alguns pela relevância em atenuar possíveis complicações no trans e pós-cirúrgico. A drenagem de todo o conteúdo gasoso por meio de aspirador cirúrgico sempre deve constituir primeira prioridade e previne manipulação excessiva das alças, diminui a pressão transmural de forma rápida, aumenta o espaço para manobras na

cavidade e suprimi a necessidade de ordenha de conteúdo gasoso de intestino delgado em sentido aboral, o que acarreta no desenvolvimento de lesões adicionais pela laboriosa manipulação das alças (MORA, 2009).

Outros aspectos importantes de técnica cirúrgica empregados durante a enterectomia incluíram a utilização de drenos de penrose em detrimento das pinças coprostáticas para oclusão dos lúmens dos segmentos anastomóticos, prática que aproveita a textura e elasticidade do látex para minimizar as lesões intestinais até a conclusão das suturas da anastomose.

Também o ângulo de 45 graus na ressecção dos segmentos, associado ao uso de um único plano de sutura invaginante, foram eficientes em prevenir estenoses da anastomose, tendo também o efeito de diminuir a possibilidade do desenvolvimento de isquemia e deiscências da sutura em especial na borda antimesentérica do intestino, que são complicações frequentes como descrito por Mena (2006), que ainda relata a ocorrência de aderências, necrose do segmento preservado, extravasamento do conteúdo intestinal e peritonite séptica.

Outra possível complicação frequente nas anastomoses de intestino delgado em potros é a formação de aderência (PALMA *et al.*, 2005), motivo pelo qual optou-se pela repleção do abdômen com solução cristalóide, afim de afastar-se as superfícies intestinais com potencial para formação de aderências, associada à infusão de heparina intraperitoneal, para controle dos mecanismos de coagulação. No período trans-operatório não foram observados sinais clínicos ou indícios de imagem em avaliações ultrassonográficas subsequentes que indicassem a formação de aderências.

A terapêutica empregada durante o período pós-operatório objetivou a prevenção de possíveis infecções peritoneais e de sítio cirúrgico, prevenção da toxemia, proteção das mucosas e retorno à função intestinal. O uso da associação gentamicina e penicilina, juntamente aos cuidados tópicos dispensados à ferida cirúrgica, mostraram-se eficientes na prevenção de infecções, já que a paciente não demonstrou sinais clínicos típicos dessa ocorrência e nem efeitos colaterais ocasionais em função do uso de antibióticos, como as diarreias, sendo portanto um protocolo seguro para o caso relatado.

A terapia procinética também se mostrou eficiente ao proporcionar breve retorno da função intestinal que possibilitou a precoce realimentação da paciente. Segundo Sartori (2014), a lidocaína apresenta efeito analgésico, procinético e propriedades anti-inflamatórias, sua administração por via intravenosa apresenta vantagens, em especial, pelo seu efeito citoprotetor da barreira epitelial e possibilidade de auxiliar na reoxigenação de tecidos submetidos a processos isquêmicos, na recuperação da motilidade e trânsito intestinal.

A reintrodução rápida da alimentação atua tanto como um estimulante intestinal de efeito procinético quanto constitui um meio de avaliação do progresso pós-cirúrgico (MORA, 2009) e também serviu de parâmetro positivo para evolução do quadro da paciente, que recebeu alta no décimo quinto dia de internação sem ter apresentado complicações clínico-cirúrgicas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tempo de cólica estrangulativa apresentado pela paciente, é certamente a mais relevante consideração a ser feita nesse relato. Todos os cuidados e técnicas empregadas no tratamento da paciente desde sua admissão receberam um excelente adjuvante: o curto período desde o início da cólica até a celiotomia exploratória. Durante a celiotomia foi possível observar que apesar da intussuscepção estrangulativa, os segmentos intestinais e peritônio apresentavam-se saudáveis, livres de lesões e inflamação difusas. Tal achado facilitou a decisão pelas margens a serem excisadas e extensão da enterectomia, suficiente apenas para excisão da intussuscepção. Dessa forma, provavelmente os segmentos remanescentes não desenvolveram lesões tardias relacionadas às lesões de isquemia e reperfusão, precursoras da inflamação, disfunção e aumento da permeabilidade, condições essas de grande impacto sistêmico.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, C. H. **Ultrassonografia Transabdominal na cólica equina**; Avaliação da normalidade e interferência na conduta terapêutica. Curitiba. 61p. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná – Setor de Ciências Agrárias Programa de Pós- Graduação em Ciências Veterinárias. 2014.

BARBOSA, R. G.; BORGHEGAN, A. C.; CERQUEIRA, N. F.; HUSSIN, C. A.; ALVES, A. L. G.; NICOLETTI, J. L. de M.; FONSECA, B. P. A. Fisiopatologia da trombose e tromboflebite da veia jugular de equinos: revisão. **Revista Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.1, p.26-37, 2009.

CRUZ, D. S. G. M. **Cólica em equinos**. Porto. f.45. Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade de Porto. 2011.

DIAS, R. V. da C.; FILHO, J. D. R.; BEVILACQUA, P. D.; JÚNIOR, J. I. R.; SOUZA, M. V. Estudo epidemiológico da síndrome cólica de equinos em parques de vaquejada no estado do rio grande do norte. **Revista Veterinária e Zootecnia**, Rio Grande do Norte, v.20, n.4, p. 683-698, 2013.

DI FILLIPO, P. A.; PEREIRA, R. N.; PEROTTA, J. H.; ALVES, A. E.; DIAS, D. P. M.; SANTANA, Á. 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. **Revista Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n.3, p.689-694, 2010.

DI FILLIPO, P. A.; SANTANA, Á. E; COLETA, F. E. D. Avaliação clínica e eritroleucograma de equinos com cólica submetidos a laparotomia, sobrevivente e não sobreviventes. **Revista Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.4, p. 1246-1255, 2009.

DÓRIA, R. G. S. **Avaliação da anestesia por isoflurano em equinos submetidos à infusão contínua de Medetomidina ou Xilazina**. Jaboticabal, f.136. Dissertação de mestrado em Cirurgia Veterinária. Universidade Estadual Paulista, Campus Jaboticabal, Faculdade de Ciências agrárias e Veterinárias. 2006.

DURO, L. S. L. S. **Parasitismo gastrointestinal em animais da quinta pedagógica dos olivais. Especial referência aos mamíferos ungulados**. Lisboa, f.135. Dissertação de mestrado integrado em Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa. 2010.

FERNANDES, C. S. **Factores de prognóstico da cólica em equinos**. Lisboa, f.106. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária. 2009.

FLORES, S. P.; PERUSSOLO, A. F.; ARTUSO, D.; FOLETTO, R.; NICOLAU, L.; PICOLLI, V. Pesquisa de verminoses gastrointestinais em equinos na região do alto uruguaí gaúcho. **Revista de Agronomia e Medicina Veterinária IDEAU**. Getúlio Vargas – Rio Grande do Sul, v.01, n.01, p.1-13, 2014.

FRANCELLINO, J. O. R.; NAHUM, M. J. C.; CABREIRA, B. S.; ALVES, C. A. M.; ESPOSITO, V.; FERREIRA, M. A. Pronto atendimento de síndrome cólica em equinos – revisão de literatura. **Revista Científica de Medicina Veterinária**. Garça - São Paulo, n.25, 2015.

FRASER, C. M. **Manual Merck de Veterinária: um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário**. Ed.7, São Paulo, 1996.

LARANJEIRA, P. V. E. H.; ALMEIDA, F. Q. de; LOPES, M. A. F.; PEREIRA, M. J. S. Síndrome cólica em equinos de uso militar: análise multivariável de fatores de risco. **Ciência Rural**, Santa Maria, n.6, v.39, p.1-7, 2009.

LARANJEIRA, P. V. E. H.; ALMEIDA, F. Q. Síndrome cólica em equinos: ocorrência e fatores de risco. **Revista de Ciência da Vida**, n.1, v.28, p.64-78, 2008.

LEIRIA, P. A. T.; BERLINGIERI, M. A.; ROSA, G.; ACOSTA, L.; GASCHILER, M. Jejunojejunal intussusception in foal: case report. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.53, n.4, p.1-4, 2016.

LINDGREN K.; LJUNGVALL O.; NILSSON O.; LJUNGSTRO B.-L.; LINDAHL C.; HOGLUND J. *Parascaris equorum* in foals and in their environment on a Swedish stud farm, with notes on treatment failure of ivermectin. **Veterinary parasitology**. Elsevier, v.151, p. 337–343. 2008.

MACHADO, R. R.; PREVIATI, B. B.; BERNARDI, É. L.; REICHERT, R. C.; SCAPIN, L.; REOLON, M.; MARTINS, D. B.; CARDONA, R. O. DO C.; SILVA, R. B. **Síndrome cólica em equino – relato de caso**. XVI Seminário de Interinstitucional de Ensino, Pesquisa e extensão, Universidade no Desenvolvimento Regional, 2011.

MELO, U. P. de; FERREIRA, C.; PALHARES, M. S. Doenças Gastrointestinais em potros: etiologia e tratamento. **Revista Ciência Animal Brasileira**, v.8, n.4, p.733-744, 2007.

MENA, F. A. A. **Anastomose termino-terminal no jejuno de Equinos coberta com retalhos mesentéricos pediculados.** Viçosa, f.54, Dissertação de pós graduação em Medicina Veterinária, 2006.

MORA, S. C. F. **Resolução cirúrgica de cólicas em equinos- critérios, desenvolvimento e pós-operatório.** Lisboa, f.88. Dissertação de Mestrado em clínica e cirurgis de equinos. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária. 2009.

NELSON, B. B.; BROUNTS, S. H.; **Intussusception in horses.** University of Wisconsin-Madison, 2012.

PALMA, M. L. M.; FOZ FILHO, R. P. de P. Aderências intra-abdominais em equinos. **Revista Educacional em Medicina Veterinária.** São Paulo, v.8, n.2, p.123-134. PEDROSA, A. R. P. Á. de Á. **Cólicas em equinos: tratamento médico VS cirúrgico – critérios de decisão.** Lisboa, 2008, f.115, Dissertação de Mestrado integrado em medicina veterinária . Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária. 2005.

PIEREZAN, F. **Prevalência das doenças de equinos no Rio Grande do Sul.** Santa Maria, Rio Grande do Sul, f.163, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria – Centro de Ciências Rurais Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. 2009.

PAGLIOSA, G. M. **Lesões decorrentes de obstruções experimentais no jejuno de eqüinos tratados com glutamina ou associação de succinato sódico de hidrocortisona, dimetilsulfóxido, pentoxifilina e ácido ascórbico.** Belo Horizonte. Tese para doutora em Ciência Animal, Universidade federal de minas gerais escola de veterinária- UFMG. 2009.

RIZZONI, Leandro Bercalete; MIYAUCHI, Tochimara Aparecida. Principais doenças dos neonatos equinos. **Acta Veterinária Brasilica**, 2012. v.6, n.1, p.9-16.

SARTORI, Vitor Cibiac. **Avaliação de Infusão contínua de lidocaína em equinos submetidos à distensão ileal.** Jaboticabal, São Paulo, 2014, f.55, Dissertação de Mestrado em cirurgia veterinária. Universidade Estadual Paulista – UNESP.

SCHARNER, Doreen; ROTTING, Anna; GERLACH, Kerstin; RASCH, Kathrin; FREEMAN, David E. Ultrasonography of the abdomen in the horse with colic. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v.1, n.3 p.118-124, 2002.

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

OCORRÊNCIA DE *Staphylococcus* COAGULASE POSITIVA E *Listeria* spp. EM QUEIJOS MINAS FRESCAL COMERCIALIZADOS NA ZONA DA MATA MINEIRA

Acadêmicos: Ellen Silvia Gomes e Sâmela Carine Araújo Braga

Orientadora: Letícia Ferreira da Silva

RESUMO

O queijo Minas frescal é caracterizado por seu alto valor nutricional, sendo um dos produtos mais populares no Brasil. Por se tratar de um queijo fresco, é obrigatório o processo de pasteurização para garantir a eliminação de patógenos. Outro fator determinante para a qualidade e a segurança desse alimento são as boas práticas adotadas durante sua fabricação. Assim, objetivou-se com esse trabalho realizar análise comparativa entre a qualidade sanitária dos queijos Minas frescal industriais e artesanais comercializados na Zona da Mata mineira, a partir da pesquisa de *Listeria* spp. e da contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva. Para isso, foram adquiridas cinco amostras de queijos industriais e cinco artesanais. As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com a IN nº 62 de 26 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. As amostras industriais foram positivas somente para *Listeria* spp. (B e C), enquanto as amostras artesanais apresentaram resultados fora do padrão legislativo tanto para *Staphylococcus* coagulase positiva (F e J) quanto para *Listeria* spp. (F, H e J). Conclui-se, portanto, que os queijos industriais apresentaram qualidade superior aos artesanais, comprovando o maior controle processual adotado pelas indústrias de beneficiamento, além de demonstrar a importância da fiscalização veterinária.

PALAVRAS-CHAVE: Doenças transmitidas por alimentos; produto pronto para o consumo; saúde pública.

1. INTRODUÇÃO

No ano de 2015, o Brasil produziu cerca de 35 bilhões de litros de leite. Do total produzido no país, segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias de Queijo, 46% do leite inspecionado e 60% do leite informal são direcionados exclusivamente à produção de queijos, tornando-o um dos principais derivados lácteos e com alta demanda de mercado, principalmente no Estado de Minas Gerais (SILVA, 2005; ZOCCAL, 2016). Dentro do comércio informal, comum em cidades interioranas, grande parte do leite é destinado ao preparo dos queijos Minas frescal, Minas padrão e muçarela (ZOCCAL, 2016).

Entre os diferentes tipos de queijo, o Minas frescal se destaca como um dos mais populares e de maior aceitação comercial no Brasil (SILVA, 2005; SANGALETTI *et al.*, 2009; SENGER & BIZANI, 2011). Por se tratar de um queijo fresco, é obrigatória a etapa de pasteurização ou tratamento térmico equivalente, de modo a garantir a inocuidade do produto final (BRASIL, 1997). Outro fator importante é a sua alta

umidade (BRASIL, 1997) que o torna altamente perecível (curta vida de prateleira), uma vez que predispõe o crescimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos (FEITOSA *et al.*, 2003; QUINTANA & CARNEIRO, 2007).

O queijo fresco e úmido é, portanto, uma potencial fonte de patógenos causadores de doenças transmitidas por alimentos (DTAs), entre os quais já foram identificados *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes* como responsáveis por surtos envolvendo esse alimento (FERNANDES *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2011; VISOTTO *et al.*, 2011). Entre as causas de contaminação por *L. monocytogenes*, tem-se a fabricação de queijo a partir de leite cru, sendo possível também a contaminação após o tratamento térmico (SILVA *et al.*, 2011). Já a presença de *S. aureus* nos alimentos, sugere a participação de manipuladores portadores (FERNANDES *et al.*, 2006). Outro ponto crítico a ser considerado durante a fabricação desse tipo de queijo é a temperatura de fabricação e armazenamento (SANTOS *et al.*, 1995).

Assim, os queijos inspecionados, por possuírem maior controle higiênico-sanitário durante as fases de processamento, quando comparados aos artesanais, com a adoção das Boas Práticas de Fabricação pelas indústrias, reduzem drasticamente os índices de contaminação por microrganismos patogênicos, oferecendo, assim, menor risco de veiculação de DTAs (GRANDI & ROSSI, 2007). No entanto, o hábito de consumir leite e derivados não inspecionados ainda é uma prática comum da população brasileira, que tem origem no baixo nível cultural, ao julgar que os produtos de origem informal são, muitas vezes, superiores do ponto de vista sensorial e nutricional, em relação aos alimentos submetidos a processos tecnológicos (ALMEIDA *et al.*, 2002). Com isso, maior atenção deve ser tomada pelas autoridades sanitárias, uma vez que tais produtos colocam em risco a saúde do consumidor, além de comprometerem a qualidade e prazo de validade dos produtos (LOGUERCIO & ALEIXO, 2001).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi realizar uma análise comparativa entre a qualidade microbiológica dos queijos Minas frescal industriais e artesanais, comercializados na região da Zona da Mata Mineira, pela pesquisa de *Listeria* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva, visando verificar os possíveis perigos veiculados por esse derivado lácteo e sobre a importância da fiscalização veterinária.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

Atualmente existem cerca de 250 tipos de doenças alimentares que, em sua maioria, são causadas por microrganismos patogênicos (OLIVEIRA *et al.*, 2010), sendo que esse espectro vem aumentando ainda mais nos últimos anos (BRASIL, 2010). Essas síndromes, conhecidas como Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), podem ser classificadas em três diferentes categorias: infecção, toxinfecção, e intoxicação alimentar (BRASIL, 2010).

A incidência dessas doenças vem aumentando nos últimos anos e é influenciada pelo nível de educação e socioeconômico da população, assim como por fatores culturais (BRASIL, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2010). Assim, as DTA são responsáveis por danos à saúde pública e perdas econômicas, principalmente em decorrência da retirada de lotes de alimentos contaminados do mercado (OLIVEIRA *et al.*, 2010; MARCHI *et al.*, 2011). Como consequência, esses surtos passaram a ser considerados Eventos de Saúde Pública de notificação compulsória imediata (BRASIL, 2016).

Os sinais clínicos variam de acordo com o agente etiológico envolvido e podem variar de sintomas brandos a graves, demandando atenção médica e podendo culminar com a morte do paciente (BRASIL, 2010; MARCHI *et al.*, 2011). A maioria dos casos caracterizam-se, no entanto, por baixas taxas de mortalidade (número de óbitos de uma determinada população) e letalidade (número de óbitos entre os portadores de uma doença – avalia a gravidade da doença) dependendo das condições dos pacientes. Embora todos sejam suscetíveis, crianças, idosos e indivíduos imunodeprimidos são mais sensíveis (BRASIL, 2010).

A maior parte dos surtos está relacionada ao consumo de alimentos de boa aparência, com sabor e odor normais. Isso acontece porque a dose infectante dos patógenos alimentares geralmente é inferior à quantidade de microrganismos necessários para deteriorar os alimentos, o que dificulta a busca dos alimentos responsáveis. Alimentos com características organolépticas alteradas dificilmente causam DTA, uma vez que são naturalmente rejeitados pelo consumidor (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Entre os alimentos mais relacionados nos referidos surtos, destacam-se os produtos de origem animal como o frango, a carne e seus produtos derivados e o leite e os produtos lácteos (BRASIL, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2010).

Apesar da grande diversidade de doenças associadas à ingestão de alimentos contaminados, a real magnitude do problema ainda é desconhecida seja pela deficiência dos serviços de notificação, seja pelo fato de apenas uma parte dos doentes procurarem pelo serviço médico, em decorrência de sinais clínicos mais brandos (BRASIL, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2010). Contudo, segundo os dados mais recentes divulgados pela Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, a Região Sudeste foi responsável pela maior parte dos surtos notificados no país entre janeiro de 2007, a maio de 2017, sendo que o leite e seus derivados foram responsáveis por 2,8% dos casos nesse período (BRASIL, 2017).

Outra deficiência apresentada pelo Serviço de Vigilância de Doenças Transmissíveis é exatamente a identificação dos agentes etiológicos envolvidos nos surtos; prova disso é que dos 7.170 surtos notificados nos últimos dez anos, 70,6% não culminaram com o isolamento do patógeno responsável. Dos casos identificados, as bactérias foram responsáveis por quase a totalidade, correspondendo a 95,9% destes (BRASIL, 2017).

2.2 *Staphylococcus* COAGULASE POSITIVA

As bactérias pertencentes ao gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos, com aproximadamente 1 µm de diâmetro, que formam arranjos semelhantes a cachos de uva. São imóveis, não formadoras de esporos e oxidase negativa. A maioria é anaeróbia facultativa e catalase-positiva. Entre os estafilococos existem aqueles que são também coagulase positiva (*S. aureus* subsp. *aureus*, *S. intermedius* e *S. hyicus*); essa produção de coagulase está relacionada à patogenicidade dessas bactérias, tornando-as capazes de causarem doenças nos homens e nos animais (QUINN, 2005).

O termo estafilococos coagulase positiva ganhou atenção nos últimos anos, quando novas espécies de *Staphylococcus* (*S. hyicus* e *S. intermedius*) foram relacionadas a surtos de intoxicação alimentar, evidenciando que estas também são capazes de produzir toxinas, bem como coagulase, prova que até então era utilizada na rotina laboratorial para identificação de *S. aureus* (SILVA & GANDRA, 2004; LAMAITA *et al.*, 2005).

Staphylococcus aureus é um microrganismo que frequentemente se encontra envolvido em surtos de intoxicação alimentar (BRASIL, 2010). Trata-se de uma gastroenterite intestinal causada pela ingestão de alimentos contaminados com toxinas

produzidas por esse patógeno (CDC, 2017a). Como *S. aureus* é encontrado nas mucosas do trato respiratório superior e na pele de cerca de 25% das pessoas e dos animais saudáveis, os surtos estão em sua maioria associados à manipulação inadequada dos alimentos (OLIVEIRA *et al.*, 2010; CDC, 2017a). *S. aureus* também pode ser encontrado em leite cru e em queijos (CDC, 2017a).

Esse microrganismo é pesquisado em uma diversidade de alimentos, prevalecendo o queijo como principal veículo dessa DTA, principalmente pela grande manipulação que esse produto sofre durante as etapas de sua fabricação associada a má higiene do local e dos manipuladores (LOGUERCIO *et al.*, 2001; JAY, 2005).

A produção da toxina ocorre durante a multiplicação de *S. aureus* no alimento; e, embora esse patógeno seja facilmente destruído pela ação do calor, a sua toxina é termoestável, não sendo eliminada durante o aquecimento do alimento (BRASIL, 2010; CDC, 2017a). Ainda, essa toxina é resistente à ação de enzimas proteolíticas, permanecendo ativa após a ingestão (SENGER & BIZANI, 2011). A multiplicação da bactéria e a consequente produção da toxina é otimizada em temperaturas entre 10 e 46°C (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Por se tratar da ingestão de toxina pré-formada no alimento, os sintomas dessa intoxicação alimentar surgem rapidamente, cerca de 30 minutos a 6 horas após o consumo do alimento contaminado e duram, geralmente, um único dia (LOGUERCIO *et al.*, 2001; CDC, 2017a). Entre os sinais clínicos destacam-se vômitos, náusea, dor abdominal e diarreia (CDC, 2017a). Casos mais severos são raros, no entanto podem ocorrer em pessoas imunodeprimidas (LOGUERCIO *et al.*, 2001).

No Brasil, entre os agentes etiológicos das DTA identificados nos últimos dez anos, *S. aureus* foi um dos principais responsáveis por surtos, sendo isolado em 5,7% dos casos notificados; ressaltando que em 70,6% dos casos o agente não foi identificado (BRASIL, 2017).

2.3 *Listeria* spp.

As bactérias desse gênero são cocobacilos Gram-positivos curtos, anaeróbias facultativas, catalase positivas, oxidase negativas e não formadoras de esporos. Podem se mover devido à presença de flagelos a uma temperatura de 25°C (movimento de saca-rolhas), e se multiplicar em temperaturas que variam de 1 a 45°C, além de suportarem valores de pH entre 5,5 e 9,6 e ambientes com altas

concentrações salinas (QUINN, 2005; CRUZ *et al.*, 2008). Entre as espécies desse gênero existem três frequentemente implicadas em doenças, a *L. monocytogenes*, causando doenças em animais e no homem, e a *L. innocua* e *L. ivanovii*, envolvidas em doenças animais (QUINN, 2005).

Apesar de ser um microrganismo de alta patogenicidade (CDC, 2017a), *L. monocytogenes* é pouco relacionada a casos no Brasil (CRUZ *et al.*, 2008). Contudo, nos últimos anos tem causado grande preocupação por seu envolvimento em surtos de DTA em outros países (SILVA *et al.*, 2010). A listeriose, infecção alimentar causada por esse patógeno, embora rara, é uma doença grave, sendo que uma a cada cinco pessoas infectadas vem a óbito (CDC, 2017a). Entre os mais suscetíveis estão indivíduos com sistema imune debilitado, mulheres grávidas, crianças e idosos (CRUZ *et al.*, 2008; CDC, 2017a).

Os sinais clínicos da listeriose são variados e dependem da imunidade e da parte do corpo afetada. A listeriose não invasiva caracteriza-se por hipertermia, náusea, vômito e diarreia, sendo dificilmente diagnosticada (CRUZ *et al.*, 2008; CDC, 2017a). Porém, há registros de síndromes pós-infecção reconhecidas como importantes sequelas de DTA, como abortamento, parto prematuro, meningite e encefalite em pacientes com listeriose, caracterizando-se como forma invasiva da doença (BRASIL, 2010; CDC, 2017a). O período de incubação no caso da listeriose invasiva varia de uma a quatro semanas, após a ingestão do alimento contaminado (CDC, 2017a).

Listeria spp. além de ser um microrganismo saprofítico ambiental, possui como reservatório, o homem e o animal, fatores que contribuem para a contaminação dos alimentos durante as diversas fases da cadeia produtiva (SILVA *et al.*, 2011). Quando se trata de *Listeria* spp., alguns alimentos apresentam maior risco do que outros, como os queijos macios e frescos (CDC, 2017a). Os queijos, devido à sua composição físico-química, fornecem excelentes substratos para a multiplicação de microrganismos, incluindo a *L. monocytogenes* (CHIODA *et al.*, 2006).

O surto mais recente de listeriose ocorreu entre setembro de 2016 e março de 2017 nos Estados Unidos, onde oito pessoas de quatro diferentes estados foram hospitalizadas e diagnosticadas com a doença, em consequência da ingestão de queijo de massa macia produzido a partir de leite cru. A idade média das pessoas envolvidas era de 52 anos, no entanto, entre os doentes estavam uma criança com menos de um

ano de idade e um idoso de 89 anos. Duas pessoas vieram a óbito, incluindo a criança, e os queijos da empresa envolvida foram retirados do mercado (CDC, 2017b).

2.4 QUEIJO MINAS FRESCAL

O queijo Minas frescal é um queijo fresco obtido por coagulação enzimática do leite pelo coalho ou outras enzimas apropriadas, que pode ou não, ser complementada por bactérias lácticas específicas. Trata-se de um queijo semi-gordo e de muita alta umidade e, entre as características distintivas do seu processo de elaboração, destacam-se a massa coalhada, dessorada, não prensada, salgada e não maturada (BRASIL, 1997; BRAGANÇA *et al.*, 2001).

Por ser de fácil fabricação, ter alto rendimento e preço acessível, é um produto amplamente consumido e produzido em diversas regiões do Brasil (PASSOS *et al.*, 2009; FERREIRA *et al.*, 2011; SENGER & BIZANI, 2011). Os principais problemas relativos a este tipo de queijo estão relacionados à qualidade da matéria-prima utilizada, a higienização deficiente do local de produção, manipulação inadequada sem atenção aos critérios de higiene pessoal, além do armazenamento em temperatura elevada, propiciando o crescimento de microrganismos no produto (BARROS *et al.*, 2004).

Em decorrência disso, as indústrias alimentícias adotam, no seu funcionamento, os programas de autocontrole, entre eles as Boas Práticas de Fabricação (BPF), com o intuito de garantir a qualidade sanitária do produto final (APOLINÁRIO *et al.*, 2014). O cumprimento dessas normas é verificado pelo MAPA durante suas auditorias (BRASIL, 2017). Já na produção artesanal, os critérios das BPF e as normas higiênico-sanitárias nem sempre são considerados, expondo ao risco sanitário os consumidores (SENGER & BIZANI, 2011).

O seu sabor é suave ou levemente ácido e em alimentos pouco ácidos, com pH superior a 4,5, observa-se o predomínio de bactérias esporuladas, bactérias patogênicas aeróbias e anaeróbias que podem vir a causar riscos à saúde pública (BRASIL, 1997; BRASIL, 2010). Devido a sua alta atividade de água e riqueza de nutrientes, o queijo Minas frescal é um alimento altamente perecível, devendo ser armazenado a uma temperatura não superior a 8°C, com vida útil curta (LOGUERCIO & ALEIXO, 2001; CARVALHO *et al.*, 2007).

Visando garantir a inocuidade do produto, os requisitos microbiológicos foram fixados pelo MAPA e são verificados diariamente nas indústrias de beneficiamento após a produção de cada lote. Entre esses requisitos estão a ausência de *L. monocytogenes* e, para estafilococos coagulase positiva, tolera-se que duas a cada cinco amostras apresentem contagem entre 100 e 1.000 UFC.g⁻¹ (BRASIL, 1996).

3. METODOLOGIA

3.1 AQUISIÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram adquiridos dez queijos Minas frescal, sob temperatura de refrigeração, comercializados na região da Zona da Mata mineira, no mês de março de 2017. Dessas amostras, cinco eram industriais (A, B, C, D e E), com registros no serviço de inspeção, e cinco artesanais (F, G, H, I, e J), oriundas do comércio informal da referida região.

Os queijos foram mantidos em suas embalagens originais e acondicionados em caixa isotérmica, até o momento da chegada ao Laboratório de Microbiologia do Hospital-Escola Gardingo da Faculdade Vértice, para a realização imediata das análises microbiológicas.

3.2 CONTAGEM DE *Staphylococcus coagulase positiva*

Para a contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* foi adotada uma adaptação do protocolo definido pelo capítulo V da Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003).

Para isso, 2,5g de cada amostra foram adicionadas em frascos estéreis contendo 22,5mL de solução salina peptona 0,1%, seguido de homogeneização, correspondendo a diluição de 10⁻¹. A partir dessa diluição inicial, foram realizadas diluições seriadas (10⁻² e 10⁻³) para, em seguida, serem inoculados 0,1mL de cada diluição na superfície seca do ágar *Staphylococcus Medium*.

As amostras foram incubadas a 36 ± 1°C por 30 a 48 horas e após esse período foram selecionadas placas que continham entre 20 e 200 colônias. Para a contagem, foram selecionadas colônias típicas de *Staphylococcus* (colônias amarelo-alaranjadas).

Por fim, as colônias foram semeadas em tubos contendo BHI, por 36 ± 1°C por 24 horas, para realização das provas de confirmação: coagulase, catalase e coloração de Gram.

3.3 PESQUISA DE *Listeria* spp.

Para pesquisa de *Listeria* spp. foi adotado o protocolo adaptado estabelecido pelo capítulo XIV, da Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003).

Inicialmente, 2,5g de cada amostra foram adicionadas em frascos estéreis contendo 22,5 mL de caldo para enriquecimento de *Listeria* (LEB) (Oxoid), seguido de homogeneização e incubadas a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas. Após esse período, 0,1mL de cada cultura foram transferidos para tubos contendo 10mL de caldo Fraser (Oxoid) e incubados novamente a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas.

Após essas etapas de pré-enriquecimento, foi realizado o isolamento de *Listeria* spp., quando as culturas obtidas de cada amostra foram repicadas em placas contendo ágar Oxford (AO) (Oxoid) e ágar Palcam (AP) (Oxoid). A incubação foi realizada a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas, para posterior leitura dos resultados. Colônias pretas rodeadas por halo escuro em AO e colônias verde-amareladas rodeadas por zona escura ou colônias verde-acinzentadas em AP, foram consideradas características para *Listeria* spp.

As colônias consideradas típicas foram selecionadas para realização de duas provas de confirmação e identificação do resultado, prova da catalase e coloração de Gram.

3.4 ANÁLISE DOS RESULTADOS

Os dados encontrados foram dispostos na forma de frequência de resultados positivos para contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e presença de *Listeria* spp. por amostra e entre as diferentes categorias de queijos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a análise das dez amostras coletadas, somente duas amostras apresentaram crescimento de *Staphylococcus* coagulase positiva. O diagnóstico foi confirmado tanto pela característica de colônia apresentada no ágar *Staphylococcus* Medium (FIGURA 1), quanto pelas provas confirmatórias, catalase, coagulase e coloração de Gram (FIGURA 2).

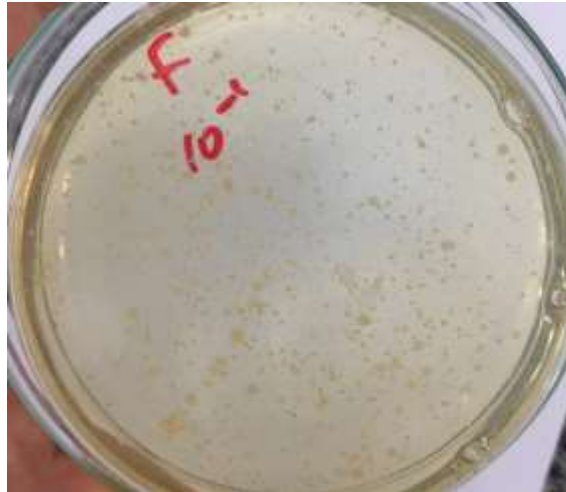


Figura 3. Colônias típicas de *Staphylococcus* spp. em ágar *Staphylococcus* Medium.

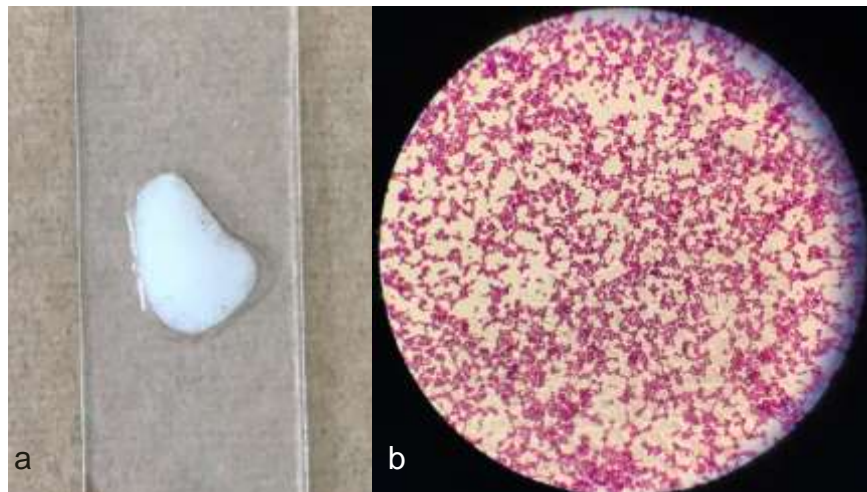


Figura 4. Resultados das provas de confirmação e identificação de *Staphylococcus* coagulase positivos: a) Reação positiva à prova da catalase; b) Cocos Gram-positivos à coloração de Gram (100x).

Ambas as amostras positivas eram provenientes de queijos artesanais (F e J) e apresentaram contagens acima do padrão permitido pelo MAPA, de 100 a 1.000 estafilococos coagulase positiva por grama (BRASIL, 1996), correspondendo a 40% das amostras artesanais e 20% do total de amostras analisadas (TABELA 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Apolinário *et al.*, (2014), onde 16,12% de 31 amostras de queijos Minas frescal industriais analisadas se encontraram fora do limite permitido pela legislação.

Tabela 2. Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e pesquisa de *Listeria* spp. em amostras de queijos Minas frescal industriais e artesanais, comercializados na região da Zona da Mata mineira

Queijos Minas frescal		Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (UFC.g ⁻¹)	Presença de <i>Listeria</i> spp.
Queijos industriais	A	-	-
	B	-	Presente
	C	-	Presente
	D	-	-
	E	-	-
Queijos artesanais	F	2,18x10 ⁵	Presente
	G	-	-
	H	-	Presente
	I	-	-
	J	1,62x10 ⁴	Presente

Nota:(-) = Ausente (microrganismo em questão não foi encontrado na amostra analisada).

Por outro lado, discordando dos resultados obtidos neste trabalho, Pinto *et al.*, (2011) ao analisarem 40 amostras de queijos Minas frescal, sendo 20 artesanais e 20 industriais, observaram que 100% das amostras artesanais e 25% das industriais apresentaram resultado superior ao exigido pela legislação para contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva. Ferreira *et al.*, (2011) também encontraram valores significativamente mais altos quando comparados com estes resultados, sendo que 90% das 20 amostras estudadas estavam fora do padrão em queijos Minas frescal artesanais. Da mesma forma, Komatsu *et al.*, (2010) confirmaram a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em seus testes em 88% de 50 amostras artesanais analisadas, atribuindo essa contaminação significativa à falta de um padrão de higiene operacional e de sanitização durante o preparo dos queijos.

Já Salotti *et al.*, (2006) encontraram resultados próximos ao presente estudo no que tange as amostras artesanais, onde 30% (n=30) estavam fora do padrão legislativo; porém, ao contrário do descrito na Tabela 1, esses autores observaram que 10% (n=10) das amostras industriais de queijos Minas frescal, também apresentaram contagem acima do permitido. Ainda, Brigido *et al.*, (2004) após análise de 22 amostras, 13,6% estavam contaminadas por esses microrganismos, resultado inferior ao obtido nesse estudo. Contudo, segundo esses mesmos autores, esses achados reafirmam que o queijo Minas frescal é responsável direto por casos de intoxicação alimentar por onde é consumido (BRIGIDO *et al.*, 2004).

Como os estafilococos estão presentes na pele dos homens, os infectados quando entram em contato, por exemplo com o solo, água e até mesmo o próprio leite causam a contaminação. Manipuladores e responsáveis pela produção de queijos que

apresentam feridas infectadas por *S. aureus* nos braços e mãos são grandes disseminadores desse microrganismo (ANTUNES *et al.*, 2011); assim, quando as medidas de controle sanitárias não são colocadas em prática ou quando as condições higiênicas são precárias no ambiente de fabricação, a contaminação do produto se torna mais provável (SABIONI *et al.*, 1998). Outro exemplo característico de contaminação do produto lácteo, por essa bactéria é em consequência da mastite estafilocócica do gado leiteiro, onde o leite já se contamina na cisterna da glândula mamária (ANTUNES *et al.*, 2011).

No que diz respeito à pesquisa de *Listeria* spp., cinco das dez amostras analisadas revelaram colônias características do patógeno em questão, em ágar AO e ágar AP (FIGURA 3). Estas amostras foram submetidas às provas confirmatórias (FIGURA 4), comprovando o diagnóstico de *Listeria* spp.

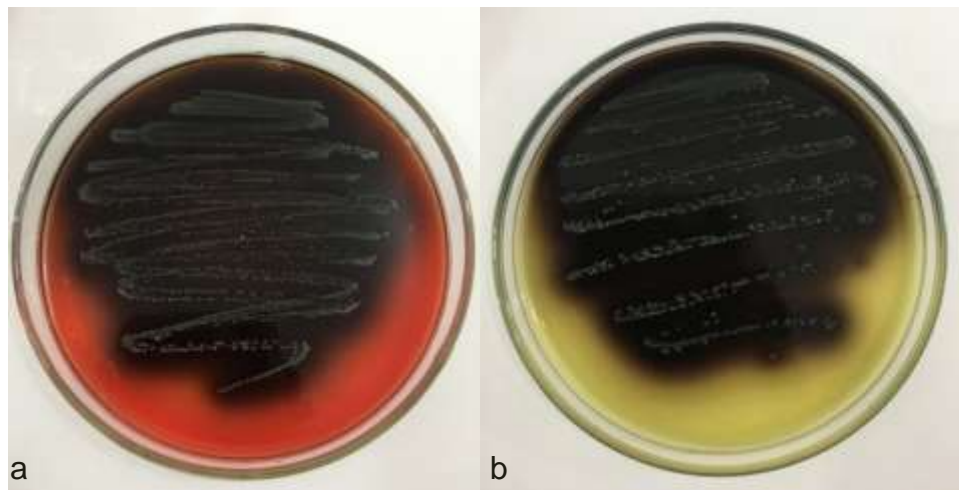


Figura 5. Colônias características de *Listeria* spp.: a) colônias verdes amareladas com halo preto em ágar Palcam (AP); b) colônias negras com halo preto em ágar Oxford (OX).

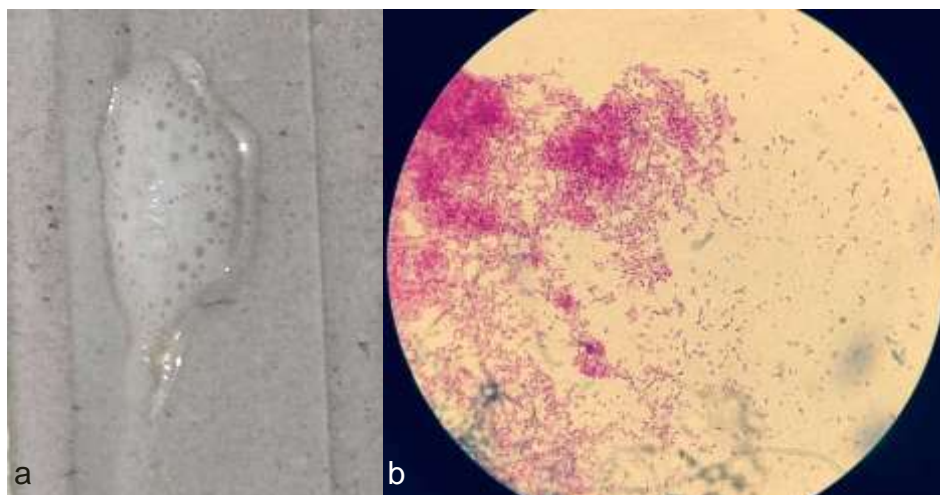


Figura 6. Resultados das provas de confirmação de *Listeria* spp.: a) Reação positiva à prova da catalase; b) Bacilos curtos Gram-positivos à coloração de Gram (100x).

Esses resultados demonstraram que 40% das amostras de queijos industriais (B e C) e 60% das amostras artesanais (F, H e J) foram positivas para *Listeria* spp., estando, então, 50% do total de amostras analisadas fora do padrão sanitário exigido pela Portaria nº 146, de 7 de março de 1996 (BRASIL, 1996), a qual preconiza a ausência do patógeno em questão nesse tipo de alimento (TABELA 1).

Em seu estudo, Apolinário *et al.*, (2014) verificaram contaminação de queijos Minas frescal por *Listeria monocytogenes* em 9,6% das amostras analisadas (n=31). Brigido *et al.* (2004), por sua vez, constataram a presença desse patógeno em uma das 22 amostras analisadas, correspondendo a 4,5% de amostras contaminadas e fora do padrão exigido. Ambos os resultados foram inferiores aos ilustrados na Tabela 1, contudo também oferecendo riscos à saúde do consumidor.

Pinto *et al.*, (2011) e Salotti *et al.*, (2006), no entanto, relataram que não encontraram *L. monocytogenes* em nenhuma das amostras adquiridas em seus respectivos estudos, incluindo tanto amostras artesanais quanto industriais.

A presença de *L. monocytogenes* em alimentos é favorecida pela sua capacidade de se multiplicar em temperaturas de refrigeração e o fato de serem, entre os patógenos não esporulados, os de maior resistência térmica, representando risco à saúde pública. Além disso, encontram-se amplamente distribuídas no ambiente, o que facilita a contaminação dos alimentos durante suas etapas de produção (SILVA *et al.*, 2011). Entre as causas mais prováveis para a contaminação por *L. monocytogenes* de queijos estão o uso de leite cru, a pasteurização insuficiente ou a contaminação após o beneficiamento do leite (PINTADO *et al.*, 2005). Essa última em decorrência da sua

presença no ambiente e da capacidade de formar biofilmes em superfícies, quando da higienização deficiente, o que acaba se tornando uma fonte de contaminação por esse patógeno (SILVA *et al.*, 2011).

Por fim, a análise conjunta dos resultados (contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e pesquisa de *Listeria* spp.) demonstrou que 50% das amostras coletadas apresentaram resultados fora do padrão normativo. Sendo que os queijos industriais apresentaram melhor qualidade sanitária quando comparados aos queijos artesanais (TABELA 1). Esse fato pode ser explicado pela adoção de um controle sistemático de produção no sistema industrial, o que não é observado no artesanal (APOLINÁRIO *et al.*, 2014). Embora no Brasil o queijo Minas frescal seja tradicionalmente e frequentemente produzido de forma artesanal, essa se dá, na maioria das vezes, com higiene precária (SENGER & BIZANI, 2011; SILVA *et al.*, 2011). Mesmo sendo proibido a sua fabricação com leite cru (BRASIL, 1996), é bastante comum a comercialização desse leite e o seu uso na produção desse tipo de queijo (SILVA *et al.*, 2011).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a análise microbiológica dos queijos Minas frescal comercializados na região da Zona da Mata mineira, observou-se a presença de *Listeria* spp. em 40% das amostras de queijos industriais e em 60% dos queijos artesanais. A presença de *Staphylococcus* coagulase positiva acima do padrão permitido ocorreu apenas nos queijos artesanais, em 40% das amostras colhidas.

A ocorrência de contaminações em menor frequência nos queijos Minas frescal industriais, confirma o emprego de melhores condições higiênicas no momento da manipulação desse produto, quando comparado às condições artesanais de produção. Assim, a principal medida de controle está na aplicação das BPF, que devem abranger desde a produção da matéria-prima até a obtenção do produto final, assegurando o emprego de medidas preventivas e corretivas em todas as etapas de produção e, por consequência, a saúde pública.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA FILHO, E.S.; LINDNER, A.L.; ALMEIDA, D.S.; SIGARINI, C.O.; FERREIRA, M.B. Perfil microbiológico de queijo tipo minas frescal, de produção artesanal e

inspecionada, comercializado no município de Cuiabá, MT. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 92/93, p.51-56, 2002.

ANTUNES, M.L.; MANEIRA, A.M. Análise microbiológica de diversas marcas de queijo Minas frescal em vários pontos de comercialização da cidade de Uberaba-MG. **Cadernos de Pós-Graduação da FAZU**, v.1, p.1-5, 2011.

APOLINÁRIO, T. C. C.; SANTOS, G. S.; LAVORATO, J. A. A. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo Minas frescal produzido por laticínios do estado de Minas Gerais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.69, n.6, p.433-442, 2014.

BARANCELLI, G. V.; CRUZ, J.V.S.; PORTO, E.; OLIVEIRA, C.A.F. *Listeria monocytogenes*: ocorrência em produtos lácteos e suas implicações em saúde pública. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.78, n.1, p.155-168, 2011.

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. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos**. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. **Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Queijo Minas Frescal**. Portaria nº 352, de 04 de setembro de 1997. Diário Oficial da União de 08/09/1997, Seção 1, Página 19684. 1997.

BRIGIDO, B. M.; FREITAS, V. P.S.; MAZON, E. M. A.; PISANI, B.; PRANDI, M. A. G.; PASSOS, M. H. C. R.; Queijo Minas frescal: avaliação da Qualidade e Conformidade com a Legislação. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, p.177-185, 2004.

CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Foodborne illness**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/foodsafety/diseases/index.html>>. Acessado em: 10 fev. 2017a.

CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Multistate outbreak of listeriosis linked to soft raw milk cheese made by Vulto Creamery (final update)**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/soft-cheese-03-17/index.html>>. Acessado em: 30 mar. 2017b.

CHIODA, T. P.; ITURRINO, R. P. S.; GARCIA, G. R.; MACRI, S. F.; TROVO, K. P.; MEDEIROS, A. B. Inibição do crescimento de *Listeria monocytogenes* em queijo Minas frescal elaborado com cultura de *Lactobacillus acidophilus*. **Revista Portuguesa de Clínica Veterinária**, v.101, p.121-124, 2006.

COSTA, S. D. O.; PENTEADO, A. L.; OLIVEIRA, E. M. M.; SOARES, C. M. Incidência de *Listeria monocytogenes* em queijo Minas frescal comercializado no município do Rio de Janeiro, RJ. **Higiene de Alimentos**, v.26, n.206-207, p.156-159, 2012.

DUARTE, D.A.M.; SCHUCH, D.M.T.; SANTOS, S.B.; RIBEIRO, A.R.; VASCONCELOS, AM. M.; SILVA, J.V.D.; MOTA da R.A.; Pesquisa de *Listeria monocytogenes* e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijo de coalho produzido e comercializado no Estado de Pernambuco. **Arquivo Instituto de Biologia**, v.72, n.3, p. 297-302. 2005.

FEITOSA, T.; BORGES, M.F.; NASSU, R.T.; AZEVEDO, E.H.F.; MUNIZ, C.R. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 162-165, 2003.

FERNANDES, A. M.; ANDREATTA, E.; OLIVEIRA, C. A. F. de. Ocorrência de bactérias patogênicas em queijos no Brasil: questão de Saúde Pública. **Revista Higiene Alimentar**, v.20, n.144, p.49-56, 2006.

GRANDI, A.Z.; ROSSI, D.A. Qualidade microbiológica do queijo Minas frescal comercializado na cidade de Uberlândia – MG. **Revista Horizonte Científico**, Uberlândia, v.1, n.7, p.1-18, 2007.

JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712p.

KOMATSU, R.S.; RODRIGUES, M.A.M.; LORENO, W.B.N.; SANTOS, K.A. Ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positiva em queijos Minas frescal produzidos em Uberlândia-MG. **Bioscience Journal**, v.26, n.2, p. 317-321, 2010.

LOGUERCIO, A.P.; ALEIXO, J.A.G. Microbiologia do queijo tipo Minas frescal produzido artesanalmente. **Ciência Rural**, v.31, n.6, p.1063-1067, 2001.

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.

PINTADO, C.M.B.S.; OLIVEIRA, A.; PAMPULHA, M.E.; FERREIRA, M.A.S.S. Prevalence and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from soft cheeses. **Food Microbiology**, v.22. p.79-85, 2005.

PINTO, F.G.S.; SOUZA, M.; SALING, S.; MOURA, A.C. Qualidade microbiológica de queijo Minas frescal comercializado no município de Santa Helena, PR, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.78, n.2, p. 191-198, 2011.

QUINTANA, R.C.; CARNEIRO, L.C. Avaliação das condições higiênico-sanitárias dos queijos Minas frescal e muçarela produzidos na cidade de Morrinhos-GO. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, n.3, p.205-211, 2007.

SABIONI, J.G.; HIROOKA, E.Y.; SOUZA, M.L.R. Intoxicação alimentar por queijo Minas contaminado com *Staphylococcus aureus*. **Revista de Saúde Pública-São Paulo**, v.22, n.5, p.458-61, 1998.

SALOTTI, B. M.; CARVALHO, A. C. F. B.; AMARAL, L. A.; MARTINS, A. M. C. V.; CORTEZ, A. L. Qualidade microbiológica do queijo Minas frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73, n.2, p. 171-175, 2006.

SANGALETTI, N.; PORTO, E.; BRAZACA, S.G.C.; YAGASAKI, C.A.; DALLA DEA, R.C.; SILVA, M.V. Estudo da vida útil de queijo Minas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.2, p.262-269, 2009.

SANTOS, F.A.; NOGUEIRA, N.A.P.; CUNHA, G.M. Aspectos microbiológicos do queijo tipo coalho comercializado em Fortaleza – CE. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v.13, n.1, p.31-36, 1995.

SENGER, A.E.V.; BIZANI, D. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* em queijo Minas frescal, produzido de forma artesanal e industrial, comercializado na cidade de Canoas/RS, Brasil. **Revista de Ciências Ambientais**, v.5, n.2, p.25-42, 2011.

SILVA, A.S.; ARAGON, C.C.; SANTANA, E.H.W.; DESTRO, M.T.; COSTA, M.R.; ALEGRO, L.C.A. *Listeria monocytogenes* em Leite e Produtos Lácteos no Brasil: uma Revisão. **UNOPAR Centro de Ciências Biológicas e da Saúde**, v.13, n.1, p.59-67, 2011.

SILVA, F.T. **Queijo minas frescal**. Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 50p.

VIEIRA, A.P. **Aplicação de bacteriocinas lácticas para controle de *Listeria monocytogenes* em queijo Minas frescal processado pelo método de acidificação direta**. Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências para a Escola superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 106p. 2011.

VISOTTO, R.G.; OLIVEIRA, M.A.; PRADO, S.P.T.; BERGAMINI, A.M.M. Queijo Minas Frescal: perfil higiênico-sanitário e avaliação da rotulagem. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.70, n.1, p.8-15, 2011.

ZOCCAL, R. **Queijos: produção e importação**. 2016. Disponível em: <<http://www.baldebranco.com.br/queijos-producao-e-importacao/>>. Acesso em: 05 mar. 2017.

PESQUISA DE *Salmonella* spp. EM CARÇAÇAS BOVINAS DURANTE DIFERENTES ETAPAS DO ABATE

Acadêmicos: Lucas Matos Camilo e Nilson Gomes dos Reis Júnior

Orientadora: Letícia Ferreira da Silva

RESUMO

Salmonella spp. é um dos principais patógenos envolvido em surtos de doenças transmitidas por alimentos, comprometendo tanto a saúde humana quanto a produtividade animal. Na infecção humana, um veículo comum é a carne bovina, tornando necessário o controle dessa contaminação a partir da implantação de programas de autocontrole nos estabelecimentos de abate. Assim, esse trabalho teve como objetivo identificar a contaminação por este patógeno alimentar em pontos distintos de um abatedouro frigorífico sob Serviço de Inspeção Federal, localizado em Minas Gerais. Para isso, foram coletadas amostras, por esfregaços superficiais, de duas carcaças bovinas nas seguintes etapas do abate: I) após a sangria (do couro do animal), II) após a esfolagem, III) após a evisceração, e IV) após a lavagem final (realizada com água fria). Para análise microbiológica das amostras foi adotada uma adaptação da metodologia analítica estabelecida pela ISO 6975 (ISO, 2002). Foi detectada a presença de *Salmonella* spp. em ambas as carcaças amostradas, sendo a lavagem final a etapa responsável pela maior contaminação das carcaças, com 100,0% das amostras positivas. Esses achados sugerem falhas no sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle do referido estabelecimento, o que resulta em risco sanitário aos consumidores.

Palavras-chave: APPCC; carne *in natura*; salmonelose.

1. INTRODUÇÃO

Os produtos de origem animal, especialmente a carne, são importantes fontes de nutrientes na dieta humana; no entanto, também representam uma fonte para sérias injúrias de origem alimentar (D'OSTUNI *et al.*, 2016). A composição química da carne a torna um excelente meio de cultura, uma vez que possui elevada atividade de água, é rica em substâncias nitrogenadas, minerais e fatores de crescimento (CASELANI, 2010).

Um dos patógenos estudados mais importantes no mundo, *Salmonella* spp., é capaz de causar severa doença transmitida por alimentos em humanos e em animais, impactando tanto a saúde pública quanto a produtividade animal (MAJOWICZ *et al.*, 2010). No Brasil, *Salmonella* spp. vem sendo um dos principais patógenos responsáveis por surtos alimentares nos últimos dez anos (BRASIL, 2017). A maioria dos casos de infecção humana por este micro-organismo estão associadas, exatamente, a ingestão de alimentos contaminados, como carne bovina, suína e de aves *in natura* (CAI *et al.*, 2016).

Como consequência, as exigências por carnes de boa qualidade e procedência estão, a cada dia, maiores (PRATA *et al.*, 2013). O senso crítico e apurado do consumidor faz com que as carnes sejam obtidas sob mecanismos e sistemas que monitorem produção, abate, industrialização e transporte até o consumidor final, garantindo, assim, procedência e confiabilidade (BRIDI, 2004).

Para isso, o modo mais eficiente de se reduzir a contaminação e o crescimento de bactérias em produtos cárneos, é o estabelecimento de programas preventivos de controle de qualidade, como o sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), que podem ser validados pela pesquisa de micro-organismos indicadores de higiene e patogênicos (BRANDÃO *et al.*, 2012).

Sendo assim, baseado na relevância de *Salmonella* spp. na cadeia produtiva da carne, o presente trabalho teve como objetivo identificar a contaminação por este patógeno alimentar em pontos distintos de um abatedouro frigorífico sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), localizado em Minas Gerais, além de avaliar a eficiência e possíveis falhas do APPCC implantado no referido estabelecimento.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 *Salmonella* spp. E SALMONELOSE

As bactérias do gênero *Salmonella* pertencem à família *Enterobacteriaceae* e são bacilos Gram-negativos que fermentam a glicose, geralmente móveis, oxidase-negativas, catalase-positivas, urease-negativas e anaeróbias facultativas não formadoras de esporos (QUINN *et al.*, 2005).

Até o presente momento, já foram identificados mais de 2.500 sorotipos de *Salmonella* (SON *et al.*, 2013). Esta sorotipagem é baseada na identificação tanto dos antígenos somáticos (O) quanto dos antígenos flagelares (H) (QUINN *et al.*, 2005). Entre os diferentes sorotipos já descritos, *Salmonella* Enteritidis tem sido reconhecida como o agente etiológico mais comum da salmonelose humana; no entanto, outros sorotipos também são prevalentes em certos tipos de alimentos (YIN *et al.*, 2016).

Atualmente, existem aproximadamente 250 tipos de doenças de origem alimentar, sendo que muitas são causadas por micro-organismos patogênicos, responsáveis por graves problemas no setor de saúde pública e comercial (OLIVEIRA *et al.*, 2010). O consumo de algum alimento contaminado por esses micro-organismos resulta em processos patológicos conhecidos como Doenças Transmitidas por

Alimentos (DTA), que podem ser classificadas em infecção, intoxicação ou toxinfecção alimentar (BRASIL, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Com relação aos alimentos incriminados em surtos de DTA nos últimos dez anos no Brasil (2007 a 2017), a carne bovina *in natura*, seus processados e miúdos, foram responsáveis por 2,1% dos surtos, ocupando o sétimo lugar do *ranking*. E, entre os agentes etiológicos responsáveis por esses mesmos surtos, *Salmonella* spp. foi o segundo principal micro-organismo envolvido, estando presente em 7,2% dos casos reportados. Contudo, em 70,6% dos casos não os patógenos não foram identificados pelos serviços médicos (BRASIL, 2017).

Salmonella spp. é, portanto, um importante patógeno de origem alimentar associado com diversos produtos de origem animal, como a carne crua e seus derivados, causando infecções em humanos (D'OSTUNI *et al.*, 2016). A maior parte das pessoas com salmonelose desenvolvem diarreia, febre e dores abdominais entre 12 a 72 horas após a ingestão do alimento contaminado. Esses sinais permanecem por quatro a sete dias, sendo que a maior parte dos doentes se recuperam sem a necessidade de tratamento. No entanto, em algumas pessoas, geralmente idosos, crianças e imunodeprimidos, a diarreia pode ser mais severa, levando a necessidade de hospitalização. Nesses casos, *Salmonella* pode ultrapassar a barreira intestinal, causando septicemia e morte do paciente (CDC, 2016).

2.2 *Salmonella* spp. NA CADEIA PRODUTIVA DA CARNE

O atributo microbiológico de um alimento é considerado de extrema importância e deve ser controlado adequadamente por duas razões principais: para prevenir a ocorrência das DTA; e para retardar ou inibir a multiplicação de micro-organismos deterioradores, melhorando, assim, a qualidade e o tempo de conservação do produto final (BONESI & SANTANA, 2008).

A ocorrência de *Salmonella* spp. em carne *in natura* é comum pela presença desta bactéria no trato gastrointestinal dos animais de produção, como bovinos, suínos e aves, facilitando, assim, a contaminação de carcaças durante o abate, principalmente em decorrência do manuseio e processamento inadequados (BUNCIC & SOFOS, 2012).

Ainda, este patógeno dificilmente é eliminado dentro das técnicas usuais de processamento. Isso se deve ao fato dos animais serem, na maioria das vezes,

portadores assintomáticos. O número de portadores também pode aumentar durante o transporte e o período de descanso, jejum e dieta hídrica que antecede o abate. Além disso, o estresse nessa etapa, reduz a resistência imunológica, propiciando a passagem da bactéria para os tecidos do animal (BONESI & SANTANA, 2008).

De acordo com os parâmetros microbiológicos para carne e produtos cárneos estabelecidos pela Resolução-RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2011 e adotados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), pode-se utilizar uma amostragem indicativa (apenas uma amostra) ou representativa (cinco amostras) de um lote, sendo que o resultado para *Salmonella* spp. deve ser ausência em 25g de carne *in natura* (carcaças inteiras, fracionadas ou cortes) (BRASIL, 2001). Contudo, uma vez que várias etapas do abate de bovinos e do processamento da carne são consideradas cruciais para a contaminação por *Salmonella* spp., essa atividade requer constante monitoramento e controle, o que atualmente é realizado pelos programas de autocontrole ou de controle de qualidade (COSSI *et al.*, 2014).

2.3 PROGRAMAS DE CONTROLE DE QUALIDADE EM ESTABELECIMENTOS DE ABATE

Durante o abate, a carne é exposta a várias fontes de contaminação, como o conteúdo intestinal, o ambiente e os instrumentos que entram em contato com a carcaça e seus derivados. Por isso, se faz necessário o controle do risco microbiológico de todo processamento, para assim garantir a inocuidade do alimento (ANDRÉ *et al.*, 1999).

Para o melhor controle de patógenos, como *Salmonella* spp., os estabelecimentos processadores de carne, assim como os de abate, devem operar sob os princípios dos programas de autocontrole (programas de caráter preventivo), requeridos por diversos países, como Estados Unidos, União Europeia e Brasil (BRASIL, 1997; BRANDÃO *et al.*, 2012; BUNCIC & SOFOS, 2012).

Variados são os sistemas de controle de qualidade adotados pelos setores produtivos (PINTO, 2014). Entre os programas de autocontrole reconhecidos e adotados pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF) estão as Boas Práticas de Fabricação (BPF), os Procedimentos Padrões de Higiene Operacional (PPHO), os Procedimentos Sanitários Operacionais (PSO) e, mais recentemente, o sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (BRASIL, 1997; BRASIL, 1998).

2.3.1 APPCC

O sistema APPCC foi instituído pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), nas indústrias de produtos de origem animal sob regime do SIF, pela Portaria nº 46, de 10 de fevereiro de 1998. Tem como pré-requisitos para a sua implantação, um sistema já bem estabelecido de BPF e PPHO (BRASIL, 1998).

Esta proposta, ao ser reconhecida pelo Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal, tornou-se parte importante das atividades oficiais de controle sanitário destes produtos; sendo que, especificamente na produção de carne, surgiu como uma alternativa para a prevenção dos agravos à saúde pública (PINTO, 2014).

O APPCC prioriza a prevenção, eliminação ou redução dos perigos à saúde do consumidor nas diversas etapas da cadeia produtiva (desde a criação do gado até o consumo da carne) e, para que isso aconteça, é constituído por sete princípios básicos que devem ser rigorosamente seguidos: identificação do perigo, identificação do ponto crítico, estabelecimento do limite crítico, monitorização, ações corretivas, procedimentos de verificação e registro dos resultados (RIBEIRO-FURTINI & ABREU, 2006; PINTO, 2014).

Entre os perigos destacados pelo sistema, encontram-se os de origem biológica, como bactérias patogênicas ao homem que podem contaminar a carcaça em diversas fases do abate, entre elas *Salmonella* spp. (PINTO, 2014). E, embora o APPCC seja específico para cada estabelecimento e atividade, alguns pontos críticos de controle (PCC) são bem estabelecidos no abate de bovinos, sendo eles a esfolagem, a evisceração e a lavagem da carcaça anterior ao armazenamento em câmara fria (BONESI & SANTANA, 2008; BRANDÃO *et al.*, 2012; BUNCIC & SOFOS, 2012). Estas etapas operacionais são consideradas PCC por propiciarem maior grau de contaminação das carcaças e proliferação microbiana, devendo permanecerem sob monitorização contínua e sistemática. Essa maior probabilidade de contaminação pode ser consequência de erros, imperícia, descuidos nos procedimentos tecnológicos e/ou higiênico-sanitários (BONESI & SANTANA, 2008).

Este sistema, portanto, adotado pelos principais mercados mundiais, assegura que os alimentos industrializados sejam elaborados sem riscos à saúde pública, apresentem padrões uniformes de identidade e qualidade, além de atenderem às

legislações nacionais e internacionais, no que diz respeito aos aspectos sanitários de qualidade e integridade econômica, abrindo portas para o crescimento da indústria da carne brasileira (BRASIL, 1998).

3. METODOLOGIA

3.1 ABATEDOURO FRIGORÍFICO E AMOSTRAGEM

O estudo foi realizado, com o consentimento do proprietário, em um abatedouro frigorífico sob SIF situado em Minas Gerais, que possui um sistema APPCC já bem consolidado. O abate nesse estabelecimento ocorre em cinco dias da semana com capacidade de matança diária de 100 bovinos, e, em sua instalação, não existe separação física entre a área suja e a área limpa. O estabelecimento não tem permissão para exportar, sendo os seus produtos destinados exclusivamente ao mercado interno.

Durante a visita ao abatedouro frigorífico, foram coletadas amostras a partir de esfregaços superficiais (método não destrutivo) de duas carcaças bovinas em quatro diferentes etapas do abate: I) após a sangria (do couro do animal), II) após a esfolagem, III) após a evisceração, e IV) após a lavagem final (realizada com água fria).

A amostragem superficial foi realizada por *swabs* com duas esponjas estéreis (sendo cada uma previamente hidratada em 10 mL de solução salina peptonada 1% tamponada), em duas áreas delimitadas de 100 cm² na paleta e na ponta de agulha (sendo nas etapas I e II coletadas apenas nas faces externas das carcaças; e III e IV, nas faces externas e internas das meias carcaças). Após a coleta, as bolsas plásticas contendo as esponjas foram acondicionadas em caixas isotérmicas até o momento da análise microbiológica.

3.2 DETECÇÃO DE *Salmonella* spp.

As análises microbiológicas para a detecção de *Salmonella* spp. foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Hospital-Escola Gardingo da Faculdade Vértice.

Nesta etapa do estudo foi adotada uma adaptação da metodologia analítica estabelecida pela ISO 6975 (ISO, 2002). Assim, foram adicionados, em condições estéreis, 80 mL de solução salina peptonada 1% tamponada em cada amostra seguido de homogeneização por um minuto. Para o preparo das amostras, 40 mL de cada bolsa

plástica foram submetidos a centrifugação a 1.000 x g por 15 minutos; o sobrenadante foi descartado e o pellet obtido ressuspendido em 10 mL de água peptonada 1% tamponada. Após estas ações e para o pré-enriquecimento, as amostras foram incubadas a 37°C ± 1°C por 18 horas.

A partir deste procedimento, alíquotas de 0,1 mL de cada amostra pré-enriquecida, foram inoculadas em tubos contendo 10 mL dois meios seletivos, caldo Rappaport Vassiliadis (Oxoid) e caldo Muller-Kauffmann tetracionato-novobionina (Oxoid), e foram incubadas a 42°C ± 0,2°C por 24 horas e a 37°C ± 1°C por 24 horas, respectivamente.

Posteriormente, as amostras foram repicadas em meio sólido seletivo MLCB (ágar manitol lisina cristal violeta verde brilhante) (Oxoid) e incubadas a 37°C ± 1°C por 24 horas.

Por fim, foram selecionadas colônias suspeitas de *Salmonella* spp. (colônias negras brilhantes com bordas regulares), para realização de provas de identificação presuntiva, como reação no ágar TSI, produção de catalase e oxidase e coloração de Gram.

3.3 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados encontrados foram dispostos na forma de frequência de resultados positivos para presença de *Salmonella* spp. por carcaça e entre as diferentes etapas do abate.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o abate, *Salmonella* spp. foi encontrada nas carcaças dos dois animais estudados, ou seja, resultado positivo em 100,0% das carcaças amostradas. O diagnóstico foi dado com base nas características das colônias no ágar MLCB (FIGURA 1) e de acordo com os resultados apresentados nas provas de diagnóstico presuntivo (FIGURA 2).



Figura 7. Colônias negras características de *Salmonella* spp. em ágar MLCB.

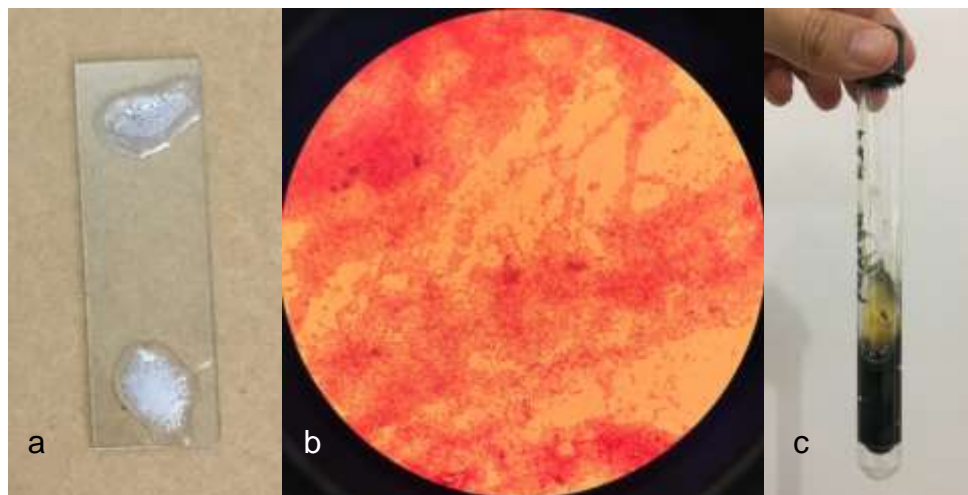


Figura 8. Resultados das provas presuntivas para *Salmonella* spp.: a) Reação positiva à prova da catalase; b) Bacilos Gram-negativos à coloração de Gram (100x); c) Reação ácida e gás na profundidade com presença de H₂S no ágar TSI.

Pesquisas semelhantes conduzidas em diversos abatedouros frigoríficos, encontraram frequências consideravelmente inferiores de contaminação de carcaças bovinas por *Salmonella* spp., muito provavelmente em decorrência na diferença da quantidade de amostras coletas em cada estudo. Bosilevac *et al.* (2009) ao pesquisarem pela presença de *Salmonella* spp. em sete abatedouros de pequeno porte nos Estados Unidos, obtiveram resultado positivo em 58,0% das 1.950 carcaças amostradas. Já Keogh *et al.* (2001) e Madden *et al.* (2001) ao avaliarem a presença desse patógeno em abatedouros irlandeses, verificaram frequências ainda menores, com 7,6% (n=250) e 1,5% (n=200) de carcaças bovinas positivas, respectivamente.

Cossi *et al.* (2014) ao coletarem 209 amostras de carcaças de bovinos abatidos em três abatedouros frigoríficos sob SIF representativos do Estado de Minas Gerais, observaram baixa prevalência de *Salmonella* spp., sendo apenas seis carcaças positivas; também discordando dos resultados apresentados no presente trabalho. Novamente, a diferença na ocorrência de *Salmonella* spp. entre os estudos pode ser atribuída às diferentes técnicas e regimes de amostragem, além de diferenças na higiene operacional dos estabelecimentos (McEVOY *et al.*, 2003).

A distribuição dos resultados positivos para *Salmonella* spp., de acordo com cada etapa amostrada do abate, está descrita na Tabela 1. Observa-se que das 24 amostras coletadas, 11 apresentaram resultado positivo, e que a carcaça A apresentou maior contaminação quando comparada a carcaça B. Para a carcaça A foi observada contaminação do couro (paleta e ponta de agulha), da carcaça após a evisceração (paleta interna) e após a lavagem final (paleta e ponta de agulha, tanto na parte interna quanto na parte externa). Já para a carcaça B, apenas as amostras coletadas após a lavagem final (paleta, interna e externa, e ponta de agulha, interna e externa) apresentaram resultado positivo para *Salmonella* spp.

Tabela 3. Frequência de resultados positivos para *Salmonella* spp. obtidos de duas carcaças bovinas amostradas em quatro etapas distintas do abate (I: do couro, após a sangria; II: após a esola; III: após a evisceração; IV: após a lavagem final) de um abatedouro frigorífico, sob Serviço de Inspeção Federal, localizado em Minas Gerais

Etapa do abate	Carcaças		Total
	A	B	
I	2/2	0/2	2/4
II	0/2	0/2	0/4
III	1/4	0/4	1/8
IV	4/4	4/4	8/8
Total	7/12	4/12	11/24

Quando se expõe tecido muscular, porção comestível, o mesmo é estéril, portanto, a contaminação microbiana mais importante da carne bovina tem origem externa (ORDOÑEZ, 2005). Para que que esta contaminação se concretize, existe uma série de fatores capazes de influenciar, destacando-se entre eles a quantidade, variedade e condições fisiológicas dos micro-organismos da microbiota intestinal do animal, assim como as condições higiênico-sanitárias durante e após o abate e do processamento da matéria-prima (AZEVEDO, 2009).

Corroborando com os resultados do presente trabalho, Cossi *et al.* (2014) encontraram *Salmonella* spp. no couro de seis de 209 bovinos abatidos. Azevedo

(2009) também verificou, entre os 200 bovinos que foram estudados, 23 animais contaminados com *Salmonella* spp., sendo a maior prevalência observada em amostras do couro desses animais, com 14 bovinos positivos.

Sabe-se que *Salmonella* spp. pode resistir por vários dias no ambiente. Assim, além da transferência do couro de um único animal para os demais animais do curral, pode ocorrer também a contaminação da sala de matança do abatedouro frigorífico, o que se torna uma forma a mais de passagem do patógeno para animais que entram nessa instalação (BOSILEVAC *et al.*, 2009).

No que diz respeito as amostras coletadas após a esfola, não foi encontrado resultado positivo em nenhuma das carcaças amostradas (TABELA 1). Discordando desses resultados, Rivera-Betancourt *et al.* (2004) encontraram *Salmonella* spp. em duas plantas de abate no Colorado, EUA, sendo 23,0% (n=511) e 27,0%(n=522) das carcaças positivas para o patógeno em questão na etapa de pré-evisceração. Cossi *et al.* (2014) também verificaram a presença da *Samonella* spp. em uma carcaça; assim como Azevedo (2009) e Lopes (2011) que encontraram prevalências de 2,5% e 3,5%, respectivamente, de *Salmonella* spp. nas carcaças bovinas nessa mesma etapa.

Já foi comprovado que a presença de *Salmonella* spp. no couro de bovinos destinados ao abate é de relativa importância para a segurança de toda carne produzida em abatedouro e comercializada, pois o couro é uma das principais fontes de contaminação da carne. Apesar disso, a poucos dados sobre a incidência de patógenos no couro de animais destinados ao abate no Brasil (LOPES, 2011) A utilização de práticas adequadas na etapa de esfola, como o treinamento dos funcionários, pode diminuir consideravelmente a transmissão horizontal de patógenos para as carcaças durante o processo de abate (AZEVEDO, 2009; PINTO, 2014). Ainda, a higienização dos animais antes do abate, no banheiro de aspersão, minimiza o risco de contaminação do couro pela microbiota presente (AZEVEDO, 2009).

Após a evisceração, Cossi *et al.* (2014) encontraram duas carcaças (n=209) contaminadas por *Salmonella* spp. Brichta-Harhay *et al.* (2008), nos Estados Unidos, detectaram o patógeno em 0,8% das carcaças amostradas nessa mesma etapa. Ambos os resultados demonstraram baixa frequência de contaminação durante essa etapa, concordando com o presente trabalho. A evisceração é um ponto crítico de controle no abate de bovinos, mas com a adoção do período de descanso, jejum e dieta hídrica promove-se a redução do conteúdo gastrintestinal, reduzindo o risco de

perfuração das vísceras durante a evisceração e, conseqüentemente, reduz-se o risco de contaminação da carcaça. Outra prática preventiva adotada antes da evisceração, é a liberação e a oclusão do reto e do esôfago, também no intuito de evitar contaminação da carcaça com conteúdo fecal e gástrico, respectivamente (BONESI & SANTANA, 2008).

Ao final do abate, após a lavagem final, Cossi *et al.* (2014) relataram apenas três carcaças positivas, de um total de 209. Jericho, Laney & Kozub (1998) verificaram as condições higiênicas de 120 carcaças bovinas após a lavagem final e detectaram presença de *Escherichia coli* nas mesmas, o que pode ser indicativo da presença também de *Salmonella* spp. Já Fontoura (2010), ao amostrar carcaças de um abatedouro frigorífico localizado no interior de São Paulo, não isolou *Salmonella* spp. em nenhuma das 40 carcaças avaliadas após a lavagem, em um estabelecimento frigorífico localizado no interior de São Paulo.

Diferente do observado nesse estudo, Matos *et al.* (2013) provaram que a operação do abate foi executada de forma higiênica, uma vez que apesar da alta taxa de contaminação por *Salmonella* spp. no início da linha de abate, foi observado um declínio gradual, chegando à nulidade ao final do processo; confrontando os resultados obtidos no presente estudo, onde foi encontrada baixa frequência desse patógeno no início da linha de abate, com aumento ao fim da linha.

A lavagem das carcaças, que tem o intuito de remover coágulos sanguíneos e restos de tecidos aderidos à carcaça (BONESI & SANTANA, 2008), quando realizada com água fria é um método ineficaz na remoção microbiana da superfície das carcaças, podendo redistribuir contaminantes para partes ainda não contaminadas (FONTOURA, 2006). É fundamental nessa etapa que a água utilizada seja potável para evitar a contaminação da carcaça (PINTO, 2014). Segundo Bonesi e Santana (2008), a lavagem de carcaças também passa por uma proposta de uso com água aquecida. E ao compararem os efeitos da lavagem com água aquecida, com e sem cloro, sobre o número de bactérias em carcaças de vitelo, esses autores observaram que, em temperatura de 50°C, a contagem residual de micro-organismos utilizando água sem cloro foi maior do que a água clorada.

Cada uma dessas etapas deve ser alvo do sistema APPCC, no intuito de impedir a contaminação da carcaça durante o abate, evitando riscos à saúde do consumidor.

Quando a contagem de micro-organismos supera o limite crítico, medidas corretivas devem ser tomadas afim de eliminar o perigo presente na carcaça (PINTO, 2014).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença de *Salmonella* spp. nas duas carcaças amostradas, com maior frequência ao final da linha de abate, sugerem falhas no sistema APPCC implantando no abatedouro frigorífico estudado. Essas falhas resultam em risco à saúde pública e, portanto, devem ser alvos de ações corretivas e intensa monitorização pela equipe de controle de qualidade do referido estabelecimento.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRÉ, M.C.D.P.B.; SERAFINI, A.B.; VIEIRA, J.D.G.; CORREA, M.H.S.; CAMPOS, M.R.H. Avaliação microbiológica de equipamentos que entram em contato com a carne bovina durante o abate, em matadouros-frigoríficos de Goiânia, GO. **Revista de Patologia Tropical**, v.28, n.2, p.202-210, 1999.

AZEVEDO, A.P. **Prevalência e características de *Salmonella* spp. em carne bovina brasileira para exportação: contribuição para uma avaliação de risco**. São Paulo, 99f. 2009. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo.

BONESI, G.L.; SANTANA, E.H.W. Fatores tecnológicos e pontos críticos de controle de contaminação em carcaças bovinas no matadouro. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v.10, n.2, p.39-46, 2008.

BOSILEVAC, J.M.; TERRANCE M.A.; JAMES, L.B.; DAYNA, M.B.H.; NORASAK, K.; DAVID, A.K.; STEVE, D.S.; TOMMY, L.W.; MOHAMMAD, K. Prevalence and enumeration of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in US abattoirs that process fewer than 1,000 head of cattle per day. **Journal of food protection**, v.72, n.6, p.1272-1278, 2009.

BRANDÃO, J.L.; GUIRRO, E.C.B.P.; PINTO, P.S.A.; NERO, L.A.; PINTO, J.P.A.N.; BERSOT, L.S. Monitoramento de micro-organismos indicadores de higiene em linha de abate de bovinos de um matadouro-frigorífico habilitado à exportação no oeste do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.2, p.755-762, 2012.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Portaria nº46, de 10 de fevereiro de 1998. **Manual genérico de procedimentos para APPCC em indústrias de produtos de origem animal**. Brasília, 1998. 31p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Portaria nº368, de 04 de setembro de 1997. **Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos**. Brasília, 1997. 11p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução: RES nº12, de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 16 mai. 2017.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. Brasília : Editora do Ministério da Saúde, 2010. 158 p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil**. 2017. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/maio/29/Apresentacao-Surtos-DTA-2017.pdf>>. Acesso em: 08 mai. 2017.

BRICHTA-HARHAY, D.M.; GUERINI, M.N.; TERRANCE, M.A.; BOSILEVAC, J.M.; NORASAK, K.; SHACKELFORD, K.S.; TOMMY, L.W.; MOHANMMAD, K. *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 contamination on hides and carcasses of cull cattle presented for slaughter in the United States: an evaluation of prevalence and bacterial loads by immunomagnetic separation and direct plating methods. **Applied and Environmental Microbiology**, v.74, n.20, p.6289-6297, 2008.

BRIDI, A.M. **Qualidade da carne para o mercado internacional**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 10f. 2004. Disponível em: <<http://www.uel.br/pessoal/ambridi/Carnesecarcacasarquivos/QualidadedaCarneparaoMercadoInternacional.pdf>>. Acesso em: 05 mar. 2017.

BUNCIC, S.; SOFOS, J. Interventions to control *Salmonella* contamination during poultry, cattle and pig slaughter. **Food Research International**, v.45, p.641-655, 2012.

CAI, Y.; TAO, J.; JIAO, Y.; FEI, X.; ZHOU, L.; WANG, Y.; JIAO, X. Phenotypic characteristics and genotypic correlation between *Salmonella* isolates from a slaughterhouse and retail markets in Yangzhou, China. **International Journal of Food Microbiology**, v.222, p.56-64, 2016.

COSSI, M.V.C.; BURIN, R.C.K.; CAMARGO, A.C.; DIAS, M.R.; LANNA, F.G.P.A.; PINTO, P.S.A.; NERO, L.A. **Low occurrence of *Salmonella* in the beef processing chain from Minas Gerais state, Brazil: From bovine hides to end cuts**. **Food Control**, v.40, p.320-323, 2014.

D'OSTUNI, V.; TRISTEZZA, M.; DE GIORGI, M.G.; RAMPINO, P.; GRIECO, F.; PERROTTA, C. Occurrence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in meat processed products from industrial plants in Southern Italy. **Food Control**, v.62, p.104-109, 2016.

FONTOURA, C.L.; ROSSI JÚNIOR, O.D.; MARTINELI, T.M.; CERESER, N.D. Estudo microbiológico em carcaças bovinas e influência da refrigeração sobre a microbiota contaminante. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 2, p. 189-193, 2010.

JERICHO, K.W.F.; LANEY, G.O.; KOZUB, G.C. Verification of the hygienic adequacy of beef carcass cooling processes by microbiological culture and the temperature-function integration technique. **Journal of Food Protection**, v.61, p.1.347-1.351, 1998

KEOGH, E.; KERR, M.; MCGUIRE, L.; SHERIDAN, J.J. **The extent of faecal and bacterial contamination of beef carcasses**. In: DUFFY, G., GARVEY, P., COIA, J. et al. Concerted Action CT98-3935, verocytotoxigenic *E. coli* in Europe. Epidemiology of Verocytotoxigenic *E. coli*. Dublin: The National Food Centre, 2001. p.141.

ISO. (2002). ISO 6579 - **Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.** International Organization for Standardization: Geneva.

LOPES, J.T. ***Salmonella* spp. na cadeia de produção de carne bovina de exportação: ocorrência, perfil de susceptibilidade antimicrobiana, genes de virulência e perfil de macrorrestrição do PFGE**. São Paulo, 98f. 2011. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo.

MADDEN, R.H.; ESPIE, W.E.; MORAN, L.; MADDEN, R H.; ESPIE, W.E.; MORAN, L.; MCBRIDE, J.; SCATES, P. Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on beef carcasses in Northern Ireland. **Meat Science**, v.58, p.343-346, 2001.

MAJOWICZ, S.E.; MUSTO, J.; SCALLAN, E.; ANGULO, F.J.; KIRK, M.; O'BRIEN, S.J.; HOEKSTRA, R.M. The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 50, n. 6, p.882-889, 2010.

MATOS, A.V.R.; NUNES, L.B.S.; VIANNA, C.; SPINA, T.L.B.; ZUIM, C.V.; POSSEBON, F.S.; PINTO, J.P.D.A.N. *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157, *Salmonella* spp., micro-organism indicators in export cattle carcasses. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.4, p.981-988, 2013.

McEVOY, J.M.; DOHERTY, A.M.; SHERIDAN, J.J.; BLAIR, I.S.; McDOWELL, D.A. The prevalence of *Salmonella* spp. in bovine faecal, rumen and carcass samples at a commercial abattoir. **Journal of Applied Microbiology**, v.94, n.4, p.693-700, 2003.

OLIVEIRA, A.B.A.; PAULA, C.M.D.; CAPALONGA, R.; CARDOSO, M.R.I.; TONDO, E.C. Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão. **Revista do Hospital de Clínicas e da Faculdade de Medicina Pública**, p.279-285, 2010.

ORDÓÑEZ, J.A. **Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal**. v.2. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PRATA, C.B.; LEMOS, M.V.F.; PRATA, L. F.; CASELANI, K. Qualidade microbiológica da carcaça bovina durante o processo de abate e a ocorrência de e. Coli o157: h7 na carne. **Ars Veterinária**, v.29, n.2, p.093-097, 2013.

PINTO, P.S.A. **Inspeção e Higiene de Carnes**. 2.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2014. 389p.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 512p.

RIBEIRO-FURTINI, L.L.; ABREU, L.R. Utilização de APPCC na indústria de alimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, n.2, p.358-363, 2006.

RIVERA-BETANCOURT, M.; SHACKELFORD, S.D.; ARTHUR, T.M.; WESTMORELAND, K.E.; BELLINGER, G.; ROSSMAN, M.; REAGAN, J.O.; KOOHMARAIE, M. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in two geographically distant commercial beef processing plants in the United States. **Journal of Food Protection**, v.67, p.295–302, 2004.

SON, I.; JIE, Z.; KEYS, C.E.; ZHAO, S.; MENG, J.; BROWN, E.W. Analysis of pulsed field gel electrophoresis profiles using multiple enzymes for predicting potential source reservoirs for strains of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium isolated from humans. **Infection Genetics and Evolution**, v.16, n.2, p.226-233, 2013.

YIN, M.; YANG, B.; WU, Y.; WANG, L.; WU, H.; ZHANG, T.; TUOHETARIBAYI, G. Prevalence and characterization of *Salmonella enterica* serovar in retail meats in market place in Uighur, Xinjiang, China. **Food Control**, v.64, p.165-172, 2016.

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

Acadêmicos: Isabella Araújo Moreira Alves e Thais dos Reis Fonseca
Orientadora: Letícia Ferreira da Silva

RESUMO

A tuberculose bovina é uma das zoonoses de maior ocorrência em estabelecimentos de abate, ocasionando prejuízos econômicos à indústria da carne e riscos à saúde pública. Os abatedouros recebem, em sua maioria, animais aparentemente saudáveis, mas também animais de descarte, reagentes à prova da tuberculina. Com isso, a inspeção *post mortem* torna-se de extrema importância na identificação e destinação correta das carcaças dos animais infectados. Apesar dos diversos estudos e relevância do assunto, dados atualizados sobre a sua ocorrência em território brasileiro ainda são escassos. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a prevalência de tuberculose bovina em um abatedouro frigorífico sob Serviço de Inspeção Federal, situado na Zona da Mata Mineira, no período entre 2007 e 2013. Para isso, foram avaliadas fichas da movimentação anual de abate e de causas de apreensão e destinação de carcaças bovinas do referido estabelecimento. Durante o período analisado, foram abatidos 150.752 bovinos e a prevalência da tuberculose bovina foi 0,77%, sendo as carcaças destinadas à graxaria. Foi observada, ainda, redução de 0,12% na prevalência ao ano. Constatou-se uma redução na prevalência dessa zoonose; contudo, não se descarta a necessidade da continuidade da aplicação de medidas de controle buscando a sua completa erradicação.

Palavras-chave: Inspeção *post mortem*; *Mycobacterium bovis*; saúde pública.

1. INTRODUÇÃO

A carne bovina é considerada um alimento nutritivo e de extrema importância na composição de dietas balanceadas; além disso, é crescente a demanda por sua produção e consumo em todo o mundo (HAJIMOHAMMADI *et al.*, 2014). Neste cenário, o Brasil é, atualmente, o segundo maior produtor de carne bovina e vem liderando o ranking mundial de exportação desde 2008 (MAPA, 2016; ROSSI *et al.*, 2014). Dados da Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne indicam que a carne *in natura* é responsável por 78% do total de produtos exportados em toneladas (ABIEC, 2016).

Para manter esta participação no mercado externo, é necessário atender às exigências cada vez maiores dos consumidores e da indústria, quanto à qualidade nutricional e sanitária da carne (HAJIMOHAMMADI *et al.*, 2014). Contudo, algumas etapas dessa cadeia produtiva necessitam de maior atenção de modo a fornecer um produto final de maior qualidade para o mercado e, conseqüentemente, reduzir os prejuízos tanto para os produtores quanto para o frigorífico (SILVA *et al.*, 2016). Para

isso, os estabelecimentos de abate adotam, no controle da inocuidade da carne, duas estratégias principais, a inspeção oficial e a fiscalização dos procedimentos de higiene (BLAGOJEVIC& ANTIC, 2014). Assim, a inspeção de carnes tem como um de seus objetivos identificar animais que não estão aptos ao consumo humano e remover suas carcaças e vísceras da cadeia produtiva (DUPUY *et al.*, 2014; STÄRK *et al.*, 2014).

Entre as doenças responsáveis por condenações de carcaças, destaca-se a tuberculose, como a principal zoonose diagnosticada em estabelecimentos de abate de bovinos, juntamente com a cisticercose (PINTO, 2014). A tuberculose bovina é uma doença infectocontagiosa crônica de abrangência mundial (FIGUEIREDO *et al.*, 2010), apresentando prevalência de 0,71% em abatedouros frigoríficos de Minas Gerais no período de 1993 a 1997 e sendo, nesse mesmo período, a principal responsável por ocasionar perdas econômicas aos produtores (BAPTISTA, 1999; BAPTISTA *et al.*, 2004). Trata-se, portanto, de uma doença que se constitui em importante problema de saúde pública e médico veterinário, em decorrência dos prejuízos resultantes, principalmente, do descarte dos animais positivos e do julgamento e destinação de carcaças acometidas durante a inspeção *post mortem* (MURAKAMI *et al.*, 2009; FURLANETTO *et al.*, 2012).

Dada a importância econômica e sanitária da doença em questão, e a inexistência de dados oficiais atualizados sobre a prevalência da tuberculose bovina no Brasil (FURLANETTO *et al.*, 2012), torna-se necessário a monitorização dos casos para o conhecimento da realidade regional. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi determinar a prevalência da tuberculose bovina e os prejuízos resultantes da condenação de carcaças acometidas, entre os anos de 2007 a 2013, em um abatedouro frigorífico sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), localizado na Zona da Mata mineira.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. TUBERCULOSE BOVINA

A tuberculose é uma doença infectocontagiosa, zoonótica, causada por diferentes espécies de bactérias do gênero *Mycobacterium*, pertencente à família *Mycobacteriaceae* (PINTO, 2003). Especificamente no caso da infecção de bovinos e bubalinos, o agente etiológico é *Mycobacterium bovis* (RODRIGUES *et al.*, 2008).

Trata-se de bacilo curto aeróbico, imóvel, não capsulado e não flagelado. Apresenta ainda aspecto granular quando corado, medindo de 0,5 a 0,7 µm de comprimento por 0,3 µm de largura e é álcool-ácido resistente (SALAZAR, 2005). Além do bovino, hospedeiro primário, o homem e diversos outros mamíferos domésticos e silvestres também são suscetíveis ao bacilo (MARCONDES, 2002; RUGGIERO *et al.*, 2007).

A tuberculose em um rebanho é introduzida principalmente pela aquisição de animais infectados, podendo o agente disseminar-se entre os bovinos independentemente do sexo, raça ou idade. A estabulação, que propicia o contato direto e frequente entre os animais, contribui para que a doença se propague com maior rapidez (KIK JUNIOR *et al.*, 2008). A exposição a aerossóis é considerada a forma mais repetida da infecção dos bovinos (LAVAGNOLI *et al.*, 2010), embora essa também possa ocorrer por alimentos, água, comedouros, bebedouros e fômites contaminados; uma vez que as micobactérias podem sobreviver por longos períodos (seis meses a quatro anos) em pastos, material orgânico em putrefação, como fezes e camas, além de locais onde se enterrem cadáveres de animais tuberculosos (RODRIGUES *et al.*, 2008).

Usualmente a doença apresenta evolução crônica que causa efeito debilitante ao infectado, porém em alguns casos pode assumir um caráter agudo e ter curso clínico mais rápido (RUGGIERO *et al.*, 2007). Como a principal porta de entrada é a via respiratória, o *M. bovis* causa doença primordialmente respiratória, que afeta os pulmões, contudo também pode chegar a atingir outros órgãos (SOBREIRA FILHO, 2008).

Ao serem inalados, os bacilos são fagocitados por macrófagos alveolares e podem ser eliminados ou crescer no interior de macrófagos, em lesões denominadas tubérculos (RUGGIERO *et al.*, 2007). Após a infecção, os granulomas nodulares se desenvolvem principalmente nos pulmões, linfonodos pulmonares, retrofaríngeos, bronquiais e mediastinais. Após essa fase, pode ocorrer progressão para uma forma generalizada, onde as lesões também poderão ser encontradas nos linfonodos mesentéricos, fígado, baço, membranas serosas, além de vários outros órgãos (LAVAGNOLI *et al.*, 2010).

Os sinais clínicos da tuberculose em bovinos na maioria das vezes estão ocultos, mas quando presentes são representados por perda de peso, hiperplasia dos linfonodos, debilidade, caquexia progressiva, sinais respiratórios (tosse seca e

dispneia) e, em menor frequência, por sinais digestivos e geniturinários (CAINO *et al.*, 2011).

2.2. PREVALÊNCIA DA TUBERCULOSE BOVINA

Esta importante zoonose apresenta distribuição cosmopolita, e sua prevalência ainda é muito marcante nos países em desenvolvimento (CAINO *et al.*, 2011). No Brasil não existem dados oficiais atualizados quanto à prevalência da tuberculose bovina, sendo que, na última estimativa realizada com informações referentes ao período de 1989 a 1998, a média nacional encontrada foi de 1,3% de animais infectados (BRASIL, 2004).

Em 1986, com um rebanho nacional de aproximadamente 137 milhões de bovinos, a ocorrência da tuberculose no Brasil estava em torno de 0,9 a 2,9%, com 6,2% a 26,3% dos rebanhos acometidos; contudo, nesse mesmo ano a prevalência identificada em estabelecimentos de abate, com base em achados *post mortem*, foi de apenas 0,14% (KANTOR& RITACCO, 1994 citado por RUGGIERO *et al.*, 2007). Dados referentes as regiões do Triângulo Mineiro, centro e sul do Estado de Minas Gerais no ano de 1999, demonstraram realidade semelhante à descrita anteriormente; onde amostras coletadas em aproximadamente 23.000 animais e 1.600 propriedades, indicaram prevalência de 0,8% de bovinos infectados e cerca de 5,0% de propriedades com animais reagentes. Esse percentual foi ainda mais elevado, 15,0%, em propriedades produtoras de leite em razão do manejo e do confinamento (BRASIL, 2004).

Já em um levantamento mais recente, a estimativa da prevalência de bovinos positivos à tuberculina no Brasil foi de 0,83%, sendo que a região Centro-Oeste foi a responsável pela menor prevalência dentre as regiões brasileiras, sendo responsável por 0,37% dos casos existentes (ROXO, 2004). Lavagnoli *et al.*, (2010) ao realizarem um estudo retrospectivo no Estado do Espírito Santo, entre os anos de 2005 e 2007, verificaram que dos 32.052 bovinos examinados aleatoriamente, 163 animais apresentaram resultado positivo para a tuberculose, sendo os mesmos diagnosticados de acordo com os critérios sanitários preconizados pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT). A prevalência de tuberculose bovina encontrada foi de 0,54%, demonstrando, portanto, a relevância desta

enfermidade para a saúde pública, uma vez que o agente se encontra circulante na região (LAVAGNOLI *et al.*, 2010).

A distribuição geográfica da tuberculose bovina pode apresentar variações de acordo com os sistemas de criação e práticas sanitárias e tecnológicas desempenhadas em cada região, principalmente em países continentais e pertencentes a vários biomas, como é o caso do Brasil (FURLANETTO *et al.*, 2012).

2.3 IMPORTÂNCIA SANITÁRIAE ECONÔMICA DA TUBERCULOSE BOVINA

A suscetibilidade do homem ao *Mycobacterium bovis* é uma das principais razões da importância dessa zoonose nos bovinos, tornando essencial o controle da mesma tanto no ponto de vista do médico veterinário quanto da saúde pública (BAPTISTA *et al.*, 2004).

As crianças são mais suscetíveis ao *M. bovis* quando ingerem leite cru derivado de vacas tuberculosas, mesmo quando contaminado com número pequeno de bacilos. Já os adultos mais suscetíveis são aqueles que estão em maior exposição ao agente, como tratadores de rebanhos, ordenhadores, trabalhadores da indústria de carne e médicos veterinários; ou seja, aqueles que vivem em íntimo contato com animais, contaminando-se pela via aerógena ou pelo consumo de leite ou produtos lácteos não pasteurizados (MODA *et al.*, 1996; ABRAHÃO, 1998).

Em relação às perdas econômicas, a importância atribuída à tuberculose bovina está baseada nas perdas diretas resultantes da morte de animais, queda no ganho de peso (produção de carne) e diminuição da produção de leite, do descarte precoce e eliminação de animais de alto valor produtivo, além da depreciação ou condenação de carcaças de animais infectados durante a rotina de abate. Existe também a perda de prestígio e credibilidade da unidade de criação onde a doença é encontrada (RODRIGUES *et al.*, 2008).

A tuberculose, juntamente com a cisticercose, é a principal zoonose diagnosticada em estabelecimentos de abate de bovinos, sendo, portanto, responsável por grandes prejuízos à indústria da carne (PINTO, 2014). Assim, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), ao instituir o PNCEBT, reconheceu essa doença como importante problema de saúde animal e pública no Brasil, responsável por consideráveis prejuízos econômicos e sociais (BRASIL, 2004).

2.4. DIAGNÓSTICO E CONTROLE DA TUBERCULOSE BOVINA

Pressionados pelas perdas econômicas causadas pela tuberculose e com o propósito de assegurar o mercado de exportações, e se posicionar no mercado internacional, os países da América Latina estão sendo sensibilizados a atender as exigências relacionadas ao manejo sanitário dos rebanhos e a adotar medidas para o controle de zoonoses de relevância para a saúde pública, estabelecendo e mantendo áreas livres de enfermidades (RUGGIERO *et al.*, 2007). Para o controle e a erradicação da tuberculose bovina vêm sendo adotados métodos multifatoriais, mas o diagnóstico e a prática de sacrifício são os únicos meios pelos quais a erradicação definitiva se torna possível (KIK JUNIOR *et al.*, 2008).

A tuberculose bovina é diagnosticada através de métodos diretos e indiretos. Os métodos diretos envolvem a detecção e identificação do agente etiológico no material biológico, seja pelo isolamento, PCR ou exame histopatológico. Os indiretos envolvem a resposta imunológica do hospedeiro ao agente etiológico, que pode ser humoral pela produção de anticorpos (de pouco valor), ou celular, mediada por linfócitos e macrófagos. Entre estes, a tuberculinização é baseada na resposta contra o *M. bovis* por uma reação de hipersensibilidade tardia (RODRIGUES *et al.*, 2008).

O PNCEBT foi criado como objetivo de baixar a incidência da doença nos rebanhos brasileiros. O programa faz uso do teste tuberculínico para diagnóstico, com finalidade de eliminar os animais positivos e certificar os negativos (BRASIL, 2004). É importante considerar, ainda, o controle de qualidade dos produtos de origem animal, integrando as funções de inspeção e vigilância sanitária, permitindo melhores definições de risco e a garantia da saúde pública, além da participação dos produtos brasileiros no mercado externo (PINTO, 2003; KIK JUNIOR *et al.*, 2008).

O registro adequado das prevalências de condenações de um estabelecimento de abate é essencial no planejamento de medidas preventivas, higiênicas e econômicas na indústria da carne; ainda, os dados obtidos pela inspeção *post mortem* são fundamentais para determinar aspectos epidemiológicos de diversas zoonoses (HAJIMOHAMMADI *et al.*, 2014). Assim, o diagnóstico da tuberculose bovina realizado durante a rotina de inspeção *post mortem* nos abatedouros frigoríficos, consiste basicamente na avaliação visual macroscópica de tubérculos em tecidos e órgãos da carcaça, sendo essa a única medida de diagnóstico em estabelecimentos de abate (PINTO *et al.*, 2004).

De acordo com o Artigo 171 do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), carcaças com tuberculose podem sofrer diferentes destinações de acordo com o grau de infecção: condenação, quando no exame *ante mortem* o animal esteja febril ou com caquexia, ou quando no exame *post mortem* apresentem tubérculos nos músculos, nos ossos, nas articulações ou nos linfonodos que drenam a linfa dessas partes, quando apresentem lesões caseosas concomitantes em órgãos ou serosas do tórax e do abdômen, ou lesões miliares ou perláceas de parênquimas ou serosas, ou lesões múltiplas, agudas e ativamente progressivas, linfonodos hipertrofiados, edemaciados, com caseificação de aspecto raiado ou estrelado em mais de um local de eleição, ou ainda quando existam lesões caseosas ou calcificadas generalizadas, e sempre que houver evidência de entrada do bacilo na circulação sistêmica; esterilização pelo calor, em casos em que os órgãos apresentem lesões caseosas discretas, localizadas ou encapsuladas, limitadas a linfonodos do mesmo órgão, ou quando os linfonodos da carcaça ou da cabeça apresentem lesões caseosas discretas, localizadas ou encapsuladas, e quando existam lesões concomitantes em linfonodos e em órgãos pertencentes à mesma cavidade; e liberação, quando a carcaça apresentar apenas uma lesão tuberculosa discreta, localizada e completamente calcificada em um único órgão ou linfonodo (BRASIL, 2017).

Durante a rotina de inspeção *post mortem*, atenção especial é dispensada aos pulmões, sendo inspecionados individualmente e vinculando-se qualquer alteração às possíveis ocorrências em outros órgãos e mesmo eventuais reflexos na carcaça (MIRANDA *et al.*, 1997). Os registros de abate mostram tendências de elevação do número de casos de tuberculose pulmonar em comparação a outros órgãos, visto que cerca de 40 a 60% das lesões tuberculosas causadas por *M. bovis* se manifestam nos pulmões (PINTO *et al.*, 2002). No entanto, esta avaliação, apesar de considerável e importante para a prevenção da tuberculose, é muitas vezes posta em dúvida, pois outras enfermidades apresentam lesões muito semelhantes à mesma (TEKLU *et al.*, 2004).

3. METODOLOGIA

Para a realização deste estudo, teve-se a colaboração de um abatedouro 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.

Foram utilizadas, como fonte de informação, fichas relativas ao movimento anual de abate de bovinos, no período compreendido entre janeiro de 2007 e dezembro de 2013, em um abatedouro 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.

Os animais foram abatidos e as carcaças inspecionadas de acordo com as normas técnicas padronizadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 1971). As carcaças e vísceras nas quais foram detectadas alterações ou lesões características de tuberculose durante as diferentes linhas de inspeção, foram encaminhadas para o Departamento de Inspeção Final (DIF) para exame anatomopatológico criterioso realizado pelo médico veterinário Fiscal Federal Agropecuário do SIF, conforme procedimentos regulamentares de julgamento e destinação de carcaças (BRASIL, 2017). Além disso, amostras foram encaminhadas para a Universidade Federal de Minas Gerais para confirmação do diagnóstico por PCR. Os dados foram anotados em papeleta específica de condenação do DIF e, em seguida, transferidos para o sistema online de notificação do MAPA, o Serviço de Informações Gerenciais do Serviço de Inspeção Federal (SIGSIF).

As carcaças bovinas diagnosticadas com tuberculose foram identificadas e tabuladas para, em seguida, serem realizados os cálculos de prevalência da doença, além da evolução dos casos e do prejuízo econômico resultante da condenação de carcaças ao longo dos anos estudados. Os registros de ocorrências foram agrupados por ano.

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

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

No período de janeiro de 2007 a dezembro de 2013 foram abatidos 150.752 bovinos no referido abatedouro frigorífico. Deste total, 1.165 animais apresentaram infecção por *Mycobacterium bovis*, de acordo com os achados macroscópicos do SIF,

registrando-se prevalência geral de 0,77% de tuberculose bovina. Pode-se observar, ainda, variação nas taxas de prevalência de 0,34 a 1,50% entre os anos estudados (TABELA 1). Nesse período, todas essas carcaças identificadas com lesões tuberculosas foram destinadas à graxaria para condenação total.

Tabela 4. Número de bovinos abatidos e prevalência das condenações de carcaças por tuberculose, em um abatedouro frigorífico na região da Zona da Mata mineira, nos anos de 2007 a 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal.

Ano	Número de bovinos abatidos	Carcaças condenadas por tuberculose	
		N	%
2007	17.820	148	0,83
2008	31.094	465	1,50
2009	21.413	143	0,67
2010	22.193	149	0,67
2011	19.424	103	0,53
2012	21.906	75	0,34
2013	16.902	82	0,49
Total	150.752	1.165	0,77

Com a instituição do PNCEBT em 2001, tornou-se evidente a necessidade de se conhecer a distribuição espacial da tuberculose bovina no país (BRASIL, 2001). Contudo, os estudos epidemiológicos sobre a ocorrência dessa doença ainda são insuficientes, o que dificulta análises comparativas sobre a prevalência e a perda econômica resultantes dessa patologia no rebanho bovino (POLETTI *et al.*, 2004; FURLANETTO *et al.*, 2012).

Os dados oficiais mais recentes envolvendo todo o território brasileiro correspondem ao período de 1989 a 1998, quando a prevalência média nacional foi 1,3% (BRASIL, 2004), superior a encontrada no presente trabalho. Entretanto, em um levantamento epidemiológico realizado em Minas Gerais no ano de 1999, mais especificamente nas regiões do Triângulo Mineiro e do centro e sul do Estado, envolvendo 1.600 propriedades e 23.000 animais, estimou-se uma prevalência de 0,8% de bovinos infectados, resultado semelhante ao descrito na Tabela 1 (BRASIL, 2004). Esses resultados sugerem a possibilidade de outros Estados, que não Minas Gerais, estarem contribuindo com o aumento da prevalência no território nacional.

Em um estudo retrospectivo realizado por Abrahão, Nogueira e Malucelli (2005), referente ao período de janeiro de 1979 a 1983, a prevalência observada para a tuberculose bovina foi de apenas 0,16% em animais abatidos em um abatedouro frigorífico de Uberlândia, Minas Gerais, valor consideravelmente inferior ao observado nesse estudo. Por outro lado, Baptista *et al.*, (2004) ao determinarem a prevalência de

tuberculose em bovinos abatidos também em Minas Gerais, entre os anos de 1993 e 1997, obtiveram resultado de 0,71% ao analisarem dados de dez abatedouros frigoríficos sob SIF, concordando com os resultados aqui descritos.

Ainda na região Sudeste do país, Grisi Filho *et al.*, (2011) verificaram que das 587 amostras sugestivas de tuberculose bovina, coletadas em 79 estabelecimentos de abate no Estado de São Paulo, entre maio de 2002 e janeiro de 2004, 65,22% tiveram o diagnóstico confirmado. Esse elevado número de animais infectados, foi atribuído, por esses mesmos autores, às fêmeas de descarte provenientes de propriedades leiteiras com algum grau de tecnificação, bem como às práticas inadequadas de manejo adotadas na região, como a introdução de animais sem a realização prévia de testes tuberculínicos (GRISI FILHO *et al.*, 2011). Já Tiverom (2014), em um abatedouro frigorífico na cidade de Barretos - SP, entre os anos de 2007 a 2012, encontrou uma frequência de casos de 5,9%, discordando da baixa prevalência encontrada por diversos autores para o Estado de Minas Gerais.

Lavagnoli *et al.*, (2010) ao avaliarem a prevalência de tuberculose bovina no Espírito Santo, usaram como fonte de informação dados fornecidos pelo Instituto de Defesa Agropecuária e Florestal do Espírito Santo, relativos ao período de janeiro de 2005 a junho de 2007. Dos 32.052 bovinos avaliados, apenas 163 apresentaram resultado positivo para tuberculose, de acordo com os critérios preconizados pelo PNCEBT, resultando em uma prevalência de 0,51%, valor inferior ao descrito na Tabela 1. Ainda, foram verificadas diferentes taxas para cada região estudada, sendo a prevalência superior na região norte (1,41%), seguida da região sul (0,62%), noroeste (0,38%) e metropolitana do Estado (0,32%) (LAVAGNOLI *et al.*, 2010).

Para a região Sul, foram descritos resultados discrepantes em estudos recentes. Poletto *et al.*, (2004) observaram prevalência de 1,51% de bovinos positivos no município de Passos Fundos - RS, resultado consideravelmente superior ao obtido nesse trabalho. Enquanto Sabedot *et al.*, (2009), ao analisarem bovinos de quatro municípios da região sudoeste do Paraná, encontraram 0,098% de animais positivos entre março de 2005 a abril de 2008. No entanto, ambos os autores utilizaram do teste de hipersensibilidade para o diagnóstico em animais vivos, diferente do adotado nesse trabalho.

Em uma análise epidemiológica realizada por Mendes *et al.*, (2011) em oito municípios do Estado de Pernambuco, região Nordeste do país, foram analisados 662

animais por meio do teste de tuberculinização. Como resultado, foi obtida prevalência de 14%, uma vez que 86 desses animais reagiram ao teste. Comparada a análise de dados feita no presente trabalho, esta prevalência apresenta-se bastante elevada, provavelmente em decorrência dos diferentes métodos de diagnóstico utilizados (KANTOR & RITACCO, 1994 citado por RUGGIERO *et al.*, 2007).

Já na região centro-oeste do Brasil, no Estado de Mato Grosso, a prevalência encontrada foi de 0,007% para tuberculose bovina, discordando do exposto anteriormente. Esses dados foram obtidos de sete abatedouros frigoríficos sob SIF ano de 2009, onde foram abatidos 41.193 bovinos, sendo que desses apenas três carcaças tiveram o diagnóstico confirmado para tuberculose, comprovando que o Mato Grosso possui *status* de baixa prevalência para essa doença (ROXO, 2004; FURLANETTO *et al.*, 2012), principalmente quando comparado aos dados obtidos por esse trabalho.

As variações encontradas na prevalência da tuberculose entre as regiões brasileiras podem ser explicadas tanto pelo sistema de criação e práticas sanitárias adotadas em cada estado, quanto pelas diferenças nas condições técnicas e materiais de cada estabelecimento de abate, assim como pela idade, sexo e aptidão zootécnica dos animais a serem abatidos (BAPTISTA *et al.*, 2004; FURLANETTO *et al.*, 2012). Uma vez que, a prevalência é bastante superior quando se trata de propriedades de leite que apresentam algum grau de mecanização da ordenha e de tecnificação na produção (BRASIL, 2004). Outros pontos importantes a serem considerados, são o número de estabelecimentos ou propriedades amostradas e o método diagnóstico empregado por cada pesquisador (KANTOR & RITACCO, 1994 citado por RUGGIERO *et al.*, 2007), o que limita a comparação entre os diferentes estudos.

Na análise de regressão linear da série histórica da prevalência de tuberculose bovina, foi observado resultado satisfatório, com redução de 0,12% de casos ao ano; embora essa análise não tenha sido tão confiável (50,36% de confiança) em função do aumento dos casos nos anos de 2008 e 2013 (FIGURA 1). Esse fato sugere melhoria na sanidade do rebanho local, provavelmente em consequência das medidas de controle e erradicação propostas pelo PNCEBT.

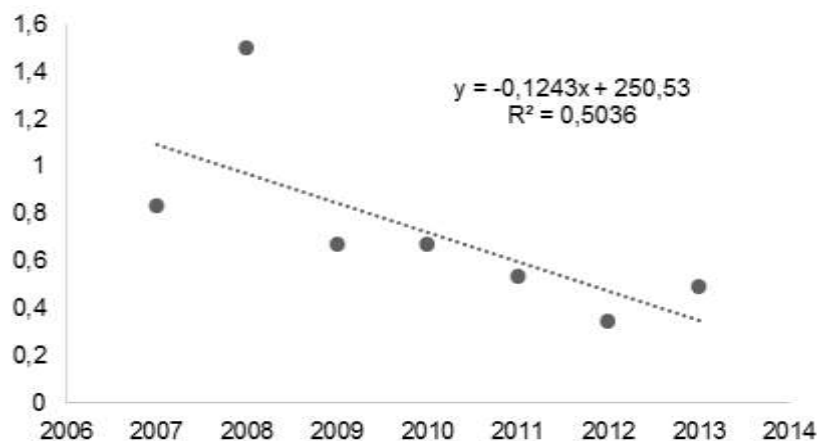


Figura 9. Análise de regressão linear da prevalência (%) das condenações de carcaças bovinas por tuberculose, em um abatedouro frigorífico da Zona da Mata mineira, entre 2007 e 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal.

Por fim, com relação aos prejuízos econômicos decorrentes do julgamento das carcaças acometidas com tuberculose, entre os anos de 2007 a 2013 foram condenados 272.125 kg de carne bovina. Admitindo-se o peso da carcaça equivalente a 225 kg (SEAB, 2012) e considerando o preço atual da arroba do boi em Minas Gerais, de R\$ 123,00, foi obtido um prejuízo estimado de R\$ 2.231.425,00 em decorrência da tuberculose bovina. Comparando com os prejuízos econômicos obtidos por Baptista (1999), entre os anos de 1993 a 1997 em 12 abatedouros frigoríficos no mesmo Estado, o resultado obtido foi inferior ao do presente estudo, sendo de R\$ 511.095,02; porém a tuberculose bovina foi a doença que acarretou em maior perda econômica para esses estabelecimentos no período estudado.

Ainda, Reis (2015) ao analisar dados referentes às condenações de carcaças bovinas por cisticercose, coletados no mesmo abatedouro frigorífico objeto deste estudo e referentes ao mesmo momento, observou prejuízo de R\$ 145.635,00, bastante inferior ao causado pela tuberculose. Portanto, é importante ressaltar que para este estabelecimento específico, a tuberculose é a principal responsável pelos prejuízos econômicos, reforçando a importância sanitária dessa doença na região estudada.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi identificada, neste estudo, a prevalência geral de 0,77% de tuberculose bovina na Zona da Mata Mineira para o período de janeiro de 2007 a dezembro de 2013. E, apesar da diminuição dos casos observada ao longo dos anos, a tuberculose

bovina ainda é a principal responsável por perdas econômicas para o estabelecimento estudado.

Embora, a prevalência identificada tenha sido inferior à média atribuída ao país, e considerando a sua importância econômica e de saúde pública, torna-se indispensável a condução de medidas preventivas, incluindo a conscientização dos produtores, fiscalização nas barreiras sanitárias e levantamentos periódicos da situação epidemiológica desta doença.

Nesse sentido, a inspeção *post mortem* é de fundamental importância no diagnóstico de animais positivos, contribuindo com dados nos gráficos atualizados sobre a doença, além de destinar corretamente a carcaça dos animais infectados, garantindo a saúde pública e animal, além do aproveitamento racional dessa matéria-prima.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC, Associação brasileira de indústrias exportadoras de carne. **Estatísticas Mercado Mundial**. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/mercado_mundial>. Acesso em: 04. nov. 2016.

ABRAHÃO, R.M.C.M. **Tuberculose humana causada pelo *Mycobacterium bovis*: considerações gerais e a importância dos reservatórios animais**. São Paulo, 1998, 328f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo.

ABRAHÃO, R.M.C.M.; NOGUEIRA, P.A.; MALUCELLI, M.I.C. O comércio clandestino de carne e leite no Brasil e o risco da transmissão da Tuberculose bovina e de outras doenças ao homem: um problema de saúde pública. **Archives of Veterinary Science**, v.10, n.2, p.1-17, 2005.

BAPTISTA, F. **Tuberculose e outras causas de condenação de bovinos em frigoríficos de Minas Gerais, Brasil**. Belo Horizonte, 1999, 50f. Tese (Doutorado) em Ciência Animal – Universidade Federal de Minas Gerais.

BAPTISTA, F.; MOREIRA, E.C.; SANTOS, W.L.M.; NAVEDA, L.A.B. Prevalência da tuberculose em bovinos abatidos em Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.5, p.577-580, 2004.

BLAGOJEVIC, B.; ANTIC, D. Assessment of potencial contribution of official meat inspection and abattoir process hygiene to biological safety assurance of final beef and pork carcasses. **Food Control**, v.36, p.174-182, 2014.

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

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal**. Brasília, 2004.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, p.108, 2017.

CAINO, A. S.; TRAUER, R. M.; FREITAS, V. O.; JORGENS, E. N. Importância da Tuberculose Bovina na Saúde Pública e Animal. **XVI Seminário Interinstitucional de ensino, pesquisa e extensão**, p.1-4, 2011.

DUPUY, C.; DEMONT, P.; DUCROT, C.; DUCROT, C.; CALAVAS, D.; GAY, E. Factors associated with offal, partial and whole carcass condemnation in ten French cattle slaughterhouses. **Meat Science**, v.97, p.262-269, 2014.

FIGUEIREDO, S.M.; ROCHA, V.C.M.; HIGINO, S.S.S.; BATISTA, C.S.A.; ALVES, C.J.; CLEMENTINO, I.J.; AZEVEDO, S.S. Tuberculose bovina no estado da Paraíba: estudo retrospectivo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.9, p.712-716, 2010.

FURLANETTO, L.V.; FIGUEIREDO, E.E.S.; CONTE JÚNIOR, C.A.; SILVA, F.G.S.; DUARTE, R.S.; SILVA, J.T.; LILENBAUM, W.; PASCHOALIN, V.M.F. Prevalência de tuberculose bovina em animais e em rebanhos abatidos em 2009 no estado de Mato Grosso, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.2, p.274-280, 2012.

GRISI FILHO, J.H.H.; ROSALES, C.A.R.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; DIAS R.A.; FERREIRA NETO, J.S. Análise Epidemiológica das condenações de bovinos por tuberculose em abatedouros do estado de São Paulo. **Arquivo do Instituto de Biologia**, v.78, n.2, p.175-181, 2011.

HAJIMOHAMMADI, B.; ORYAN, A.; ZOHOURTABAR, A. et al. Rate of carcass and offal condemnation in animals slaughtered at Yazd Slaughterhouse, central Iran. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.4, n.9, p.736-739, 2014.

KIK JÚNIOR, M.E.; SOUSA, C. L. M. Considerações sobre a tuberculose bovina no Norte Fluminense e no município de Campos dos Goytacazes após o advento do PNCBET – Programa nacional de controle e erradicação da Brucelose e Tuberculose bovina. **Perspectivas online**, v.2, n.8, p. 1-11, 2008.

LAVAGNOLI, M.R.; AMORIM, B.M.; MACHADO, G.P.; DEMONER, L.C.; ZANINI, M.S.; ANTUNES, J.M.A.P. Tuberculose em bovinos no estado do Espírito Santo. **Veterinária e Zootecnia**, v.17, n.1, p.71-78, 2010.

MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Exportações de carne bovina**. Disponível em: <www.agricultura.gov.br>. Acessado em: 11 de nov. 2016.

MARCONDES, A.G. **Padronização da técnica de cultivo em camada delgada de agar middlebrook 7 H11 para isolamento de *Mycobacterium bovis***. São Paulo, 115f. 2002. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

MENDES, E.I.; MELO, L.E.H.; TENÓRIO, T.G.S.; SÁ, L.M.; SOUTO, R.J.C.; FERNANDES, A.C.C.; SANDES, H.M.M.; SILVA, T.I.B. Intercorrência entre leucose enzoótica e tuberculose em bovinos Leiteiros do estado de Pernambuco. **Arquivo do Instituto de Biologia**. v.78, n.1, p.1-8, 2011.

MIRANDA, Z.B.; REYER, S.; CARVALHO, E.C.Q.; SANTOS, J.A. Afecções inflamatórias específicas bronco-pulmonares, em bovinos abatidos em estabelecimentos industriais. **Higiene Alimentar**, v. 11, n. 51, p. 36-38, 1997.

MODA, G.; DABORN, C.J.; GRANGE, J.M.; COSIVI, O. The zoonotic importance of *Mycobacterium bovis*. **Tubercle and Lung Disease**, v. 77, p. 103-108, 1996.

MURAKAMI, P.S.; FUVERKI, R.B.; NAKATANI, S.M.; FILHO, I.R.B.; BIONDO, A.W. Tuberculose Bovina: saúde animal e saúde pública. **Arquivo Ciência Veterinária Zoologia Unipar**, v.12, n.1, p.67-74, 2009.

PINTO, P.S.A.; FARIA, J.E.; VILORIA, M.I.V.; BEVILACQUA, P.D. Exame microbiológico da tuberculose como subsídio à inspeção post-mortem de bovinos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.3, n.1, p.10-15, 2002.

PINTO, P.S.A. Atualização em controle da tuberculose no contexto da inspeção de carnes. **Bioscience Journal**, v.19, n.1, p.115-121, 2003.

PINTO, P.S.A. **Inspeção e Higiene de Carnes**. 2.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2014. 389p.

POLETTI, R.; KREUTZ, L.C.; GONZALES J.C.; BARCELLOS, L.J.G. Prevalência de tuberculose, brucelose e infecções víricas em bovinos leiteiros do município de Passo Fundo, RS. **Ciência Rural**, v.34, n.2, p.1-18, 2004.

REIS, R.S. **Prevalência da cisticercose bovina em estabelecimento sob Serviço de Inspeção Federal na Zona da Mata mineira**. Matipó, 18f. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade Vértice-Univértix.

RODRIGUES, C.A.; MEDEIROS, E.; MELLO, G.C.; RIZZO, A.; ZAPPA, V. Controle da tuberculose bovina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n.11, p.1-5, 2008.

ROSSI, G.A.M.; GRISÓLIO, A.P.R.; PRATA, L.F. et al. Situação da cisticercose bovina no Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, n.2, p.927-938, 2014.

ROXO, E. **Situação atual da tuberculose bovina no Brasil. Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose Animal, PNCE bovino tuberculosis.** Secretaria de Defesa Agropecuária, São Paulo, p.1-5, 2004.

RUGGIERO, A.P.; IKUNO, A.A.; FERREIRA, V.C.C.A.; ROXO, E. Tuberculose bovina: alternativas para o diagnóstico. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.74, n.1, p.55-65, 2007.

SABEDOT, M.A.; BOETCHER, A.V.; POZZA, M.S.S.; BUSANELLO, M.; MANGONI, J. Ocorrência de tuberculose e de brucelose em rebanhos da Região sudoeste do Paraná. **Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária**, n.12, p.1-9, 2009.

SALAZAR, F.H.P. **Ocorrência de tuberculose causada por Mycobacterium bovis em bovinos abatidos em frigorífico no estado de Mato Grosso, Brasil.** Campo Grande, 73f. 2005. Dissertação (Mestrado) apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

SEAB. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. **Análise da Conjuntura Agropecuária.** Publicado em 2012. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/corte_2012_13.pdf>. Acesso em 02 mai. 2017.

SILVA, V.L.; GROFF, A.M.; BASSANI, C.A.; PIANHO, C.R. Causas de condenação total de carcaças bovinas em um frigorífico do estado do Paraná. Relato de Caso. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.10, n.4, p.730 – 741, 2016.

SOBREIRA FILHO, R.D. **Prevalência e fatores associados a infecção pelo Mycobacterium bovis em bovinos leiteiros no município de Gavatá, PE.** Recife, 44f. 2008. Tese apresentada ao programa de pós-graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

STÄRK, K.D.C.; ALONSO, S.; DADIOS, N.; DUPUY, C.; ELLERBROEK, L.; GEORGIEV, M.; HARDSTAFF, J.; HUNEAU-SALAÜN, A.; LAUGIER, C.; MATEUS, A.; NIGSCH, A.; AFONSO, A.; LINDBERG, A. Strengths and weaknesses of meat inspection as a contribution to animal health and welfare surveillance. **Food Control**, v.39, p.154-162, 2014.

TEKLU, A.; ASSEGED, B.; YIMER, E.; GEBEYEHU, M.; WOLDESENBET, Z. Tuberculous lesions not detected by routine abattoir inspection: the experience of the Hossana municipal abattoir, southern Ethiopia. **Revue Scientifique et Technique Office international des Epizooties**, v.23, n.3, p.957-964, 2004.

TIVEROM, V.D. **Inspeção pós-morte de bovinos: ocorrência de alterações sanitárias no abate e respectivo impacto em relação ao mercado globalizado.** Jaboticabal, 69f. 2014. Dissertação (Mestrado) apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp.

RUPTURA DO LIGAMENTO CRUZADO CRANIAL EM CÃES – RELATO DE CASOS

Acadêmicos: Camila Santiago Sampaio e Patrícia Carlos de Aguiar

Orientador: Gustavo Pereira Gonçalves

RESUMO

A ruptura do ligamento cruzado cranial (LCCr) é uma das lesões que mais afeta os membros pélvicos do cão e uma das principais responsáveis pelo desenvolvimento da doença articular degenerativa (DAD). Dessa forma, este trabalho teve como objetivo, relatar dois casos de correção cirúrgica de ruptura do LCCr em cães, abordando a ocorrência, etiopatogenia, sinais clínicos, diagnóstico e o tratamento da enfermidade em questão. Cães com ruptura do LCCr têm como principal sinal clínico claudicação, com ou sem apoio do membro afetado. O diagnóstico é feito através do exame físico e realização de testes complementares como o teste de gaveta cranial e compressão tibial. O tratamento varia em conservativo ou cirúrgico, levando em consideração o peso, idade e estado de saúde do animal. Para o tratamento cirúrgico existem diversas técnicas descritas, as quais são classificadas em intracapsulares e extracapsulares. Foram atendidos no Hospital Veterinário Gardingo-LTDA, dois cães com ruptura do LCCr e tratados cirurgicamente pela técnica de Flo (“três em um”) modificada, que revelou-se bastante eficaz para a estabilização da articulação fêmoro-tibio-patelar nos casos relatados. O procedimento cursou sem dificuldades trans e pós-operatórias, obtendo-se resultados satisfatórios com retorno precoce da função motora dos animais deste estudo.

PALAVRAS-CHAVE: ruptura; ligamento; cães; tratamento.

1-INTRODUÇÃO

A ruptura do ligamento cruzado cranial (LCCr) é uma das lesões que mais afetam os membros pélvicos do cão e uma das principais responsáveis pela doença articular degenerativa (DAD) do joelho. Sua origem pode ser aguda ou crônica, parcial ou total, traumática ou degenerativa, podendo estar frequentemente associadas (DURANA, 2009).

O LCCr tem como função estabilizar a articulação do joelho. Atuando juntamente com o ligamento cruzado caudal (LCCd), limitam o movimento de deslocamento cranial e a rotação medial da tíbia, limitando também a hiperextensão da articulação. A ruptura é resultado de forças excessivas em qualquer um desses sentidos (ROSA, 2016).

Lesões do LCCr são consideradas uma das principais razões de claudicação em cães em graus variados e causam aumento da sensibilidade na articulação fêmoro-

tíbio-patelar (FTP) (OLIVEIRA *et al.*, 2009), podendo resultar em osteoartroses e lesões dos meniscos (SALBEGO *et al.*, 2007). Alguns fatores estão associados à ruptura do LCCr, sendo eles: raça, sexo, idade, alterações anatômicas, peso, ângulo do platô da tíbia e luxação da patela (DURANA, 2009).

O principal sinal clínico de animais com ruptura do LCCr consiste em claudicação com a incapacidade de suportar o peso no membro afetado, sem apoio ou com apoio parcial do pé durante o movimento, devido à dor (MARQUES, 2014).

O diagnóstico pode ser dado através de uma avaliação da estabilidade do joelho, por meio do teste de “gaveta” cranial e teste de compressão tibial. Exames de imagem como radiografia, artroscopia, tomografia computadorizada, ressonância magnética, também são relatados como métodos de diagnóstico (RAMOS, 2010).

O tratamento pode ser conservativo ou cirúrgico. A escolha do tratamento leva em consideração aspectos como: comportamento do paciente, função, peso corporal, tempo e evolução da lesão, custo e a preferência do cirurgião. O tratamento conservativo é baseado na restrição da atividade física, analgesia, controle alimentar para redução do peso e fisioterapia. A estabilização cirúrgica é o método mais indicado em pacientes com peso corporal superior a 10 e 15Kg. Não há uma técnica padrão, portanto, a escolha do tipo de procedimento fica a critério do cirurgião, levando em consideração o quadro clínico do paciente (BREGADIOLI *et al.*, 2014).

Dessa forma, este trabalho teve como objetivo relatar dois casos de correção cirúrgica de ruptura do LCCr em cães tratados pela técnica de Flo modificada, atendidos no Hospital Veterinário Gardingo-LTDA, com o intuito de abordar a ocorrência, etiopatogenia, sinais clínicos, métodos de diagnóstico e tratamento da enfermidade em questão.

2- FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Anatomia e Biomecânica do Joelho

A articulação fêmoro-tíbio-patelar (FTP) é formada por componentes anatômicos que fornecem uma excelente biomecânica à articulação, compreendida pela tróclea do fêmur, patela, côndilos do fêmur, que são separados pela fossa intercondilar (SOLER *et al.*, 2007), meniscos, que auxiliam como um elemento para amortecimento de impactos e ligamentos que unem ossos e promovem a estabilização da articulação. Contando também com a presença da cápsula articular, que é uma membrana conjuntiva que

envolve a articulação, que além da função de estabilização e proteção tem como papel principal produzir e reabsorver líquido sinovial, promovendo a lubrificação das superfícies envolvidas, evitando que ocorram atrito e desgaste das cartilagens (MATEUS, 2010).

Os ligamentos presentes na articulação FTP são: ligamentos femoropatelaes, ligamento patelar, que representa um prolongamento do tendão dos músculos quadríceps femoral e a união do ligamento femoropatelar. Os ligamentos femorotibiais promovem suporte à articulação do joelho, sendo eles: os ligamentos colaterais, lateral e medial, e os ligamentos cruzados, cranial e caudal, proporcionando estabilidade, além de permitirem movimentos de flexão, extensão e um certo grau de rotação. Os ligamentos cruzados são os bloqueadores primários da translação cranial da tibia em relação ao fêmur e da hiperextensão da articulação, limitam também a rotação medial da tibia e previnem o movimento excessivo de *varus* e *valgus* durante a flexão da articulação (MATEUS, 2010).

O LCCr se divide em dois componentes, uma banda crânio-medial (BCM) e uma banda caudo-lateral (BCL). A BCM se origina na porção crânio-dorsal da inserção femoral e estende-se até a porção crânio-medial da inserção tibial do ligamento, permanecendo esticada na flexão e extensão do joelho. Já a BCL mantém-se tensa na extensão e frouxa na flexão do joelho (BUQUERA *et al.*, 2004).

A extensão e o mecanismo das lesões dependem da amplitude e direção da força traumática e do posicionamento da articulação no momento da ação dessa força. A ruptura do ligamento pode ser definida como completa, com grande instabilidade na articulação, ou parcial, com instabilidade de menor grau (ROMANO *et al.*, 2006). A ruptura parcial ou total do LCCr ocorre quando o joelho é rotacionado subitamente com uma força excedente à resistência intrínseca do ligamento, ou quando há uma hiperextensão forçada da articulação (SILVA *et al.*, 2016). A instabilidade causada pela ruptura ligamentar diminui a rigidez articular e aumenta o deslocamento cranial, trazendo alterações severas nas articulações afetadas (ROMANO *et al.*, 2006).

2.2. Etiopatogenia da Ruptura do LCCr

A ruptura do LCCr (FIGURA 1) em cães é multifatorial que envolve fatores genéticos, inflamatórios e conformacionais que, em conjunto, geram uma instabilidade entre a força biomecânica aplicada no ligamento e sua habilidade em suportar essa

carga, levando possivelmente à instabilidade articular e à ruptura ligamentar (MEDEIROS, 2015).

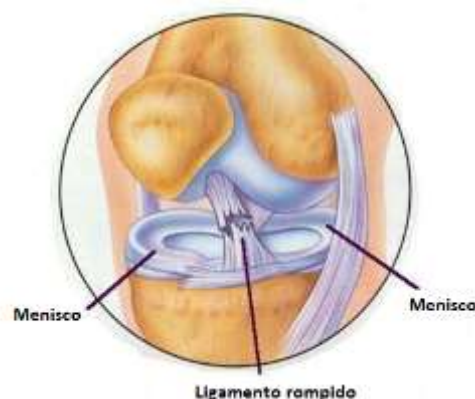


Figura 1

Fonte: Google

Vários fatores podem estar associados à ruptura, como por exemplo: idade, alterações imuno-mediadas, raça, sexo, ângulo do platô da tíbia, luxação de patela (COMERFORD, 2007), força exacerbada sobre o ligamento, ou o ligamento estar sofrendo algum processo de degeneração em seu tecido. As alterações no ligamento influenciam em sua estrutura, promovendo deficiência vascular, podendo desencadear a hipóxia ligamentar, deixando o tecido doente (OLIVEIRA, 2008).

As lesões de meniscos também estão associadas à ruptura do ligamento. Os meniscos são componentes importantes para a estabilização da articulação e ficam sujeitos a maior stress após ruptura do LCCr. A lesão de menisco é mais comum em situações de rupturas crônicas e em pacientes mais pesados (COMERFORD, 2007; PIERMATTEI *et al.*, 2006; DURANA, 2009).

2.3. Epidemiologia da Ruptura do LCCr

A ruptura do LCCr pode ocorrer em cães de qualquer raça, sexo e idade. Porém, há predisposição nas raças: Labrador Retriever, Rottweiler, Golden Retriever, Akita e São Bernardo (MATEUS, 2010). Cães com mais de 15 kg e com idade inferior a cinco anos apresentam maior frequência da ruptura do LCCr. Todavia, em cães com menos de 15 kg há uma menor incidência de ruptura do LCCr e essa ocorre principalmente em cães com mais de cinco anos. Cães castrados apresentam maior incidência de ruptura do LCCr quando comparados aos não castrados e não há uma diferença significativa em comparação entre machos e fêmeas (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Em muitos casos, a causa patológica subjacente está presente em ambos os joelhos, causando uma ruptura bilateral dos ligamentos. Estima-se que cerca de 30 a 40% dos cães com ruptura do LCCr unilateral irão apresentar ruptura do ligamento contra-lateral num período de 18 a 24 meses (SCHULZ, 2007).

2.4. Sinais Clínicos da Ruptura do LCCr

Os sinais clínicos irão depender do curso da doença, variando em agudo ou crônico (SCHULZ, 2007).

A forma aguda está relacionada com ocorrências traumáticas que causam a ruptura total do ligamento. Os animais apresentam histórico de muita dor e claudicação sem apoio ou com apoio parcial do pé, conhecida como claudicação com apoio em pinça (DURANA,2009).

A forma crônica está associada a um processo degenerativo do ligamento, promovendo assim ruptura parcial das fibras desse tecido. Devido a ruptura incompleta do ligamento, os animais apresentam uma sintomatologia de claudicação intermitente com apoio do membro, sinais discretos como, dificuldade de se levantar e sentar. À medida que o quadro de ruptura vai se agravando, a instabilidade vai aumentando e os processos degenerativos vão piorando, conseqüentemente as claudicações se tornam mais evidentes (SCHULZ, 2007). Verifica-se uma diminuição contínua da função do membro a partir do momento em que estão presentes alterações degenerativas (DURANA,2009).

2.5. Diagnóstico da Ruptura do LCCr

Os métodos de diagnóstico da ruptura do LCCr baseiam-se em exames ortopédicos, radiografia, ultrassonografia, artroscopia, ressonância magnética e tomografia computadorizada (WIETHUCHTER, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Os exames ortopédicos utilizados são o teste de gaveta cranial (FIGURA 2-A) e teste de compressão tibial (FIGURA 2-B); os dois têm como objetivo identificar o deslocamento cranial da tíbia em relação ao fêmur (OLIVEIRA *et al.*, 2009). Os pacientes com músculos grandes, fibrose capsular ou rupturas parciais do LCCr estão susceptíveis ao risco de terem um resultado falso negativo dos testes ortopédicos (WIETHUCHTER, 2014). Em casos crônicos, os tecidos periarticulares apresentam-se

mais espessos e fibrosos e o movimento de gaveta poderá tornar-se imperceptível (OLIVEIRA *et al.*, 2003). Os resultados positivos são diagnóstico para ruptura do LCCr, mas a ausência de movimentos anormais no decorrer do exame não elimina a possibilidade da doença (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

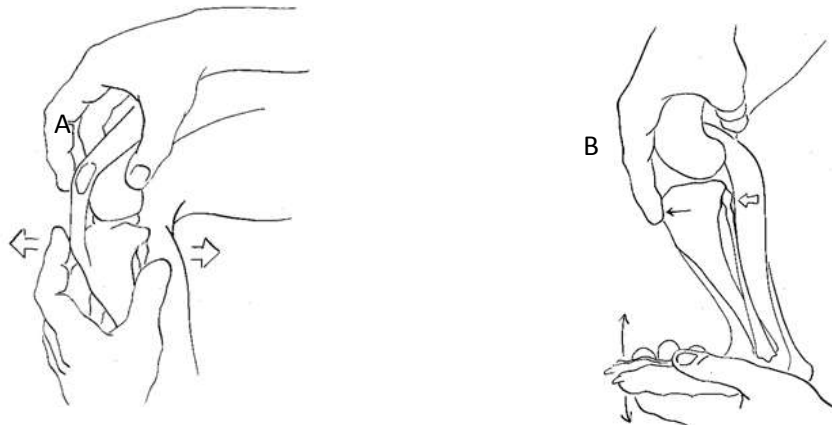


Figura 2: (A) Teste de gaveta cranial (B) Teste de compressão tibial

Fonte: PINTO,2011

O exame radiográfico não é fundamental para diagnosticar a ruptura do LCCr, mas é sugerido, pois serve para revelar a extensão da DAD, fornecendo dados que podem confirmar a efetividade do tratamento (OLIVEIRA *et al.*, 2003). O exame radiográfico é mais útil para excluir diagnósticos diferenciais e apontar mudanças secundárias em relação à DAD (WIETHUCHTER, 2014). As radiografias são realizadas nas projeções mediolateral, mediolateral com estresse e craniocaudal. As alterações radiográficas podem variar conforme o tempo de evolução e tipo de lesão (OLIVEIRA *et al.*, 2009). As lesões no LCCr levam a efusão articular, deslocamento da gordura infrapatelar, espessamento da cápsula articular (WIETHUCHTER, 2014), deslocamento cranial da tíbia em relação ao fêmur, presença de osteófitos e entesófitos (OLIVEIRA *et al.*, 2009), que podem ser revelados radiologicamente, fornecendo informações importantes para o diagnóstico desta afecção (WIETHUCHTER, 2014).

A ultrassonografia possui as vantagens de não utilizar radiação ionizante e de possibilitar a observação de componentes intra-articulares. A existência de alterações decorrentes da DAD dificulta a visualização do ligamento pelo recurso da ultrassonografia. Os achados mais comuns são a presença de efusão articular, coxim gorduroso heterogêneo e, em poucos casos, pode se verificar a presença de uma estrutura irregular e hiperecogênica no local de inserção do ligamento na tíbia. Este

achado é compatível com o LCCr rompido, mas essa imagem é mais difícil de ser percebida na fase crônica da doença. A formação de tecido sinovial intra-articular e a grande quantidade de efusão articular são causas que interferem na análise dos componentes articulares (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

A artroscopia é um método de diagnóstico pouco invasivo, que permite confirmar rupturas parciais antes de ser possível a visualização de alterações radiográficas (MATEUS, 2010). É utilizada também para remover menisco lesado e resquícios de ligamento rompido, em associação com técnicas cirúrgicas (TATARUNAS e MATERA, 2005).

A ressonância magnética (RM) e tomografia computadorizada (TC) são métodos de diagnóstico disponíveis para ruptura do LCCr, porém, pelo elevado custo e necessidade de anestesiá-lo o paciente, são pouco utilizadas (MATEUS, 2010).

Torções articulares, lesão primária do menisco, avulsão do tendão extensor digital longo, fraturas, artrite primária ou secundária (MATEUS, 2010), luxação da patela, lesão do ligamento cruzado caudal, lesão primária de menisco, artrite imunomediada, hemartrose e osteossarcoma são diagnósticos diferenciais para ruptura do LCCr (DURANA, 2009).

2.6. Tratamento da Ruptura do LCCr

Existem discussões quanto ao melhor tratamento para ruptura do LCCr. As terapias conservativas e cirúrgicas são descritas, mas a escolha decorre de alguns fatores como peso corporal, idade, porte do animal, função do paciente, problemas ortopédicos ou clínicos presentes e condições econômicas do proprietário (PINTO, 2011).

2.6.1. Tratamento Conservativo

O tratamento conservativo propõe confinamento de 4 a 8 semanas, permitindo somente caminhadas curtas com o animal. O uso de anti-inflamatórios não esteroidais para amenizar a dor causada pela artrite, durante curtos períodos, também está indicado. Porém, bons resultados foram percebidos em cães com massa corporal inferior a 15kg, apesar da progressão do grau de osteoartrite no joelho da maioria destes cães (BUQUERA *et al.*, 2004). O tratamento clínico da DAD visa aliviar o

desconforto e a dor, melhorando o funcionamento articular e o controle da progressão da doença (PINTO, 2011).

2.6.2. Tratamento Cirúrgico

O tratamento indicado é o cirúrgico, já que, a partir deste, a recuperação da função do membro é mais rápida e os processos degenerativos da articulação são menores (SILVA *et al.*, 2016).

Existem várias técnicas cirúrgicas para o tratamento da ruptura do LCCr, estas divididas em: extra-capsulares (que consistem na estabilização fora da articulação), intra-capsulares (estabilização dentro da articulação) (BUQUERA *et al.*, 2004) e osteotomias corretivas (alteram a biomecânica e proporcionam estabilidade ao joelho) (PINTO,2011). Ao optar por uma destas técnicas, o cirurgião deve levar em consideração o peso corporal, o porte do animal e a cronicidade da lesão (BUQUERA *et al.*, 2004).

2.6.2.1. Técnica extra-capsular

A estabilização articular é obtida através da transposição de componentes periarticulares, ou pela disposição de materiais de sutura fora da articulação. Este procedimento é mais fácil e mais rápido de realizar do que as técnicas intra-capsulares (IGLÉSIAS, 2009). Independente do porte do animal, as técnicas extra-capsulares devem ser o método de escolha quando a lesão do LCCr é crônica, visto que a resposta inflamatória e alterações degenerativas criam um ambiente intenso para o tecido autógeno transposto. A fibrose periarticular formada após algumas semanas é o que gera estabilização da articulação, já que suturas tendem a romper a longo prazo (PINTO, 2011). Estas técnicas não tentam substituir o ligamento. As suturas aplicadas possivelmente se alargarão, visto que seu objetivo é prevenir o movimento cranial da tíbia e a lesão dos meniscos durante a fase de reparação dos tecidos e promover uma fibrose periarticular útil ao longo da linha de sutura (IGLÉSIAS, 2009).

Na técnica de imbricação do retináculo modificada (técnica de Flo), dois fios são passados em ambas as fabelas (lateral e medial) e direcionados à um orifício na crista da tíbia, além de uma sutura adicional também colocada na fabela para a porção medial da patela, obtendo bom resultado em 95% dos animais (TATARUNAS e MATERA, 2005). Essa técnica sofreu algumas modificações, passando a ser

denominada “três em um” (IGLÉSIAS, 2009). Está relacionada a menos complicações trans e pós-operatórias, mas pode apresentar desvantagens, como compressão excessiva das superfícies articulares e afrouxamento, soltura ou rompimento do fio (SANTOS *et al.*, 2013).

2.6.2.2. Técnica intra-capsular

As técnicas intra-capsulares são baseadas na substituição do LCCr rompido por material sintético ou autógeno como a fáscia lata ou ligamento patelar, o qual é colocado em posição semelhante ao trajeto do ligamento original (TATARUNAS e MATERA, 2005).

A técnica de Paatsama compreende a coleta de fáscia lata, deixando-a presa na extremidade distal. Orifícios são feitos no fêmur e na tíbia na origem anatômica e inserção do LCCr lesionado. O enxerto é então tracionado e ancorado com suturas no ligamento patelar. Deve-se ter cautela para não lesionar o LCCd (PINTO, 2011).

A técnica de Dueland consiste em manter o ligamento patelar unido à extremidade proximal da tíbia e conduzi-lo por único orifício no côndilo femoral, suturando-o na face lateral do côndilo (TATARUNAS e MATERA, 2005).

A técnica *over the top* consiste no ligamento patelar ser mantido junto à porção proximal da tíbia e levado pela região intercondilar até o topo do côndilo femoral lateral, onde é feita a sutura dos tecidos moles. Quando o orifício femoral é incorretamente colocado, ocorre mudança no comprimento do enxerto durante a extensão e flexão da articulação, podendo levar a falha e exaustão do enxerto (TATARUNAS e MATERA, 2005).

2.6.2.3. Osteotomias Corretivas

As osteotomias corretivas alteram a biomecânica da articulação para obter estabilidade pela restrição da articulação do joelho (RAMOS *et al.*, 2010).

A osteotomia em cunha da tíbia (TWO) consiste em realizar duas osteotomias formando uma cunha na porção proximal da tíbia, fixando-se os dois fragmentos óssea por uma placa de autocompressão. O ângulo da osteotomia em cunha deve ser igualado ao ângulo do platô tibial no pré-operatório para neutralizar as forças do deslocamento cranial da tíbia (PINTO, 2011).

A osteotomia do platô tibial (TPLO) tem como objetivo reduzir o ângulo do platô tibial por meio de uma osteotomia radial na porção proximal da tíbia. O deslocamento tibial cranial é transformado em caudal causando maior tensão no ligamento cruzado caudal. Após a osteotomia o fragmento proximal é rotacionado até que a angulação necessária é constatada e então fixada com fio temporariamente até a implantação de placa óssea compressiva (MARQUES *et al.*, 2014).

A técnica de avanço da tuberosidade tibial (TTA) altera a dinâmica da articulação do joelho por meio da osteotomia longitudinal da tuberosidade da tíbia. A tuberosidade tibial é fixada a uma placa especial em sua porção cranial. É introduzido um espaçador na porção proximal da osteotomia com o tamanho pré determinado do avanço e fixado com dois parafusos (PINTO, 2011).

2.7. Pós-operatório da Ruptura do LCCr

O pós-operatório estabelece exercício restrito nas primeiras semanas, seguido por uma pequena progressão da atividade. A imobilização pós-operatória resulta em atrofia muscular da coxa, perda da resistência do complexo osso-ligamento e danos na cartilagem articular. A movimentação precoce pode prevenir estas alterações, desde que seja controlada, visto que pode levar a falha do reparo cirúrgico com perda da estabilidade e progressão da DAD, independente da técnica utilizada. Mesmo que o pós operatório seja bem conduzido, meses ou anos mais tarde, pode haver recidiva da claudicação, devido a lesão envolvendo o menisco medial (BUQUERA *et al.*, 2004).

3- RELATO DOS CASOS

3.1. Caso 1

Foi recebida para atendimento no Hospital Veterinário Gardingo-LTDA no dia 13/09/2016, uma cadela, poodle, 14 anos, 10,5 kg com queixa de claudicação progressiva do membro pélvico direito. No exame físico geral a paciente apresentava-se bem, com vacinação e vermifugação em dia.

Aos exames laboratoriais (hemograma, perfil bioquímico hepático e renal) não foram observadas alterações. Durante o exame ortopédico observou-se claudicação intensa no membro pélvico direito, com teste de gaveta cranial e teste de compressão tibial positivos, confirmando o diagnóstico de ruptura do LCCr. O tratamento cirúrgico

foi indicado para a paciente e a mesma encaminhada para o procedimento cirúrgico no dia 20/09/2016.

No preparo, a paciente foi mantida em fluidoterapia intravenosa com Ringer Lactato (10ml/kg/hora), medicação pré-anestésica com morfina (0,5mg/kg/IM) e midazolam (0,2mg/kg/IV). Foi realizada a tricotomia do membro acometido e região lombossacra para anestesia epidural. Indução anestésica com bólus de propofol (6mg/Kg/IV). Manutenção anestésica com isofluorano. Procedeu-se a anestesia epidural com lidocaína (0,5mg/kg) e morfina (0,1mg/kg), sendo aplicados no espaço epidural. A técnica escolhida pelo cirurgião foi a técnica extra-capsular de Flo (“três em um”) modificada.

Após o procedimento cirúrgico, foi realizada uma bandagem de Robert Jones para minimizar a tumefação e proteção da ferida cirúrgica. Para casa foi prescrito: Cloridato de Tramadol 6mg/kg, por via oral de 8/8 horas e Meloxicam 0,1mg/kg por via oral a cada 24 horas, ambos por três dias. Foi recomendado ao tutor manter a paciente em repouso por 10 dias com joelho imóvel, uso de colar Elizabetano, preservar a bandagem e retorno em 10 dias. Ao retorno do 10º dia foram retirados os pontos, refeito o teste de gaveta cranial que apontou um resultado negativo e pedido retorno após 20 dias. Na avaliação com 30 dias foi percebido retorno da função do membro com recuperação da marcha normal do animal.

3.2. Caso 2

Foi recebida para atendimento no Hospital Veterinário Gardingo-LTDA no dia 17/10/2016, uma cadela, poodle, 10 anos, 6 kg com queixa de claudicação progressiva do membro pélvico direito. No exame físico geral a paciente apresentava-se bem, com vacinação e vermifugação em dia.

Aos exames laboratoriais (hemograma, perfil bioquímico hepático e renal) não foram percebidas alterações. Durante o exame ortopédico observou-se claudicação importante em MPD com teste de gaveta cranial e teste de compressão tibial positivos. Ao exame radiográfico nas projeções mediolateral, mediolateral com estresse e craniocaudal foi observada presença de deslocamento caudocranial e discreta rotação medial da tibia, redução da área correspondente ao coxim gorduroso e luxação medial de patela direita, confirmando o diagnóstico de ruptura do LCCr. O tratamento cirúrgico

foi indicado para a paciente e a mesma encaminhada para o procedimento cirúrgico no dia 24/10/2016.

No preparo, a paciente foi mantida em fluidoterapia intravenosa com Ringer Lactato (10ml/kg/hora), medicação pré-anestésica com morfina (0,5mg/kg/IM) e midazolam (0,2mg/kg/IV). Foi realizada a tricotomia do membro acometido e região lombossacra para anestesia epidural. Indução anestésica com bólus de propofol (6mg/kg/IV). Manutenção anestésica com isoflurano. Procedeu-se a anestesia epidural com lidocaína (0,5mg/kg) e morfina (0,1mg/kg), sendo aplicados no espaço epidural. A técnica escolhida pelo cirurgião foi a técnica extracapsular de Flo (“três em um”) modificada, descrita posteriormente.

Após o procedimento cirúrgico, foi realizada uma bandagem de Robert Jones para minimizar a tumefação e proteção da ferida cirúrgica. Para casa foi prescrito: Cloridato de Tramadol 6mg/kg por via oral de 8/8 horas e Meloxicam 0,1mg/kg por via oral a cada 24 horas, ambos por três dias.

Foi recomendado ao tutor manter a paciente em repouso por 10 dias com joelho imóvel, uso de colar Elizabetano, preservar a bandagem e retorno em 10 dias. Ao retorno do 10º dia foram retirados os pontos, refeito o teste de gaveta cranial que apontou um resultado negativo e pedido retorno após 20 dias. Na avaliação com 30 dias foi percebido retorno da função do membro com recuperação da marcha normal do animal.

3.2. Técnica Cirúrgica

3.2.1. Técnica de Flo (“três em um”) modificada

A técnica utilizada foi a de Flo (“três em um”) descrita por SLATTER (2007) com algumas modificações.

Após o posicionamento do animal na mesa cirúrgica em decúbito dorsal, foi realizada a antissepsia do membro acometido com iodopovidina e álcool, foram colocados os panos de campo fixados com pinças Backhaus. Foi realizada abordagem lateral a articulação FTP, incisão cutânea craniocaudal (FIGURA3-A) seguida por artrotomia, desde o terço distal do fêmur até a porção distal da crista da tíbia para que fosse possibilitada a inspeção articular e remoção do remanescente do ligamento rompido (FIGURA 3- B e C).



A

FIGURA 3 (A) Incisão cutânea craniocaudal (B) Inspeção articular (C) LCCr na pinça

Fonte: Arquivo pessoal

Após a remoção do ligamento rompido (FIGURA 4-A), avaliou-se a patência dos meniscos, que em ambos os casos, estavam sem lesões aparentes. A fáscia foi submetida à incisão ao longo da borda cranial do ventre caudal do músculo, liberando-a parcialmente de sua inserção tibial. Em seguida, foi feita a oclusão da incisão da cápsula articular e a passagem da sutura com fio mononylon calibre 3 por trás da fabela medial. A pele foi afastada lateralmente e a incisão na fáscia sobre a face lateral da articulação foi executada.

Para a exposição da cápsula articular lateral e fabela lateral, afastou-se o músculo bíceps femoral no sentido caudal. O cirurgião efetuou a passagem de segmento do fio mononylon calibre 3 em torno da fabela lateral com auxílio de uma agulha (FIGURA 4 B e C).



A

B

C

FIGURA 4: (A) LCCr removido (B) Agulha para auxílio na passagem do fio (C) Passagem do fio

Fonte: Arquivo pessoal

A sutura foi seccionada nas proximidades da agulha, deixando os dois fios independentes. Em seguida, foi feito um orifício na crista da tíbia com uma broca cirúrgica junto à inserção do ligamento patelar e passagem da sutura medial e uma das suturas laterais através do orifício utilizando uma agulha como guia.

Com a articulação do joelho em ligeira flexão, as suturas foram ajustadas o suficiente, a ponto de eliminar a frouxidão articular; a superfície lateral foi atada antes do ajuste da medial. Foi aplicada a segunda sutura lateral através da porção média do ligamento patelar para a obtenção de maior imbricação articular.

A porção separada do músculo caudal foi suturada juntamente com a fásia medial ao ligamento patelar, no sentido proximal ao nível da patela. A partir desse ponto, o músculo não foi incluído na oclusão da fásia medial. A fásia lata foi submetida à sobreposição lateral, colocando o músculo bíceps sob maior tensão. Logo após foi feita sutura do subcutâneo e dermorrafia.

Foi observado em ambos os casos, presença de fibrose peritrocantérica, espessamento da gordura infrapatelar, rompimento da artéria genicular e excesso de líquido sinovial. Não houveram complicações no trans-cirúrgico.

4- DISCUSSÃO

A literatura dispõe de vários trabalhos sobre a patogenia, diagnóstico, tratamentos conservadores ou cirúrgicos para a ruptura do LCCr, bem como, as condições que talvez predisponham os cães como, idade, raça, sexo e peso corporal inadequado. As técnicas cirúrgicas para estabilização articular e eliminação da translação cranial da tíbia em relação ao fêmur são tratamento de escolha de muitos cirurgiões, por trazerem melhores resultados clínicos no que diz respeito à qualidade de vida e retorno da função do membro (ROMANO *et al.*, 2006).

A ruptura do LCCr é classificada como traumática ou degenerativa. Enquanto a traumática (aguda) acomete animais em crescimento e ocorre avulsão de uma das extremidades do ligamento, na forma degenerativa (crônica) a ruptura do LCCr é espontânea, havendo um estiramento inicial, ruptura parcial e então total do ligamento (BACH *et al.*, 2015). Os casos aqui relatados referem-se à forma crônica da ruptura, nos quais não haviam relatos de trauma pelos proprietários.

Segundo Durana (2009), os pacientes de raças de pequeno porte (com peso inferior a 20kg) têm sido afetados numa idade mais avançada, sendo confirmado no presente estudo.

De acordo com Tatarunas *et al.*, (2007) o procedimento cirúrgico para reparação da ruptura do LCCr visa promover retorno da função do membro e reestabelecer a estabilidade articular e acrescentaram que nenhuma técnica impede a evolução da DAD, conforme no presente estudo onde os animais aqui relatados retornaram com a função motora, mas continuam com a DAD.

Consideram-se vantajosas as técnicas extra-capsulares em cães de pequeno porte e convenientes quando há lesão crônica do ligamento, visto que as alterações presentes dentro da articulação criam um ambiente impróprio para a utilização de uma técnica de reparo intra-capsular (RAMOS, 2010). A técnica de Flo (“três em um”) para correção da ruptura do LCCr nos cães deste estudo é a técnica extra-capsular mais comumente utilizada e tem mostrado eficiência na estabilização da articulação do joelho, demonstrando a versatilidade da técnica principalmente em cães de pequeno porte de acordo com Santos *et al.*, (2013). Sendo assim, foi a técnica escolhida pelo cirurgião, devido as inúmeras vantagens como, resultados satisfatórios e fácil execução, sendo confirmado no presente estudo, visto que, o tratamento cirúrgico proporcionou o alívio da dor e retorno da função do membro dos animais relatados.

Ramos *et al.*, (2010) alegam que independente da técnica cirúrgica escolhida, a articulação do joelho deve ser aberta e explorada. A membrana sinovial deve ser inspecionada, osteófitos devem ser removidos e os meniscos inspecionados cuidadosamente, como feito no presente estudo.

Não casos aqui relatados não houve ruptura do fio, nem afrouxamento da estabilização por falha técnica do nó em 30 dias, apesar de Baraúna *et al.*, (2007) ter relatado afrouxamento da sutura e soltura do fio ao redor da fabela, devido à fixação inadequada.

A utilização da bandagem de Robert Jones no período pós-operatório evitou a formação de edema. Ramos *et al.*, (2010) citam que a utilização deste tipo de bandagem tem por objetivo minimizar o edema e proteger a ferida nas primeiras 48 horas.

A restrição da atividade foi requerida aos pacientes, podendo realizar caminhadas com uso de guia nos primeiros meses após a cirurgia, seguido de aumento

progressivo da atividade física conforme Ramos *et al.* (2010) mencionaram. Durana (2009) acrescenta que no pós-cirúrgico devem ser administrados anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) conforme foi feito no presente trabalho associado ao opioide tramadol que promoveu um bom efeito analgésico. O meloxicam foi o fármaco de escolha, visto que possui eficácia para dor e inflamação associados ao pós-operatório ortopédico, conforme relatos de Villanova *et al.*, (2015).

Nos casos relatados houve imediata estabilização da articulação e não ocorreram dificuldades trans e pós operatórias. Estes fatos são importantes para considerar os procedimentos como muito satisfatórios, conforme descrito por Silva (2016).

5- CONCLUSÃO

O presente estudo permite concluir que a técnica de Flo “três em um” revelou-se bastante eficaz nos casos apresentados para estabilização da articulação fêmoro-tíbio-patelar em cães. A realização dessa técnica cursou sem dificuldades trans-operatórias e sem complicações pós-cirúrgicas com retorno precoce da função motora dos animais aqui relatados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BACH, M.; VILLANOVA JUNIOR, J. A.; TASQUETI, U. I.; PIMPÃO, C. T.; PRADO, A. M. B. do; MICHELLOTTO JUNIOR, P. V. Estudo retrospectivo de cães portadores de ruptura do ligamento cruzado cranial: 32 casos (2006 a 2012). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.36, p. 1409-1418, mai/jun. 2015.

BARAÚNA JÚNIOR, D.; ROEHSIG, C.; ROCHA, L. B.; CHIORATTO, R.; TUDURY, E. A. Técnica de interligação extracapsular fêmoro-fabelo-tibial na ruptura do ligamento cruzado cranial em cães: achados clínicos e radiográficos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, p. 769-776, mai/jun. 2007.

BREGADIOLI, T.; MOTA, F. C. D.; EURIDES, D.; FARIA, L. M.; DIAS, R. C.; SOUZA, L. A. Uso da técnica *TightRope* modificada em cães com ruptura do ligamento cruzado cranial. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 21, p. 90-95, abr/jun. 2014.

BUQUERA, L. E. C.; PADILHA-FILHO, J. G.; CANOLA, J. C. Ruptura do ligamento cruzado cranial em cães revisão de literatura. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v.7, n. 1, p 43-47, 2004.

COMERFORD, E.J. Current thoughts on canine cranial cruciate ligament disease. **Proceedings of the 56th SCIVAC Congress**, Rimini, Italy, p.147-148, 2007.

DUERR, F. M.; DUNCAN, C. G.; SAVICKY, R. S. *et al.* Comparison of surgical treatment options for cranial cruciate ligament disease in large-breed dogs with excessive tibial plateau angle. **Vet. Surg.**, v.37, p.49-62, 2008.

DURANA, Jordana Nunes; **Caracterização da clínica cirúrgica da ruptura do ligamento cruzado cranial em canídeos**. Dissertação de mestrado integrado em Medicina Veterinária-Universidade técnica de Lisboa. Lisboa, 2009.

IGLÉSIAS, L. V. **Comparação entre técnicas cirúrgicas para a correção da ruptura do ligamento cruzado cranial em canídeos**. Dissertação de mestrado integrado em Medicina Veterinária. Lisboa, 2009.

MARQUES, D. R. C.; IBAÑES, J. F.; NOMURA, R. Principais osteotomias para o tratamento da ruptura do ligamento cruzado cranial em cães: revisão de literatura. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, Umuarama, v. 17, p. 253-260, out/dez. 2014.

MATEUS, F. J. V. **Ruptura do Ligamento Cruzado Cranial no cão. Abordagem diagnóstica e resolução cirúrgica por osteotomia tripla da tibia (TTO)**. Trabalho Final de Curso em Clínica e Cirurgia de Animais de Companhia. Coimbra, 2010.

MEDEIROS, R. M. **Avaliação a longo prazo da técnica de avanço da tuberosidade tibial modificada em cães**. Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, São Paulo, 2015.

ODA, S. G. S.; MATERA, J. M. Tratamento de ruptura do ligamento cruzado cranial por sutura fabelo-tibial-lateral: revisão. **Revista Acadêmica Ciência Agrária Ambiental**. v.7, n°.3 Curitiba, p. 319-329, 2009.

OLIVEIRA, S. T. de.; RAISER, A. G., GUEDES, A. G. P., ALVES, S. D. de L., GONÇALVES, G. F., MAZZANTI, A., BELETTI, M. E., STEDILE, R., MARIN, A., SILVA, T. R. Reparação do ligamento cruzado cranial de cães por tendão homólogo conservado em glicerina e associado a fio de náilon. **Cienc. Rural**. Santa Maria, v. 33, n. 4, Jul/Ago. 2003.

OLIVEIRA, D. A. M. **Lesão do ligamento cruzado cranial em cães (canis familiaris): revisão de literatura.** Trabalho monográfico de conclusão do curso de pós-graduação clínica-cirúrgica de pequenos animais. Rio de Janeiro, 2008.

OLIVEIRA, R. R.; MAMPRIM, S. C. R; BICUDO, A. L. C. Radiografia e ultrassonografia no diagnóstico da ruptura do ligamento cruzado cranial em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 29, ago. 2009.

PIERMATTEI, D. L.; FLO, G. L.; DeCAMP, C. E. **Handbook of small animal orthopedics and fracture repair.** USA: Saunders, 4 ed, 2006.

PINTO, L. A. T. **Ruptura do ligamento cruzado cranial e a reabilitação física pós-operatória.** Monografia apresentada à faculdade de Veterinária como requisito parcial para a obtenção da graduação em Medicina Veterinária. Porto Alegre, 2011.

RAMOS, R. M. **USO DA TÉCNICA DE OSTEOTOMIA E NIVELAMENTO DO PLATÔ TIBIAL PARA O TRATAMENTO DA RUPTURA DO LIGAMENTO CRUZADO CRANIAL EM CÃES.** Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2010.

RAMOS, R. M.; LUZ, M. J.; VALE, D. F.; FERREIRA, G. dos S.; MACHADO, G.; FONSECA, A. F. B. da; OLIVEIRA, A. L. de A. Osteotomia de nivelamento do platô tibial no tratamento da ruptura do ligamento cruzado cranial-estudo clínico em cães. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 17, p. 31-37, jan/abr. 2010.

ROMANO, L.; PEREIRA, C. A. M.; SCHMAEDECKE, A.; SAUT, J. P. E.; FERRIGNO, C. R. A. Análise biomecânica do joelho íntegro e com ruptura do ligamento cruzado cranial quanto ao grau de deslocamento cranial e rigidez articular em cães. *Acta Cir. Bras*, São Paulo, v.21, n. 1, jan/fev. 2006.

ROSA, V. C. da. **Técnica de avanço da tuberosidade tibial (tta) para tratamento de ruptura de ligamento cruzado cranial em cães.** Porto Alegre, 2016. 42 p. Trabalho apresentado como requisito parcial para graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de Veterinária.

SALBERGO, F. Z.; RAISER, A. G.; MAZZANTI, A.; PIPPI, N. L.; GRAÇA, D. L.; SOUZA, S. F. de; PELIZZARI, C.; FESTUGATTO, R.; BECKMANN, D. V.; SOUZA, L. B. de; CUNHA, M. M. da; SILVA, A. P. da; SANTOS, R. P. dos. Substituição do ligamento cruzado cranial por segmento teno-ósseo homólogo conservado em glicerina a 98%. Estudo experimental em cães. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 37, p. 438-442, mar/abr. 2007.

SANTOS, J. F. dos; FERRIGNO, C. R. A.; FERREIRA, M. P.; CUNHA, O.; ITO, K. C.; FERRAZ, V. C. de M.; CAQUIAS, D. F. I.; NINA, M. I. D.; FIGUEIREDO, A. V.; SOUZA, A. N. A. de. Fratura proximal de tibia após cirurgia extracapsular para correção de ruptura de ligamento cruzado cranial em cão. *Ciência Rural*. Santa Maria, v. 43, n.3, Mar/2013

SCHULZ, K. Diseases of the joints. In T.W. Fossum, **Small animal surgery**. Missouri: Mosby Elsevier. 3 ed, p.1143-1315, 2007.

SILVA, R. S. da.; FRANÇA, T. do N., COSTA, S. Z. R., ATALLAH, F. A., MIRANDA, I. C., MASCARENHAS, M. B., PEIXOTO, T. da C., PEIXOTO, P. V. Vantagens da técnica de fixação côndilo-tibial extra-articular na estabilização da articulação femorotibiopatelar pós-ruptura do ligamento cruzado cranial em cães. **Rev. Bras. Med. Vet.** 38, p.39-46, jun. 2016.

SLATTER, D. H. Manual De Cirurgia De Pequenos Animais. Brasil. Manole, 2 ed., 2007.

SOLER, M.; MURCIANO, J.; LATORRE, R.; BELDA, E.; RODRÍGUEZ, M.J.; AGUT, A. Ultrasonographic, computed tomographic and magnetic resonance imaging anatomy of the normal canine stifle joint. The Veterinary Journal.v.174, p.351-361, 2007.

TATARUNAS, A. C.; MATERA, J. M. Tratamento da ruptura do ligamento cruzado cranial no cão. **Rev. Educ. Contin.** São Paulo. v. 8, n. 1, p. 26-37, 2005.

TATARUNAS, A. C.; MATERA, J. M.; OLIVEIRA, R. M. D.; MACCHIONE, R. F.; BRUGNARO, M. Estudo retrospectivo do tratamento da ruptura de ligamento cruzado cranial no cão por técnica cirúrgica extra-articular. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, São Paulo, v. 44, p. 200-207, 2007.

VILLANOVA JUNIOR, J. A.; CATAPAN, D. C.; GNEIDING, J. E. B. de O.; RIBEIRO, D. R.; CAPRIGLIONE, L. G. A.; PIMPÃO, C. T. AVALIAÇÃO DO MELOXICAM PARA O TRATAMENTO DA INFLAMAÇÃO E DA DOR ASSOCIADAS À OPERAÇÕES ORTOPÉDICAS EM CÃES. **Acta Veterinária Brasilica**, Paraná, v. 9, p. 354-361, 2015.

WIETHUCHTER, C. F. Ruptura do ligamento cruzado cranial em cães. **Ces. Med. Vet. Zootec.** Medellín, v.9, n. 2, July/Dec. 2014.

TRATAMENTO DE RECEPTORAS EQUINAS COM PROGESTERONA PARA UTILIZAÇÃO NO DIA DA OVULAÇÃO E NO SEGUNDO DIA PÓS-OVULAÇÃO

Acadêmicos: Ivair Gomes da Silva Júnior e Jeferson da Silva Lopes

Orientador: João Luiz do Espírito Santo

RESUMO

A importância do tratamento de receptoras equinas com progesterona num programa de transferência de embriões (TE). A (TE) é relevante para o melhoramento genético, permitindo explorar animais superiores geneticamente, impossibilitados de manter uma gestação até o fim, bem como, possibilitar o aproveitamento de doadoras em competições. No estudo realizado em quatro haras, em Minas Gerais, durante a estação de monta de setembro de 2016 a abril de 2017, foram utilizadas 103 receptoras com escore corporal variando de 2 a 4, numa escala de 1 a 5, com idades de 3 a 9 anos. Priorizaram-se receptoras com boa habilidade materna e boa produção de leite. As receptoras eram tratadas com capim picado, soltas a pasto, recebiam sal mineral e água “*Ad libitum*”, foram separadas em grupos (D0; D2; D4 e D5), em relação ao estágio do ciclo estral. Os grupos D4 e D5 obtiveram os melhores resultados, sem utilização de progesterona. Apesar dos resultados inferiores, os grupos D0 e D2, com uso de progesterona, apresentaram resultados satisfatórios para um programa comercial de (TE), corroborando com a eficiência da utilização da terapia hormonal com progesterona de longa ação em programas de reprodução equina.

PALAVRAS-CHAVE: progesterona; receptora; sincronização.

1. INTRODUÇÃO

A equideocultura vem contribuindo com o crescimento econômico do Brasil, propiciando a geração de 640 mil empregos diretos, 200 mil indiretos, movimentando cerca de R\$ 7,3 bilhões de reais anualmente. Assim, a necessidade de ampliar e melhorar os rebanhos, tem permitido o aprimoramento da técnica de transferência de embriões (LIMA *et al.*, 2006).

A transferência de embriões (TE) é o método no qual se transfere um embrião de uma égua doadora, geralmente animal de melhor genética, para uma égua receptora, animal de genética inferior (DAVIES MOREL, 2003). Desse modo, o uso da (TE) possibilita o maior desenvolvimento da equideocultura e traz consigo a eficiência reprodutiva e o melhoramento genético, além do maior aproveitamento de doadoras em competições e exposições (HURTGEN, 2008).

O primeiro relato sobre a técnica de (TE) em equinos foi realizado por Allen e Rowson (1972), em Cambridge, Inglaterra, através de técnica cirúrgica via laparotomia. A técnica de TE não cirúrgica em éguas foi realizada pela primeira vez no Japão por

Oguri e Tsutsumi (1980). No Brasil, a primeira descrição dessa técnica foi feita por Fleury *et al.* (1987).

Para melhorar a eficácia na TE, é fundamental a sincronização do ciclo estral entre doadora e receptora (LOSINNO *et al.*, 2006). A sincronização do ciclo estral se deve ao monitoramento do crescimento folicular (VANDERWALL e WOODS, 2007). Esta técnica pode ser aplicada tanto por métodos de ovulação espontânea, ou por terapia hormonal em éguas que não apresentam o estro. A técnica de sincronização natural requer maior número de receptoras por doadoras (ZERLOTTI, 2012).

O presente estudo tem o objetivo de propor o melhor dia para inovular o embrião equino na receptora após tratamento hormonal com progesterona e sincronização para transferência de embriões de éguas doadoras.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. FISIOLOGIA DO CICLO ESTRAL DA ÉGUA

Os ciclos reprodutivos são regulados pela incidência de luz recebida pela égua durante o ano. O processamento desse sinal se dá através da glândula pineal, localizada na parte central do cérebro, que secreta melatonina nos períodos de ausência de luminosidade. A melatonina é inibidora de gonadotrofinas, ou seja, quanto menor o período de luz, maior a produção desse hormônio e menor a ciclicidade (CARDOSO, 2010).

A luminosidade estimula o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal que inibe a síntese de melatonina e estimula a ciclicidade das éguas. A luz incide pela retina ocular, ativa receptores de rodopsina, conectando com a glândula pineal, responsável por sintetizar e secretar o hormônio melatonina. Com a redução do hormônio melatonina, ocorre um aumento na liberação do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

A modulação da frequência e da amplitude da liberação de GnRH pelo hipotálamo afeta a produção hipofisária e libera os hormônios folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH). Os receptores ovarianos respondem ao FSH e ao LH induzindo ao recrutamento, à seleção e à dominância folicular (LEY, 2006).

O FSH tem a função de estimular o crescimento e a maturação dos folículos ovarianos, porém, o FSH por si só não causa secreção de estrógenos no ovário. Ao contrário, ele necessita da presença do LH para estimular a produção estrogênica. Os

níveis de LH atuam em conjunto com FSH no sentido de induzir a secreção de estrógeno do folículo ovariano, além disso, o LH também é responsável pela ruptura da parede folicular e ovulação (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

O folículo dominante normalmente continua crescendo e secreta elevada quantidade de estrógeno e quando sensibilizado pelo padrão de liberação do hormônio luteinizante (LH) responde ao estímulo ovulatório. A eliminação do maior folículo no início esperado da seleção previne o aumento contínuo do estradiol e resulta em um aumento do FSH, o que não ocorre quando o segundo maior folículo é eliminado. Tanto a produção de estradiol, quanto a de inibina, é bloqueada se efetivada a eliminação do maior folículo e uma diminuição nos dois hormônios poderia contar para o aumento resultante no FSH (GURGEL *et al.*, 2008; HAFEZ & HAFEZ, 2004).

Cunnighan *et al.* (2014) acrescentam que o estrógeno é usado pelos folículos para estimular o crescimento e desenvolvimento da granulosa (camada celular do folículo) para sinalizar ao hipotálamo e à hipófise de uma futura ovulação.

A inibina é uma proteína produzida nos ovários que desempenha um papel muito importante da regulação hormonal da foliculogênese. Ela atua como sinalizador químico para hipófise sobre o número de folículos em crescimento no ovário, reduzindo a secreção de FSH até certo nível. A Folistatina é outra proteína que inibe a secreção de FSH, mimetizando a inibina, porém, neutralizando a atividade biológica da inibina (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

O outro hormônio que está presente na foliculogênese é a ativina que tem o papel oposto ao da inibina, pois ela estimula a secreção de FSH, sendo um dos fatores principais para o crescimento folicular (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

No final da fase de desenvolvimento do folículo antral, o FSH e o estrógeno iniciam a formação de receptores de LH na granulosa e diminuem os receptores de FSH. O aumento da secreção de estrógeno pelo folículo antral resulta na iniciação da onda pré-ovulatória de LH. Então, no último estágio de desenvolvimento, o folículo progride sob controle do LH, o qual promove a última aceleração do crescimento até o ponto de ovulação (CUNNIGHAN *et al.*, 2014).

A onda pré-ovulatória de hormônio luteinizante (LH), provoca efeito na granulosa formando o início do processo de luteinização, o qual transforma as células de secretoras de estrogênio, para secretoras de progesterona. Com o advento da onda de

LH, a secreção de estrogênio cai, o que ocorre em concomitância com o início da secreção de progesterona (GURGEL *et al.*, 2008; CUNNIGHAN *et al.*, 2014).

A partir desses diversos eventos ocorridos no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, ocorre o processo denominado ovulação que leva ao rompimento do folículo. Neste momento, há uma quebra dos tecidos que envolvem a granulosa, particularmente da membrana basal, podendo ocorrer uma hemorragia. O rompimento da parede do folículo leva à liberação do ovócito e à formação do corpo lúteo através da parede do folículo, que se colapsa e se dobra após a ovulação (SAMPER *et al.*, 2007).

A progesterona é secretada pelas células luteínicas do corpo lúteo, pela placenta e pelas glândulas adrenais. Sua função é promover o encerramento dos sinais de estro, manter a fêmea não receptiva ao macho, preparar o útero para a recepção do embrião e manter a gestação inicial aumentando a atividade secretora das glândulas endometriais e a tonicidade uterina (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

As prostaglandinas exercem várias funções no organismo. Elas participam de diversas ações metabólicas, processos fisiológicos e patológicos, ovulação, função endócrina (GURGEL *et al.*, 2008).

A Prostaglandina F₂α (PGF₂α) está relacionada ao processo de luteólise diminuindo os níveis de progesterona para que se inicie uma nova onda folicular. Ela influencia o desenvolvimento folicular, fazendo com que o crescimento se dê de forma mais rápida mediante sua aplicação (SANTOS e VASCONCELOS, 2011).

De acordo com Hafez e Hafez, (2004), a gonadotrofina coriônica equina (eCG), que é uma glicoproteína com função biológica similar ao FSH e LH, contudo, é secretada nos cálices endometriais da égua. A secreção do eCG estimula o desenvolvimento de folículos ovarianos, alguns folículos ovulam, porém, a maioria se transforma em folículos luteinizados originando os corpos lúteos acessórios que produzem progesterona, o que mantém a prenhez na égua (MEYERS- BROWN *et al.*, 2010).

2.2. SAZONALIDADE

A égua é classificada como um animal poliéstrico, pois apresenta vários ciclos estrais durante o ano, e sazonal ou estacional, ou seja, inserida num período característico ou específico, pois a estação reprodutiva ocorre no período de maior

luminosidade. A estação não reprodutiva ou anestro ocorre no período de menor luminosidade. O ciclo estral sofre influências do estado nutricional, estresse, mudança de rotina e sanidade do animal, bem como, temperatura e, principalmente, foto período (BORTOT e ZAPPA, 2013).

A criação comercial de equinos sofre consequências devido à natureza sazonal do ciclo estral da égua. Para aperfeiçoar os resultados no trabalho de transferência de embriões, criadores utilizam o tratamento com iluminação artificial diária, por um período de 16 horas. O tratamento tem duração média de 6 a 12 semanas, onde, a partir da segunda semana, nota-se uma significativa atividade folicular. Com isso, tem sido possível obter a primeira ovulação 76 dias após o início do tratamento (SCHUTZER *et al.*, 2014).

2.3. SINCRONIZAÇÃO

A fisiologia da égua possui particularidades que oferecem ou impõem obstáculos à aplicação da biotécnica de sincronização de estro dessa espécie. A $PGF_{2\alpha}$ e a hCG auxiliam o desenvolvimento folicular (ROSA *et al.*, 2015).

A sincronização possibilita a manipulação do ciclo estral, proporcionando o acompanhamento do desenvolvimento folicular até à detecção da ovulação, com auxílio da ultrassonografia, permitindo, assim, implementar programas de inseminação artificial e transferência de embriões. Destarte, os protocolos são excelentes técnicas para a implementação da ciclicidade das éguas, cumprindo advertir que os animais devem estar com condição corporal e manejo adequado (ROSA *et al.*, 2015).

A janela de sincronização entre a ovulação da receptora e da doadora é entre +1 (ovulação um dia antes da doadora) a -3 (ovulação três dias após a doadora (LIRA *et al.*, 2009). Em todos os protocolos de sincronização tem-se utilizado hCG, GnRH ou EPE para induzir a ovulação em éguas receptoras dentro de 48 horas após a doadora ser inseminada. Salienta-se que sucessivas aplicações de hCG induzem a formação de anticorpos, reduzindo a sua eficiência na reposta ovulatória (DUCHAMP *et al.*, 1987).

2.4. HORMONIOTERAPIA

A sincronização entre doadora e receptora é uma técnica realizada atualmente de maneira relativamente simples em éguas cíclicas. Em todos os protocolos de sincronização empregados, monitora-se o crescimento folicular por ultrassonografia e

utiliza-se hormônios exógenos para induzir a ovulação nas éguas receptoras dentro de 48 h após a inseminação da doadora (FARIA & GRADELA, 2010; McCUE *et al.*, 2007).

Os agentes hormonais utilizados para a indução da ovulação incluem gonadotrofina coriônica humana (hCG), hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), estrógeno (E2), progesterona(P4) e prostaglandina (PGF2 α) (McCUE *et al.*, 2007; NISWENDER *et al.*, 2003).

A hCG é uma glicoproteína hormonal produzida pelas células trofoblásticas sinciciais nos líquidos maternos, a qual tem sido usada com eficácia na indução da ovulação em éguas, pois reduz a duração do estro e o intervalo até a ovulação (dentro de 48 h), reduzindo o número de inseminações e de coberturas necessárias por estro. O hCG também otimiza os resultados da inseminação artificial com sêmen refrigerado ou congelado e da transferência de embriões (WELCH *et al.*, 2006; FARIA e GRADELA, 2010).

Agonistas do GnRH, como acetato de buserelina, acetato de deslorelina na forma de implantes de curta duração ou o mais recente, o acetato de fertirelina (FARIA e GRADELA, 2010), são eficientes para provocar o aumento nas concentrações de LH e induzir a ovulação em éguas cíclicas e em período transicional (WILLIAMS *et al.*, 2007). A diferença no tempo de ovulação, entretanto, varia segundo a droga utilizada, de 24 a 48 horas, em média (FARIA e GRADELA, 2010).

A aplicação de estrógeno (17- β estradiol ou de cipionato de estradiol) no dia seguinte da ovulação em éguas cíclicas inibe o desenvolvimento folicular sem alterar a função luteal. A indigitada técnica poderá ser utilizados em programas de sincronização de estro e ovulação, associados à prostaglandina (sem progesterona) com o mesmo grau de sincronização de quando administrados em associação com progestágenos (REWAY, 2017).

Greco, (2010) verificou que compostas à base de estrógeno foram eficientes na indução e sincronização para ovulação em éguas. Certificou-se, também, que o cipionato de estradiol (ECP) acelerou a ovulação e a sincronização. Kino *et al.*, (2014) corroboran que este hormônio esteróide ampliou o intervalo até a ovulação em éguas com folículos a partir de 30mm de diâmetro.

A administração de progesterona exógena é usada para suporte de prenhez. Níveis de progesterona inferiores a 4,0 mg / mL estão associados a um risco de gestação. A terapia é frequentemente empregada até os 120 dias de gestação, pois a

partir desse momento a produção de progesterona é realizada pela placenta para sustentação da prenhez (PATRICK, 2016).

A progesterona tem grande aplicabilidade no controle do ciclo reprodutivo em éguas, pois seus efeitos desejáveis são a supressão do crescimento folicular e o controle da ovulação, embora a inibição do desenvolvimento folicular não ocorra de maneira uniforme em éguas cíclicas quando administrada sozinha (SILVA *et al.*, 2006)

Administra-se PGF2 α exógena para induzir a luteólise e retornar ao estro. Trata-se de um dos hormônios mais utilizados em métodos farmacológicos para manipular ciclo reprodutivo equino. A luteólise só pode ser induzida consistentemente com uma única injeção de PGF2a em pelo menos 5 ou 6 dias após a ovulação (COFFMAN *et al.*, 2014).

2.5. TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES

A transferência de embriões (TE) é uma importante biotecnologia que tem como objetivo acelerar o melhoramento genético, buscando maior precisão e rapidez no processo de seleção animal (BORTOT e ZAPPA, 2013). Lira *et al.* (2009) asseveram que a TE constitui-se numa técnica que incrementou grande avanço na espécie equina, ocorrendo um melhoria de 12,5% para 74,55% na taxa de prenhez.

A técnica de TE requer elevados investimentos, por isso sua aplicação deve ser direcionada para éguas doadoras de qualidade superior com características que serão repassadas aos descendentes e direcionando para animais que possam atender os requisitos da eficiência reprodutiva (MONTECHIESI, 2015). A seleção e manejo das éguas receptoras é um fator importante que afeta o sucesso do programa de TE, já que estas irão reconhecer o embrião e terão de fornecer as condições necessárias ao seu desenvolvimento (LIRA *et al.*, 2009).

Dentre os critérios de seleção de receptoras, pode-se destacar: animais saudáveis, boa condição corporal, compleição semelhante da doadora, idade entre 4 a 10 anos (animais mais velhos apresentam menor índice de prenhez), apresentar ciclos regulares e animais de bom temperamento, pois animais agitados podem apresentar risco para os profissionais e inclusive até para o próprio embrião (BORTOT e ZAPPA, 2013). Lira *et al.*, (2009) recomendam no mínimo duas receptoras para cada doadora.

A TE lança mão de várias vantagens para o uso dessa biotecnologia, pois além de possibilitar o melhoramento genético, evitar a transmissão de doenças, possibilitar a

utilização de éguas idosas e doentes que não consigam levar uma gestação a termo, permite o aproveitamento de éguas em competição, sem que necessitem interromper a sua atividade desportiva por longos períodos de tempo. Outros sim, antecipa a reprodução de animais jovens, sendo possível coletar embrião de animais abaixo de 2 anos (KUMAR *et al.*, 2008; SAMPER *et al.*, 2007).

2.5.1. TÉCNICA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO

No Brasil, esta técnica em equinos foi primeiramente descrita em 1987 por Fleury, adaptando a metodologia relatada por Douglas (1979) às condições brasileiras. A TE em equino pode ser realizada pela técnica cirúrgica, por incisão ao flanco, ou pela técnica não cirúrgica por via cervical (LIRA *et al.*, 2009).

A colheita de embrião é executada utilizando-se a lavagem uterina transcervical. Atualmente, usa-se um cateter de silicone com balão de 8,0 mm de diâmetro; porém, outros estilos de cateter estão disponíveis. Uma vez o cateter inserido no corpo do útero, o órgão é lavado três ou quatro vezes com solução de Ringer com Lactato, utilizando, em média, de 1 a 3 litros (CAMARGO, 2008). Conforme Alvarenga *et al.*, (1992) atualmente, o Ringer com lactato é a solução de lavado mais utilizada no Brasil.

Na transferência transcervical, a égua receptora deverá ser preparada, assim como a doadora. O operador deve utilizar luva de palpação. Em seguida uma seringa de 10 ml, deve ser acoplada a uma pipeta de inseminação, e todo o material utilizado deve estar estéril, 4 ml de ar é sugado para o interior da seringa e a extremidade da pipeta é posicionada junto à placa de Petry contendo o embrião. Na sequência, o operador atravessa a pipeta manualmente pela vagina, com o dedo indicador da mão, gentilmente, dilata-se o lúmen cervical, introduzindo a pipeta pela cérvix até chegar ao útero. Todo conteúdo da seringa deverá ser depositado no útero da receptora. Na sequência, retira-se vagarosamente a pipeta (CAMARGO, 2008).

3. METODOLOGIA

Este estudo foi realizado em quatro haras, localizados nas cidades de Abre Campo, Caratinga, Iapu e Rio Casca, durante a estação de monta dos anos de 2016/2017 (setembro a abril). Foram usadas 103 receptoras com escore corporal variando entre 2 a 4, numa escala de 1 a 5, das raças Mangalarga Marchador,

Campolina e éguas sem raça definida, com idade de 3 a 9 anos. Priorizaram-se receptoras com boa habilidade materna e boa produção de leite.

As receptoras eram tratadas com capim picado e soltas a pasto e recebiam sal mineral e água "*Ad libitum*". Passavam por avaliação ultrassonográfica em dias alternados, até que se constatasse um desenvolvimento folicular acima de 35 mm de diâmetro para que se obtivesse informação do momento ideal para induzir ou não a receptora à ovulação, sincronizando, dessa maneira, receptora com doadora.

O tônus uterino foi classificado de 1 a 4, conforme os seguintes parâmetros:

- Tônus 1 - mínimo tônus do anestro até o início da atividade cíclica; o formato e a consistência do útero não estavam bem definidos ao exame de palpação retal;

- Tônus 2 - tônus proporcionado pela fase estrogênica do ciclo estral (estro); útero com consistência macia e formato quase tubular, com contratilidade ainda não perceptível ao toque;

- Tônus 3 - tônus da fase progesterônica do ciclo estral (diestro); útero com formato tubular bem definido, com aumento do tônus e da consistência e contratilidade uterina perceptível ao toque; e

- Tônus 4 - máximo tônus do início da prenhez, após o 13º dia; contratilidade uterina mais perceptível ao toque e útero em formato tubular e consistência mais firme.

De acordo com a tonicidade, a cérvix foi classificada como aberta ou fechada. A abertura cervical foi constatada pela sua flacidez e mudança de formato ao toque (HUGHES *et al.*, 1977), foi observada pelo formato tubular e pela consistência firme ao exame.

Para a coleta dos embriões optou-se pela técnica transcervical em detrimento da técnica cirúrgica. A coleta foi realizada no oitavo dia após a ovulação da doadora, tendo se utilizado solução de Ringer com lactado como meio de coleta.

Os embriões obtidos foram classificados em escala de 1 a 5, de acordo com McKinnon e Squires (1988), em excelentes, bons, regulares, ruins e mortos ou ovócitos não fecundados, sendo empregado microscópio estereoscópico com aumento de 10 a 35 vezes.

No momento da transferência, as receptoras foram examinadas por meio de palpação transretal e ultrassonografia, observando-se o tônus uterino e cervical, a morfologia dos corpos lúteos e a presença de edema, cistos, fluidos ou ar uterinos

(CARNEVALE *et al.*, 2000) e classificadas como excelentes, boas, marginalmente aceitáveis ou inaceitáveis:

- Excelentes: pelo menos um corpo lúteo ecogenicamente bem definido, tônus uterino de 3 ou 4, cérvix firmemente fechada e ausência de cistos, dobras e tumores uterinos;

- Boas: corpos lúteos nas condições supracitadas, com tônus uterino classificado como 3 ou 4, porém com dobra endometrial suave, pequenos cistos no útero ou cérvix menos firmemente fechada;

- Marginalmente aceitáveis: corpo lúteo presente, porém pequeno ou de imagem ecogenicamente ruim, útero com tônus entre 2 e 3 e cérvix com fechamento frouxo;

- Inaceitáveis: receptoras sem corpo lúteo definido, com tônus uterino de 2 ou menos; presença de patologias uterinas e edema endometrial pronunciado, além de abertura cervical.

A técnica utilizada para transferência de embriões foi a transcervical e não cirúrgica (Riera *et al.*, 1993, com modificações), com a deposição do embrião no corpo ou corno uterino, de acordo com a facilidade da inovulação. Para o diagnóstico de gestação, as receptoras foram examinadas por palpação retal e ultrassonografia transretal aos 14 dias após a ovulação de sua respectiva doadora e, quando o resultado foi positivo, o diagnóstico foi confirmado aos, 30 e 60 dias de gestação.

As receptoras foram inovuladas em dias diferentes, em relação ao estágio do ciclo estral. D0, D2, D4 e D5 se referem ao dia de inovulação do embrião na receptora, respectivamente, inovulação no dia da ovulação, inovulação dois dias após a ovulação, inovulação quatro dias após a ovulação e inovulação cinco dias após a ovulação.

As receptoras foram agrupadas de acordo com o dia de inovulação:

Grupo 1. Receptoras D0 com P4: às 3 receptoras, no D(-2), administrou-se 1500 UI de hCG intravenoso e 900 mg de P4LA intramuscular.

Grupo 2. Receptoras D2 com P4: às 34 receptoras, no D(-2), administrou-se 1500 UI de hCG intravenoso e 900 mg de P4LA intramuscular.

Grupo 3. Receptoras D4: às 44 receptoras, no D(-2), administrou-se 1500 UI de hCG intravenoso.

Grupo 4. Receptoras D5: às 22 receptoras, no D(-2), administrou-se 1500 UI de hCG intravenoso.

Todas as receptoras, no momento da inovulação, receberam 2 ml de progesterona de curta ação, intramuscular.

Após sete dias da inovulação as receptoras foram submetidas a exame ultrassonográfico para certificação da prenhez.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dados da tabela 1 expressam a porcentagem de concepção de éguas inovuladas em dias diferentes, obtida em quatro haras, todos localizados em Minas Gerais. O grupo que apresentou melhor taxa de concepção foi o grupo D4, com 88,63%, já o grupo D0 apresentou menor eficiência na taxa de concepção 66,66% e os grupos D2 e D5 obtiveram resultados bem próximos, 79,41 e 81,81%, respectivamente.

Tabela 1: Taxa de concepção em éguas receptoras com diferentes dias de inovulação no programa de sincronização para transferência de embriões.

Grupo/Dia de inovulação	Éguas Gestantes/Éguas Inovuladas	Prenhez (%)
Grupo 1 - D0	2/3	66,66%
Grupo 2 - D2	27/34	79,41%
Grupo 3 - D4	39/44	88,63%
Grupo 4 - D5	18/22	81,81%
TOTAL	86/103	79,11%

O estado corpóreo das éguas para o trabalho de transferência de embriões está diretamente ligado ao índice de prenhezes. Desta forma, priorizou-se éguas com escore corporal variando de 2 a 4, com boa nutrição e estado clínico saudável. HENNEKE *et al.*, (1984) acrescenta que éguas que iniciam a estação reprodutiva com melhor condição corporal apresentam taxas de concepção mais elevadas que as éguas em piores condições. As éguas magras apresentam também maior intervalo entre partos e necessitam de um maior número de ciclos para ficarem prenhes.

Gomes (2013) alerta que a idade é critério de seleção, haja vista, as éguas receptoras que serão inseridas num programa reprodutivo têm a função de levar a gestação a termo, minimizando os riscos de perda embrionária. Para tanto, esse trabalho selecionou animais com idade a partir de 3 até 9 anos, com boa habilidade materna. FLEURY (2007) deixa claro que idade é um importante fator de seleção das receptoras.

A seleção de éguas jovens é de suma importância devido à degeneração endometrial que pode comprometer a habilidade de manter o embrião (RICKETTS e ALONSO, 1991; MORRIS e ALLEN, 2002). Losinno e Alvarenga, (2006) destacam também que quanto mais jovem o animal maior será o aproveitamento na propriedade, baixando o custo.

As éguas do grupo D2 foram submetidas à progesterona na dose de 900 mg de (P4LA) intramuscular e com isso ocorreu uma taxa de concepção de 79,41%. Caiado *et al.*, (2007) apresenta um valor inferior, com 72,7% de concepção, com administração diária de 1500 mg de P4, em intervalos de 7 dias; os animais do D5 mostraram uma taxa 76% sem uso de progesterona; no presente trabalho os animais submetidos a inovulação no D5 obtiveram um resultado de 81,81% de concepção, comprovando um melhor resultado.

Dentre as receptoras do grupo D0 houve menor taxa de prenhez que nos demais grupos. Greco, (2010) explica que os animais no D0 apresentam menor grau de edema endometrial, pois o edema estaria relacionado com o início do estro e da ovulação, apresentando o sinal mais confiável do estro em éguas sadias cíclicas (SAMPER, 1997).

Carnevale *et al.* (2000) destaca que o tônus uterino e cervical é o principal fator a ser avaliado na seleção de receptoras. Caiado *et al.*, (2007) relata que no D4 as éguas estão com elevado tônus uterino e ausência de edema endometrial e, ainda, possuem maiores concentrações plasmáticas de progesterona. Isso explica o fato de uma maior taxa de concepção (88,63%) no D4 quando comparada aos animais submetidos à inovulação no D0, D2, se assemelhando aos resultados de D5.

O edema uterino persistente, durante ou após a ovulação, é associado à endometrite subclínica (LEBLANC e CAUSEY, 2009). Contudo, Squires *et al.*, (2014) não perceberam prejuízos relacionados à presença de edema endometrial na taxa de prenhez.

No presente trabalho, todas as receptoras eram avaliadas quanto à presença de tônus uterino, edema endometrial, presença ou não de líquido no útero, condição da cérvix e balanço energético. Nesse sentido, HENNEKE *et al.*, (1984) afirmam que éguas com maior índice energético apresentam maior taxa de prenhez. Na mesma direção, Gomes, (2013) diz que a alimentação de qualidade é imprescindível no

programa de TE, pois a deficiência alimentar encontra-se entre os parâmetros de maior influência para alcançar uma gestação desejável.

As receptoras desse trabalho foram submetidas a um manejo nutricional, soltas a pasto, com capim picado, com água e sal mineral *ad libitum*. Rodrigues, (2012) diz que os animais devem ter livre acesso à água, boas pastagens e evitar superlotação, à vista de tais aspectos influenciarem na eficiência reprodutiva, pois animais que recebem embrião necessitam de melhores cuidados.

Os animais que foram submetidos a esse tratamento tiveram acompanhamento folicular. A partir dos 35 mm de diâmetro já iniciava o trabalho de monitorar o momento ideal para a realização da transferência. Robinson, (2003) diz que, em animais de raça para tração, a ovulação ocorre com folículos acima de 50 mm. Pierson e Ginther, (1985) afirmam que a partir de 30mm a égua já pode ovular a qualquer momento ou até sete dias após, advertindo que o folículo pré-ovulatório após a dominância cresce até 3mm ao dia.

Vale destacar a grande influência do profissional qualificado para obtenção de maior aproveitamento nas taxas de concepções reprodutivas trabalhando de forma objetiva e higiênica possível. Cardoso, (2010) diz que a região da vulva e todo seu redor deve ser limpa, evitando contaminação com fungos e bactérias no trato reprodutivo, pois o ambiente uterino precisa estar saudável para manter a gestação (HAFEZ e HAFES, 2004).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no presente trabalho indicam que o melhor dia para inovulação de embriões equinos em receptoras, ocorre nos dias D4 e D5 após a ovulação.

Contudo, num programa comercial de transferência de embriões (TE), geralmente, no final de estação há escassez de receptoras e como alternativa são utilizadas receptoras no D0 e no D2 para não haver perda de embriões, por falta de receptoras com sincronia ideal.

Sendo assim, o tratamento com progesterona em receptoras equinas, possibilita o uso de receptoras nos dias 0 e 2, com obtenção de taxas de concepções consideradas excelentes e boas para as receptoras inovuladas no D4.

6. REFERÊNCIAS

- ALLEN, W. R.; ROWSON, L. E. A. Transfer of ova between horses and donkeys. *Animal Breed, Abstract*. v.40, p.484-487, 1972.
- ALVARENGA, M. A.; ALVARENGA F. C. L.; MEIRA, C. Some modifications in the technique used to recover equine embryo. *Resumos 13rd International Symposium on Equine Embryo Transfer*, Buenos Aires, Argentina. p. 34-35, 1992.
- BORTOT, D. C.; ZAPPA, V. Aspectos da reprodução equina: inseminação artificial e transferência de embrião: Revisão de literatura. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, n.21, p. 1-23, 2013.
- CAIADO, J. R. C.; FONSECA F. A.; SILVA, J. F. S.; FONTES, R. S. Tratamento de éguas receptoras de embriões visando sua utilização no segundo dia pós-ovulação. **Revista Brasileira Zootecnia**. v.36, p.360-368, 2007.
- CAMARGO, C. E. **Fatores reprodutivos que interferem em um programa comercial de transferência de embriões em éguas de hipismo**. Dissertação de mestrado da Universidade Federal do Paraná. p.1-79, 2008.
- CARDOSO, A. M. **Inseminação artificial em éguas**. Monografia de Trabalho Conclusão de Curso, Faculdade Metropolitanas Unidas-FMU, 2010.
- CARNEVALE, E.M.; RAMIRES, R. J.; SQUIRES, E. L. et al. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. **Theriogenology**, v.54, p.965-979, 2000.
- COFFMAN, E. A.; PINTO, C. R. F.; SNYDER, H. K.; LEISINGER, C. A.; COLE, K.; WHISNANT, C. S. Antiluteogenic effects of serial prostaglandin F_{2α} administration in cycling mares. **Theriogenology**, v.82, p.1241-1245, 2014.
- CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 5.ed. Rio de Janeiro, Editora Elsevier. p. 417- 420, 2014.
- DAVIES MOREL, M.C.G. **Selection of the mare and stallion for breeding**. In. **Equine reproductive physiology, breeding and stud management**. Wallingford, CAB International. p.105 -130, 2003.
- DOUGLAS R.H. Review of induction of superovulation and embryo transfer in the equine. **Theriogenology**, v.11, p.33-36, 1979.
- DUCHAMP, G.; BOUR, B.; COMBARNOUS, Y.; PALMER, E. Alternative solutions to hCG induction of ovulation in the mare. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v. 35, p. 221-228, 1987.
- FARIA, D. R.; GRADELA, A. Hormonioterapia aplicada à ginecologia equina. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.34, n.2, p.114-122, 2010.

FLEURY, P.D.C.; ALONSO, M.A.; SOUSA, F.A.C.; ANDRADE, A.F.C.; ARRUDA, R.P. Uso da gonadotrofina coriônica humana (hCG) visando melhorar as características reprodutivas e fertilidade de receptoras de embriões eqüinos. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.31, v.27-31, 2007.

FLEURY J. J.; ALVARENGA, M. A.; COSTA NETO, J. B. F.; PAPA, F. O. Transferência de embriões em equinos. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v. 39, p. 485-487, 1987.

GOMES, J. L. **Avaliação de receptoras para transferência de embrião em equinos**. Monografia de Trabalho Conclusão de Curso Medicina Veterinária. 2013.

GURGEL, J. R. C.; VIANA, C. H. C.; PEREZ, E. G. A.; NICHI, M. Dinâmica folicular em éguas: aspectos intrafoliculares. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.32, n.2, p.122-132, 2008.

GRECO, G. M.; **Avaliação de novos protocolos visando induzir e sincronizar a ovulação em éguas**. Dissertação de mestrado apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista. p.13. 2010.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7^{ed}, Editora Manole Ltda, Barueri-SP, p. 3-54, 2004.

HENNEKE, D. R.; POTTER, G. D.; KREIDER, J. L. E.; YEATES, B. F. Relação entre pontuação de condição, medições físicas e Porcentagem de gordura corporal em éguas. **Equine Veterinary Journal**, v.15, p.371-372, 1983.

HUGHES, J.P.; STABENFELDT, G.H.; EVANS, J.W. The oestrus cycle in the mare and its uterine control. **Australian Veterinary Journal**, v.53, p.415-419, 1977.

HURTGEN, J.P. **Management of embryo donor mares with chronic infertility**. Proceedings 54th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, San Diego, California. p.414-417, 2008.

KINO, S.; OSAWA, T.; MIZUNO, S.; WATANABE, G.; TAYA, K.; IZAIKE, Y. Effect of postbreeding intramuscular administration of delorelin acetate on plasma LH and progesterone concentrations and conception rate in mares. **Journal Equine Science**, v.25, n.1, p. 23-27, 2014.

KUMAR, D.; JHAMB, D.; KUMAR, N.; BADIAL, D. Foals Born through fresh embryo transfer in Índia. **Proceedings of the 10th International Congress of World Equine Veterinary Association**. p. 1-3, 2008. Disponível em: <<http://www.ivis.org>>. Acessado: 23/03/17.

LeBLANC, M. M.; CAUSEY, R. C. Clinical and Subclinical Endometritis in the Mare: Both threats to Fertility. **Reproduction of Domestic Animals**, v.44, p.10-22, 2009.

LEY, W.B. **Reprodução em Éguas para Veterinários de Eqüinos**, 1^a ed., São Paulo: Roca, p. 240, 2006.

LIMA, R.A.S.; SHIROTA, R.; BARROS, G.S.C. (Ed). *Estudo do complexo do agronegócio cavalo*. Piracicaba: **CEPEA/ESALQ/USP**. p. 251, 2006.

LIRA, R. A.; PEIXOTO, G. C. X.; SILVA, A. R. Transferência de embrião em equinos: Revisão. **Acta Veterinária Brasileira**, v.3, n.4, p.132-140, 2009.

LOSINNO L. E ALVARENGA, M. A. Fatores críticos em programas de transferência de embriões em equinos no Brasil e Argentina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, p.39-49, 2006.

McCUE, P. M.; MAGEE, C.; GEE, E. K. Comparison of compounded delorelin and hCG for induction of ovulation in mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.27, n.2, p.58-61, 2007.

MEYERS-BROWN, G. A.; McCUE, P. M.; NISWENDER, K. D.; SQUIRES, E. L.; DeLUCA, C. A.; BIDSTRUP, L. A.; COLGIN, M.; FAMULA, T. R.; ROSER, J. F. Superovulation in mares using recombinant equine follicle stimulating hormone: Ovulation rates, embryo retrieval, and hormone profiles. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 30, n. 10, p. 560 -568, 2010.

McKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L. Equine embryo transfer. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.4, n.2, p.305-333, 1988.

MONTECHIESI, D. F. Transferência de embriões em equinos e os fatores relacionados as taxas de prenhez. **Ciência Animal**, v.25, n.1, p.187-194, 2015.

MORRIS, L.H.; ALLEN, W.R. Reproductive efficiency of intensively managed thoroughbred mares in Newmarket. **Equine Veterinary Journal**, v.34, p.51-60, 2002.

NISWENDER, K. D.; ALVARENGA, M. A.; McCUE, P. M.; HARDY, Q. P.; SQUIRES, E. L. Superovulation in cycling mares using equine follicle stimulating hormone (eFSH). **Journal of Equine Veterinary Science**, v.23, n.11, p.497-500, 2003.

OGURI, N.; TSUTSUMI, Y. Recuperação não-cirúrgica de ovos eqüinos e uma tentativa de transferência de ovos não cirúrgicos em cavalos. **Journal. Reproduction and Fertility**, v. 31 p.187-195, 1980.

PATRICK, M. Hormone therapy in clinical equine practice. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.32, n.3, p.425-434, 2016.

PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. Ultrasonic evaluation of the pre-ovulatory follicle in the mare. **Theriogenology**, v. 24, p. 359–368, 1985.

PINTO, C. R.; BURNS, B. J.; WHISNANT, S. Effects of singles estradiol administration on follicular dynamics and luteal function of cyclic mares. In: International Symposium on Equine Embryo Transfer, 6, 2004, Rio Janeiro. **Proceedings**, Rio de Janeiro, p. 92-94, 2004.

REWAY, A. P. **Desenvolvimento de protocolo de sincronização da onda folicular e determinação do momento ideal para indução da ovulação na espécie equina.** Dissertação mestrado – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia , Pirassununga, 2017.

RICKETTS, S.W.; ALONSO, S. The effect of age and parity on the development of equine chronic endometrial disease. **Equine Veterinary Journal**, v.23, p.189-192, 1991.

RIERA, F.L.; McDONOUGH, J. Commercial embryo transfer in polo ponies in Argentina. **Equine Veterinary Journal**. v.15, p.116-1118, 1993.

ROBINSON, N.E. **Current therapy in equine medicine** 5. Philadelphia: Saunders, 2003. chap. 5.8, p. 242-245.

RODRIGUES, T. G.; CAIADO, J. R. C.; FAGUNDES, B.; SILVA, J. F. S. Uso de progesterona de longa ação e inovulação de éguas no segundo dia após a ovulação. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 3, n.1, p. 1-26, 2012.

ROSA, L. C.; DIAS, E. C. S.; ROSARIO, C. J. R. M.; MELO, R. S.; MELO, R. S.; PEREIRA, F. L. C.; CHAVES, R. M. Intervalo entre sincronização e ovulação das éguas do grupamento genético baixadeiro submetido a diferentes protocolos utilizando PGF_{2α}. **IV Semana Acadêmica das Ciências Agrárias**. p.1-3, 2015.

SAMPER, J. C.; PYCOCK, J. F.; McKINNON, A. O. Current therapy in Equine Reproduction. **Canadian Veterinary Journal**, v.48, n.5, p.486, 2007.

SAMPER, J.C. Ultrasonographic appearance and the use of uterine edema to time ovulation in mares. In: Proceedings of the 43rd Ann. **Conversion American Association Equine Practique**, p. 41–43, 1997.

SANTOS, R. M; VASCONCELOS, J. L. M. **Acelerando a redução de progesterona após luteólise induzida aumenta a fertilidade de vacas leiteiras tratadas com Ovsynch.** 2011. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/reproducao/acelerando-a-red.aspx>>. Acesso em: 18/04/2017.

SCHUTZER, C.G.C.; RESENDE, H.L.; PANTOJA, J.C.F.; ALVARENGA, M.A. Utilização de diferentes periodos de fotoestimulação em éguas acíclicas para o controle da sazonalidade reprodutiva. **Veterinária e Zootecnia**, v.21, n.1, p.148-153, 2014.

SQUIRES, E. L.; BRADECAMP, E. E.; BALL, B. A.; HOWARD, C.; TROEDSSON, M. H.; RIDDLE, W. T. Relationship between ultrasonographic findings at the time of breeding and pregnancy outcome. **AAEP Proceedings**, v. 60, p.1-3, 2014.

SILVA, J. F. S.; SÁNCHEZ, R. J. R.; VIANNA, S. A. B.; SOUZA, G. V.; ELIGIO, C. T.; RIBAS, J. A. S.; COSTA, D. S. Avaliação da dinâmica útero-ovárica da égua sob o efeito de um implante subcutâneo de microcápsulas de poli-hidroxibutirato contendo progesterona. **Revista Portuguesa Ciencia Veterinária**, v.101, p.559-560, 2006.

VANDERWALL, D. K.; WOODS, G. L. **Embryo transfer and newer assisted reproductive techniques for horses**. In: YOUNGQUIST, R. S.; THREFFALL, W. R. (Eds) Current Therapy in large animal Theriogenology. p.211-219, 2007.

WELCH, S. A.; DENNISTON, D. J.; HUDSON, J. J.; BRUEMMER, J. E.; McCUE, P. M.; SQUIRES, E. L. Exogenous eFSH, follicle coasting, and hCG as a novel superovulation regimen in mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 26, n.6, p.262-270, 2006.

WILLIAMS, G. L.; AMSTALDEN, M. BLODGETT, G. P.; WARD, J. E. UNNERSTALL, D. A.; QUIRK, K. S. Continuous administration of low-dose GnRH in mares I. Control of persistent anovulation during the ovulatory season. **Theriogenology**, v.68, n.1, p. 67-75, 2007.

ZERLOTTI, M. Como selecionar e preparar éguas receptoras para a transferência de embriões. In: **CONFERÊNCIA ANUAL DA ABRAVEQ**, 13., 2012, Campinas. Anais da Revista Brasileira de Medicina Veterinária Equina, Campinas, v. 41, p. 68- 71, 2012.

USO DA FOLHA DE GRAVIOLA (*Annona muricata*) NO CONTROLE DO *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Acadêmicos: Daniele de Souza Campos e Priscila Teixeira Ribeiro
Orientador: Rogério Oliva Carvalho

RESUMO

O *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, conhecido como carrapato bovino é um dos grandes responsáveis por prejuízos na pecuária mundial. Atualmente um dos grandes problemas no controle e combate deste carrapato está relacionado à resistência deste ectoparasita à diferentes classes de acaricidas. Vem se buscando novas alternativas de combate e controle, principalmente com extratos botânicos. O presente trabalho tem como objetivo determinar a eficiência da folha da graviola (*Annona muricata* L.) no controle do *R. (B.) microplus*. Foram realizados testes in vitro com extrato alcoólico da folha da graviola em três grupos. Grupo A 2%, grupo B 4% e grupo C, controle (não recebeu tratamento) nas fêmeas ingurgitadas do carrapato. Foram avaliados os parâmetros de produção de ovos, peso dos ovos, percentual de eclosão e eficiência dos tratamentos. O tratamento com *Annona muricata* L. reduziu a postura das teleógenas comparando-se ao grupo controle. Os grupos de tratamento foram capazes de reduzir a postura dos ovos e a eclodibilidade apresentando eficácias de 56,99 e 76,85% para as concentrações de 2 e 4%. A graviola é uma alternativa promissora no controle dos carrapatos bovinos.

Palavras - chave: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*; carrapato; bovino; *Annona muricata*.

1- INTRODUÇÃO

O *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é um dos grandes responsáveis pela desvalorização do bovino gerando prejuízos que podem ser classificados de duas maneiras. A primeira são danos diretos, provocando anemia, prurido e conseqüentemente perda de peso e produtividade. Pode-se observar também uma predisposição e facilidade de instalação de miíases, o que leva processo inflamatório e conseqüentemente a uma desvalorização do couro (FERRETTO, 2013).

Outro grupo são causados pela ação indireta, levando a quadros de tristeza parasitária, *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* são hemoprotózoários que podem ser transmitidos através da picada do *R. microplus*. Essas doenças podem se desenvolver com altos índices de mortalidade e morbidade nos rebanhos bovinos infectados. E mais uma vez gerando prejuízos, tanto com gastos com pesticidas de variadas classes, equipamentos para a aplicação desses

carrapaticidas, assim como investimento de instalações e mão de obra (ANDREOTTI, 2010).

Atualmente a procura por acaricidas botânicos tem tido grande demanda, uma vez que os produtos comerciais têm mostrado grande resistência em decorrência do mal-uso. São produtos que não prejudicam o meio ambiente, não são residuais para os consumidores de modo geral. (FERRETTO, 2013).

Entre os pesticidas fitoquímicos mais eficientes estão os pertencentes à família Meliaceae. Essa planta é originada da Índia, adaptando-se com facilidade no Brasil e mostrou eficiência no controle de pragas tanto agrícolas, quanto na pecuária brasileira. A extração deu-se dos frutos maduros e os extratos mostraram dados que comprovaram sua capacidade de redução das larvas. Os resultados foram capazes de demonstrar eficiência na redução da postura dos ovos das fêmeas ingurgitadas do *R. microplus*, não matando carrapatos adultos, porém reduzindo de forma significativa a postura dos ovos (FERRETTO, 2013).

Este trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência de extratos alcoólico da folha da graviola (*Annona muricata*) no controle do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

2-FUNDAMENTAÇÃO TEORICA

2.1- CARACTERISTICAS DO CARRAPATO

O ectoparasita *R. microplus* é um carrapato, cujo principal hospedeiro é o bovino. Está distribuído por todo o rebanho bovino da América, África, Ásia e Oceania, o seu desenvolvimento é muito favorecido pelas condições climáticas, do Brasil. A frequência dele esta relacionada com o tipo de clima e a raça do animal (COELHO, 2015).

Os carrapatos assim como os ácaros fazem parte do grande filo dos artrópodes. Eles apresentam algumas semelhanças como o exoesqueleto rígido, serem invertebrados e possuírem vários apêndices articulados. Algumas espécies desses ectoparasitas causam muita adversidade dentre elas, o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, conhecido popularmente como carrapato dos bovinos (GONÇALVES, 2016).

Nos carrapatos adultos observa-se gnatosoma curto e reto, as patas variam na cor creme a pálida. Apresentam escudo com ausência de manchas e pontos, este tem forma oval e mais ampla na parte anterior. Uma das características é a presença de 4 a

5 fileiras de dentes em cada lado, do hipostômio, sendo comumente mais longo que os palpos. O corpo pode se apresentar de oval a retangular. O sulco anal dos machos é pouco notável, já nas fêmeas é vestigial. A coxa I é bífida com espiráculos que variam de circular a oval. Já as ninfas observam-se escudo laranja ao tom castanho, com corpo oval e mais largo na parte frontal, o corpo pode variar do laranja ao azul acinzentado, na parte frontal e lateral observa o tom esbranquiçado (CRUZ, 2013).

2.2- CICLO DO CARRAPATO

O *R. microplus*, é um hematófago, portanto precisa de um hospedeiro para fazer o repasto sanguíneo e por ser monóxeno, possui duas fases: fase parasitária e fase não parasitária. Seu principal hospedeiro são os bovinos porém cavalos, ovelhas, veados, cães e cabras podem ser parasitados. (ANDREOTTI *et al*, 2016)

A fase parasitária pode ser sumariamente delimitada como tendo início com a fixação das larvas em hospedeiros suscetíveis e término quando os adultos, incluídas as fêmeas fecundadas e ingurgitadas, caem desse hospedeiro. A fase não parasitária, em síntese, começa com a fêmea fecundada e ingurgitada, depois que ela se desprende do hospedeiro, caindo no chão para realizar a ovoposição e termina em uma de quatro alternativas: 1- quando as larvas oriundas de ovos dessa fêmea ganham acesso a hospedeiro suscetível; 2- quando a fêmea morre sem realizar ovoposição; 3- ou produzem ovos inférteis; 4 – ou suas larvas morrem sem alcançar hospedeiro adequado. Assim, o início e o término do ciclo dão-se quase sempre no pasto onde geralmente se integram o parasito, o hospedeiro e o ambiente comum a ambos. Em um determinado instante, considera-se que apenas 5% da população de carrapatos esteja em parasitose, no caso, sobre os bovinos. Os outros 95% estariam no ambiente, na fase não parasitária, tanto na forma de larvas infestante e de ovos (maioria), como na forma de fêmea em períodos de pré postura e de postura. (PEREIRA *et al* 2008)

2.3- PATOGENIA

A tristeza parasitária bovina também conhecida como TPB é um complexo de patologias causadas por duas doenças. Essas doenças são conhecidas como babesiose, sendo causada pelos hemoprotozoários *Babesia bovis*, *B. bigemina* e a anaplasmose. Causada pelo *Anaplasma marginale*. Essas patogenias tem uma característica comum, são transmitidas pelo *R. microplus*.

Embora a transmissão da Anaplasma possa ocorrer por outras vias. Esse complexo de doenças é dependente da presença do *R. microplus* porém deve-se ressaltar que o mesmo precisa de fatores ambientais para conseguir terminar o ciclo biológico. (COSTA, 2013).

Geram perdas econômicas na bovinocultura de corte e/ou leite, elevando os índices de morbidade e mortalidade, gerando déficits na produção. Sendo ainda observados problemas reprodutivos em animais acometidos por esta doença, tais como aborto e redução na fertilidade. É importante ressaltar que além de prejuízos relacionados à produção e reprodução, faz-se necessários gastos ainda maiores com tratamento e manejo dos animais doentes (COSTA, 2013).

A manifestação da doença ocorre após a infecção pela *Babesia* spp., *A. marginale* nas células do sangue. Alguns sinais clínicos podem ser observados dentre eles febre, anemia, icterícia (sendo esta mais comum e intensa em casos de anaplasmoze), hemoglobinúria, parada ou redução no ato de ruminância, sinais nervosos (comuns em casos de babesiose). Outros sinais clínicos são observados como anorexia, prostração associados ao estresse que o parasitismo causa, levando o animal a uma grande queda de produção (COSTA, 2013); (OLDENBURG, 2015).

2.4- CONTROLE

No sistema de produção de bovinos tanto de corte quanto de leite, a busca por melhor produtividade se baseia na saúde do animal, nutrição e melhoramento genético. Os cruzamentos entre raças diferentes são amplamente usados, visando melhor adaptação dos animais às variações climáticas e maior resistência nos parasitas. (ANDREOTTI *et al*, 2002)

Animais de pelagens mais escuras, buscam locais com pouca radiação solar, sendo um fator que favorece a proliferação do carrapato, influenciando diretamente na infestação dos animais (ANDREOTTI *et al*, 2002)

O controle do *R. microplus* é complexo, dependendo de vários fatores como clima, raça dos animais, estação do ano, condições onde os animais são expostos diariamente e manejo (FERRETTO, 2013).

Comumente são empregados variados tipos de carrapaticidas de variadas classes como organofosforados, lactonas macrocíclicas, formamidas e muitas outras.

Porém devido a prática e ausência técnica na aplicação desses carrapaticidas, realizados principalmente pelos próprios produtores rurais sem conhecimento, tem-se um quadro de baixa eficiência e vida útil desses carrapaticidas, suscitando resistência desse ectoparasita. Para se evitar esse tipo de situação é necessária a conscientização dos produtores, sobre a forma adequada de utilização desses acaricidas. Para desta forma evitar resistência e ampliar o tempo de ação e vida útil desses produtos. (FERRETTO, 2013).

Do uso indiscriminado e intenso de pesticidas pode-se observar algumas alterações nos artrópodes. Uma das principais modificações na redução da capacidade de penetração das moléculas dessas substâncias que deveriam ser absorvidas pelas cutículas dos parasitas. Um aumento das expressões das enzimas detoxificantes. Outras particularidades também são notadas como a ausência de sensibilidade dos receptores no sistema nervoso. A base química piretroides está presentes em pelo menos 25% dos inseticidas usados no Brasil. Devido ao seu uso inadequado e em larga escala é responsável pela resistência não apenas do *R. microplus* mais sim de vários tipos de artrópodes como a mosca doméstica, baratas, carrapatos, mosca de chifre e mosca-das-frutas. Para se combater essas mutações estão sendo usadas associações de acaricidas como cipermetrina e organofosforados, clorpirifós e diazinon. (OLIVEIRA, 2015).

2.5- O USO DE PLANTAS NO COMBATE DO CARRAPATO BOVINO

Há uma grande diversidade de plantas cultivadas e naturais da flora brasileira que são testadas para controle e combate ao *R. microplus*, em programas para redução do uso de acaricidas e carrapaticidas químicos convencionais. Algumas espécies como *Melinis multiflora*, vulgarmente conhecidas como capim gordura, capim colônia têm se mostrado eficientes no combate ao carrapato bovino. Tendo potencial em matar as larvas do carrapato ou diminuir a sobrevivência das larvas nas pastagens (ALVES, 2012).

Estudos recentes comprovaram que extratos alcoólicos da semente da graviola (*Annoma muricata*) mostraram resultados melhores na redução da eclosão das larvas do carrapato de boi, quando comparado a outras plantas como jambo e capim santo. Para ser considerado eficiente no controle do parasita é necessária uma taxa de 95%

de eficiência para que seja comercializado. O extrato da semente de graviola (*Annoma muricata*) mostrou 100% de eficácia (ALVES, 2012).

2.6 GRAVIOLA (*Annona Muricata*)

A graviola é pertencente a um grande grupo de plantas frutíferas do reino vegetal, possui uma divisão angiosperma da classe dicotiledônea, a ordem em que ela se encontra é magnoliales, família Annonaceae, subfamília *Annonoideae*, gênero *Annona* e espécie *Annona muricata*. A Graviola é uma árvore regular que pode atingir até 10 metros de altura. Sua casca é aromática, folhas alternas e pecioladas, flores axilares, solitárias, sub-globosas e amareladas ou cor de creme (SANTOS,2010).

A planta, *Annona muricata*, é originária da América Central e Vales Peruanos, e desses foi distribuída, para todas as regiões tropicais do mundo. Tem copa pequena, ramificação assimétrica e folhagem compacta. As folhas são inteiras, ovadas, oblongas ou elípticas, coriáceas, duras, de pecíolos curtos, de cor verde-escura-brilhante na página superior e verde-amarelada na página inferior, medindo de 5 a 18 cm de comprimento por 2 a 7 cm de largura, quando adultas (SANTOS,2010)

A *Annona Muricata* tem grande história na fitoterapia, usada para diversos fins como abscessos, analgésicos, antiparasitários, asma, hipertensão entre outros. (MILENO, 2005)

Nos últimos anos essa planta tem sido muito estudada devido ao isolamento e caracterização de diversas classes de substâncias com atividades químicas e farmacológicas principalmente no que diz respeito às acetogeninas. Elas são derivadas de ácidos graxos e apresentam um número variável de anéis tetraidrofurânicos (THF) ou tetraidropirânicos (THP) ao longo da cadeia Hidrocarbônica (SANTOS, 2010).

Essas substâncias naturais bioativas apresentam importantes atividades biológicas tais como: citotóxica, antitumoral, pesticida, vermícida, antimicrobiana, imunossupressora, antiemética, inibidora do apetite e antimalárica. Todas as partes da gravioleira são usadas em medicamento natural nos trópicos, inclusive a casca, folhas, raízes, fruto e sementes. São atribuídos propriedades diferentes e usos às partes diferentes da árvore (SANTOS, 2010).

Geralmente em humanos, a fruta e o seu suco são utilizados para problemas de verminoses e parasitas, baixar febre, aumentar a produção de leite materno após o

parto (período de lactação), e como um adstringente para disenteria. As sementes esmagadas são usadas como um vermífugo e contra parasitas internos e externos (SANTOS, 2010).

3. METODOLOGIA

O bioensaio foi conduzido no Laboratório de Parasitologia do Hospital Escola da faculdade Vértice –Univértix. Após a coleta das folhas de graviola (*A. muricata*), foi realizada a secagem em estufa a 40-45°C, durante 48 horas, em seguida, foram trituradas para obtenção de pó fino, o qual foi imerso em álcool etílico hidratado (70 INPM), na proporção de 1 parte de pó para 10 partes do solvente, durante 48 horas. Após esse período, foi feita a filtração e a evaporação do solvente em banho-maria na temperatura de 50°-55°C até eliminação total do solvente.

Para preparação das soluções 2g e 4g do extrato concentrado da folha de graviola foram diluídos em 100 ml de água destilada estéril, resultando em concentrações finais de 2 (20mg/ml) a 4% (40mg/ml).

As fêmeas ingurgitadas (cheias de sangue) do *R. (B.) microplus* foram coletadas de animais isentos de carrapaticida químico de contato por pelo menos 90 dias. Teve-se o cuidado de separar fêmeas maiores que 5mm em diâmetro. As fêmeas ingurgitadas coletadas foram acondicionadas em placas de Petri e levadas ao laboratório em caixa térmica contendo gelo, para evitar ovoposição prematura e reduzir a mobilidade do parasito dentro das placas. Posteriormente, foram pesadas em balança analítica, com precisão de 0,001g.

O delineamento experimental foi produzido com dois tratamentos e três repetições, considerando-se dez fêmeas ingurgitadas por repetição. O grupo controle foi representado por fêmeas isentas de quais quer tratamentos (imersas em água). Os tratamentos foram compostos pelas diluições dos extratos de graviola a 2 e 4%, formando assim soluções de 100ml. Foram utilizadas 90 teleóginas divididas em 3 placas com 10 fêmeas para tratamento, as teleóginas foram pesadas e imersas durante 5 minutos para cada solução, secas em papel toalha e depositadas em placas de petri que foram incubados a 28°C e umidade acima de 80%.

Após 16 dias todos os ovos foram removidos das placas, pesados e 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).

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

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

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

A constante 20.000 corresponde ao número estimado de ovos encontrados em um grama de ovos postos pelo carrapato *R. (B.) microplus*. Para cada parâmetro estudado, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias (teste de Tukey) em nível de 1 e 5% de probabilidade (AYRES *et al.*, 2003).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na comparação do peso dos ovos postos pelas teleóginas de *R. microplus* dos grupos de tratamento e controle observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre a média de ovos do grupo tratado com extrato de graviola a 4% e o controle (FIGURA 1), indicando atividade do extrato na inibição de postura das teleóginas de *R. microplus*.

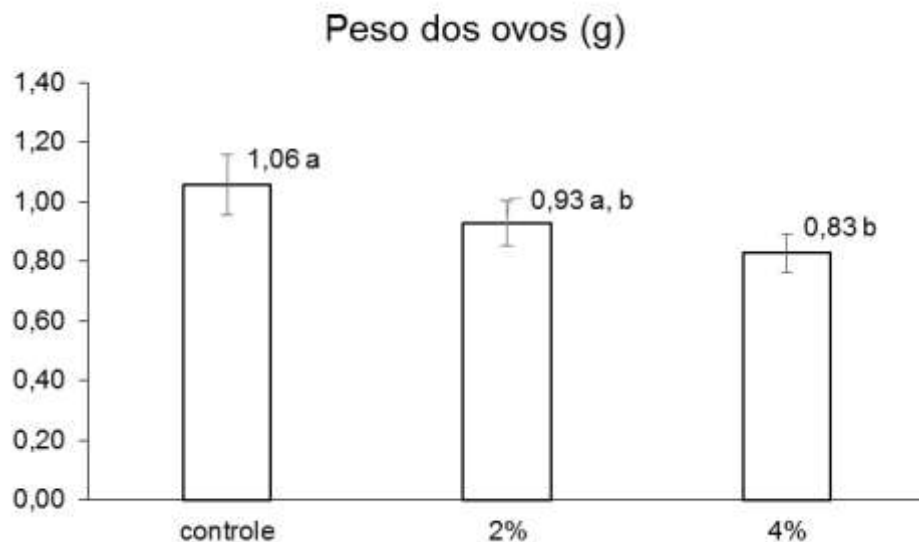


FIGURA 1- Média e desvio padrão do peso dos ovos (g) de *R. microplus* do grupo controle (sem tratamento) e dos grupos tratados com extrato alcoólico das folhas de graviola (*A. muricata*) a 2 e 4%. Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente ($p > 0,05$) – Teste de Tukey

Para um produto químico ser considerado de alta eficácia ele precisa eliminar mais que 95% dos carrapatos, de média eficácia entre 90-95% e de baixa eficácia menos de 90% (BRASIL, 1990). Apesar do extrato 2 ter tido baixa eficácia nas concentrações utilizadas (TABELA 1), o extrato a 4% se mostrou promissor no controle de carrapatos sendo necessário testar outras concentrações a fim de determinar a menor dose eficaz.

TABELA 1. Média do peso das teleóginas (PT) do *R. microplus*, peso de ovos postos pelas teleóginas, após 16 dias de incubação (PO) e índice de produção de ovos (IPO), percentual de eclosão, índice de eficiência reprodutiva (IER) e percentual de controle do grupo controle e grupos tratados com extrato alcoólico das folhas de graviola (*A. muricata*) a 2 e 4%.

	PT (g)	PO (g)	IPO (%)	% Eclosão	IER	% controle
Controle	1,71	1,06	61,92	85,50	352.949,97	—
2%	1,71	0,93	54,21	42,00	151.786,22	56,99
4%	1,72	0,83	48,06	25,50	81.705,43	76,85

Este é o primeiro trabalho realizado com utilização de folha de graviola (*A. muricata*) no controle de carrapato de bovinos. Porém em um estudo realizado com semente de graviola a 1% e 2% sobre teleóginas de *R. (B.) microplus*, Mariano e Dias (2015) verificaram a eficiência do extrato na redução de ovos postos pela fêmea o que foi constatado no presente trabalho.

Em um estudo com solução alcoólica de semente de graviola a 2% sobre teleógenas de *R. (B.) microplus*, Broglio-Micheletti *et al*, (2009) obtiveram 100% de eficácia no controle dos carrapatos. Utilizando folha de graviola obtivemos uma eficácia menor na mesma concentração (56,99%). Todavia a obtenção das sementes não é possível durante todo o ano, ao contrário das folhas. Havendo assim a necessidade de testar novas concentrações uma vez que a maior concentração testada (4%) apresentou uma baixa eficácia (76,85%), porém com o aumento da concentração houve melhora na eficácia.

Em um estudo realizado com outros artrópodes, testando a folha e a semente de *Annona* na concentração de 1%, foi observado que a semente possui uma toxicidade maior que a folha sobre os insetos (75%), enquanto a folha atingiu apenas 40%. Isso se deve a concentração do princípio ativo estar em maior quantidade presente nas folhas. Sendo assim é necessário aumentar a concentrações da folha para que alcance um resultado mais satisfatório (KRINSKI *et al*, 2014).

Em relação a ovoposição Broglio-Micheletti *et al*, (2009), constataram que com a utilização do extrato da semente de graviola houve redução no número de postura, resultado que obtivemos utilizando folha de graviola (0,83%). Broglio também avaliou a taxa de eclosão larval (0,0%). Neste presente trabalho notamos que a houve diminuição na taxa de eclosão, sendo que 25,50% dos ovos eclodiram nos tratados a 4% e 42% nos tratados na concentração de 2%.

Santos (2010) avaliando soluções de folha de graviola em diferentes concentrações (500, 1000, 1500, 2000mg/l) sobre os ovos de teleóginas do carrapato bovino, notou que a solução exerceu influência na eclosão dos mesmos, apresentando um índice de eclosão dos ovos menor que o extrato da semente, tendo capacidade de matar fêmeas e reduzir a taxa de fertilidade dos ovos. Percebemos então que a folha tem uma eficiência maior em relação a taxa de eclosão, no presente trabalho foi de 25,5% em uma concentração de 4%.

Outros trabalhos também comprovaram o efeito da *Annona* sobre diversos insetos como percevejo (BANDEIRA *et al*, 2012; & LLANOS, 2008) e contra insetos-pragas conhecida como falsa medideira (*Chirysodeixis includens*), (MASSAROLI, *et al*, 2013). Também tiveram estudos com extratos de folha e semente contra *Leishmania* (LIMA, 2012). Morrales *et al* em (2004) fez um estudo utilizando a planta no controle do

Aedes aegypt e *Anopheles albimanus*. A graviola também apresentou atividade antimicrobiana (SIMINSKI, 2015).

5- CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato alcoólico da folha de graviola a 4% apresentou um bom resultado, podendo ser uma alternativa promissora no controle do carrapato bovino, mas ainda à necessidade de novos estudos testando novas concentrações para conseguir atingir índices melhores utilizando menores concentrações.

6- REFERÊNCIAS

ALVES, V, W. Utilização de acaridas a base de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: uma contribuição para a produção e desenvolvimento sustentável. **Revista Brasileira de agropecuária sustentável (RBAS)**. V. 2, Nº. 2, p. 14- 25, Dez, 2012.

ANDREOTTI, R.; GOMES, A.; MALAVAZI-PIZA,C.K.; TANAKA,S.A. Controle do carrapato por meio de vacina – situação atual e perspectivas. **EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA**, Campo Grande, MS, 2002.

ANDREOTTI, R. et al. Proposta de controle de carrapatos para o Brasil central em sistemas de produção de bovinos associados ao manejo nutricional no campo. **EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA**, Brasília, DF, 2016.

ANDREOTTI, R. Situação atual de resistência do carrapato-do-boi *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* aos acaridas no Brasil. **Emprapa Brasileira de pesquisa agropecuária**. Campo Grande. Dezembro, 2010.

BANDEIRA, W. T.; SILVA, V. P.; PEREIRA, M. J. B.; DALLOGLIO, E.L.; SOUZA, P. T. Atividade inseticida de *Annona mucosa* sobre ovos do percevejo *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). In: **XXIV congresso Brasileiro de Entologia**, 2012, Curitiba. Anais do XXIV congresso Brasileiro de Entomologia. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria n. 90, de 04 dez. **Normas para produção, controle e utilização de produtos antiparasitários**. Diário Oficial, 22 jan, s.1, col.2, 1990.

BROGLIO-MICHELETTI, S. M. F.; VALENTE, E. C. N; SOUZA, L. A; DIAS, N. S; ARAUJO, A. M. N. Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus)*

microplus (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. Alagoas, **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.18, n.4, p.44-48, 2009.

COELHO, C, N. Associação de abamectina com flurazuron no controle do carrapato *Rhipicephalus microplus* em bovinos naturalmente infestados. **Revista Brasileira de medicina veterinária**.

COSTA, M. de M. V. Estudo epidemiológico da tristeza parasitária bovina no estado da paraíba **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.3, p.239-243, 2013.

COSTA, F.B.; VASCONCELOS, P.S. DA S.; SILVA, A.M.M.; BRANDÃO, V.M.; SILVA, I.A. DA; TEIXEIRA, W.C.; GUERRA, R.M.S.N.; DOS SANTOS, A.C.G. Eficácia de fitoterápicos em fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*, provenientes da mesorregião oeste do Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.17, n.1, p.83-86, 2008.

CRUZ, CAYEIRO, BRENO. **Ocorrência de resistência de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae): À ivermectina administrada em bovinos de São Paulo e Minas Gerais, Brasil**. Jaboticabal, 2013.

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.

FERRETO. **Revisão de literatura sobre: *Rhipicephalus microplus***. Porto Alegre, 2013. 46p. Monografia/Graduação. Ciência Agrárias, medicina veterinária- Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

GONÇALVES, V. M. Potencial de plantas acaricidas no controle de carrapatos *Rhipicephalus (boophilus) microplus*. **Revista ciência veterinária e saúde pública**, 2016.

KRINSKI, D & MASSAROLI, A. Nymphicidal effect of vegetal extracts of *Annona mucosa* and *annonna crassiflora* (Magnoliales, Annonaceae) Against rice stalk stink bug, *tibraca limbativentris* (hemiptera, pentatomidae).

KRINSKY, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **V congresso internacional & encontro Brasileiro sobre Annonaceae: do gene à exportação**. v.36, edição especial, p. 225-242, Botucatu – SP, 2014.

LIMA, J. P. S.; PINHEIRO, M. L. B.; SANTOS, A. M.G.; PEREIRA, J. L. S.; SANTOS, D. M.F.; BARISON, A.; SILVA, J. I.; COSTA, E. V. In vitro atileishmanial and cytotoxic activities of *Annona mucosa* (Annonacea). **Revista virtual de química**. v.4, n.6. p. 692-702, 2012.

LLANOS, H. A. C.; ARANGO, L. D.; GIRALDO, C.M. Actividade insecticida de extractos de semente de *Annona muricata* (Annonaceae) sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Revista colombiana de entomologia**. n.34, p.76-82, 2008

MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **V congresso internacional & encontro Brasileiro sobre Annonaceae: do gene à exportação**. v. 36, edição especial, p.217-224, Jaboticabal-SP, 2014.

MASSAROLI, A.; PEREIRA, B. J. M.; FOERSTER, A. L. *Annona mucosa* como fitoinseticida para o controle de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae). **13º simpósio de controle biológico**. Bonito, MS, 2013.

MICHELETTI, B. F. M. S.; VALENTE, N. C. E.; SOUZA, A. L.; DIAS, S. N. ARAÚJO, N. M. A. 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, JABOTICABAL- SP, 2009.

MORALES, A. C.; GONZÁLEZ, R.; ARAGÓN, R. Evaluación de la actividad larvicida de extractos polares y no polares de acetogéninas de *Annona muricata* sobre larvas de *Aedes aegypti* y anófeles albimanus (Diptera: Culicidae). **Revista colombiana de entomologia**. v. 30 p. 187-192, 2004.

OLDENBURG, S, T. Avaliação da atividade in vitro da ateleia glazioviana contra o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista unijui**, 2015.

OLIVEIRA, M. C. S. Resistência aos pesticidas piretroides em populações de *Rhipicephalus microplus* e aos piretroides e organofosforados em *Haematobia irritans* colhida em rebanhos de corte no estado de São Paulo. **Embrapa pecuária sudeste**. São Carlos, 2015

PEREIRA, C.M. ***Rhipicephalus (Boophilus) microplus*** : Biologia controle e resistência. 1ª edição. São Paulo: MedVet livros,2008.

RAMOS, V. H. *Graviola. Produção: Aspectos Técnicos*. **Embrapa Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Brasília, 2001.

SANTOS, D. S. **Eficiência de *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK. E do extrato hexânico de *Annona muricata* L. (Annonaceae) no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CANESTRINI, 1887) (ACARI: IXODIDAE) *in vivo***. Rio Largo, 2010. 40p. Dissertação (Graduação). Engenheiro Agrônomo. Universidade Federal de Alagoas – UFAL.

SIMINSKI, T.; SOUZA, S. J. ARAUJO, L. F.C.; AÑEZ, S. B. R.; NUNES, A. R. Avaliação da atividade antimicrobiana das espécies *Aspidosperma nitidum*, *Annona crassiflora* e *Annona mucosa* frente a cepas ATCC. **Enciclopédia biosfera, centro científico conhecer**. v.11, n.22, p. 2882, Goiânia, GO,2015.

USO DO DINITRATO DE ISOSSORBIDA COMO ADJUVANTE AO TRATAMENTO CIRÚRGICO DAS FÍSTULAS RETOVAGINAIS EM ÉGUAS – RELATO DE TRÊS CASOS

Acadêmicos: Luíza Pimentel Caldas Carvalho e Gregory Rocha Almeida

Orientador: Bruno Santos Cândido de Andrade

RESUMO

A fístula reto vaginal ocorre em decorrência de um evento traumático bastante comum em partos distócicos em éguas, levando à laceração do corpo perineal em diferentes graus e, por sua vez, comunicação entre o reto e o vestíbulo da vagina. Essa afecção causa grande prejuízo para os criadores de equinos, pois leva ao comprometimento da vida reprodutiva das éguas. Isso ocorre principalmente quando a égua inicia sua vida reprodutiva muito jovem ou em cruzamentos indevidos com garanhões de maior porte. A fístula reto vaginal deve ser tratada cirurgicamente, com bastante cautela visando a reconstrução anatômica e total cicatrização da vagina, corpo perineal e do reto, permitindo que o animal possa vir a ter uma vida reprodutiva normal. O objetivo deste trabalho é relatar a utilização do dinitrato de isossorbida no pós-operatório de vulvoplastias em três éguas como adjuvante ao tratamento cirúrgico das fístulas retovaginais e seu efeito na melhoria do processo cicatricial das feridas cirúrgicas. O tratamento tópico utilizando o dinitrato de isossorbida mostrou resultados satisfatórios, com melhoria da cicatrização da fístula reto vaginal, sem apresentarem recidivas, sendo liberados para as atividades esportivas e reprodutivas.

PALAVRAS-CHAVE: Fístula Reto Vaginal, Vulvoplastia, Dinitrato de Isossorbida.

1. INTRODUÇÃO

A criação de equinos tem crescido significativamente, bem como o desenvolvimento de técnicas de melhoria da genética, aprimoramento do rebanho equino e intensificação de sua criação, o que leva ao aumento da ocorrência de afecções dos órgãos genitais das fêmeas (BRANDTNER *et al.*, 2014).

A fístula reto vaginal é o resultado de evento traumático durante o parto distócico em éguas, causando diferentes graus de laceração envolvendo a vagina e o reto (DIAS, 2007), com ou sem laceração da pele, vulva e esfíncter anal (FARIAS *et al.*, 2013), resultando em perda dos limites anatômicos, formando uma abertura comum entre a vagina e o reto (STAINKI e GHELLER, 2001).

A fístula reto vaginal causa grande prejuízo para os criadores de equinos, pois leva ao comprometimento da vida reprodutiva das éguas. As lesões genitais são mais frequentes em éguas jovens no início de sua vida reprodutiva e também em fêmeas de

pequeno porte cruzadas com ganhões de maior porte, o que pode causar problemas durante o parto (FARIAS *et al.*, 2013; BRANDTNER *et al.*, 2014).

O tratamento das fístulas reto vaginais é exclusivamente cirúrgico, através das diversas técnicas disponíveis de vulvoplastias que objetivam a recuperação plástica da vulva e seus anexos e o retorno à função normal (BRANDTNER *et al.*, 2014; FARIAS *et al.*, 2013). Todavia, a experiência clínica e estudos científicos mostram que frequentemente as técnicas reconstrutivas empregadas apresentam complicações cirúrgicas no pós-operatório, relacionadas às deiscências de pontos cirúrgicos, devido ao caráter contaminante dessas técnicas de plastia, a constante passagem de fezes, aumento da pressão e tensão na ampola retal, a dor, a retenção e desidratação fecal no período pós-operatório, a ativação simpática e a consequente má perfusão tecidual local agravada por espasmos musculares. Todos esses fatores associados determinam um alto índice de recidivas das fístulas reto vaginais, o que torna comumente necessária a realização de procedimentos cirúrgicos adicionais para a solução dos casos.

O dinitrato de isossorbida vem sendo utilizado no tratamento de fissuras anais em humanos. Segundo Mesquita e seus colaboradores (1997) o uso de medicamentos que provocam direta ou indireta inibição da contração do músculo esfíncter anal interno é aconselhável como tratamento inicial alternativo ou tratamento cirúrgico. Os nitratos são substâncias doadoras de óxido nítrico, que por sua vez são neurotransmissores responsáveis pelo relaxamento do esfíncter interno do ânus. O dinitrato de isossorbida é um dos compostos mais utilizados em estudos clínicos em humanos. A utilização tópica do nitrato resulta em diminuição das pressões anais de repouso e melhora da microcirculação na anoderme (LUND e SCHOLERFIELD, 1997).

Desta forma, este estudo teve o objetivo de relatar a evolução de três casos de éguas portadoras de fístulas reto vaginais, encaminhadas ao Hospital Escola Univértix, Matipó - MG, que foram submetidas a vulvoplastias pela técnica em dois estágios de Aanes e tratadas de forma adjuvante com Dinitrato de Isossorbida tópico nos sítios cirúrgicos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ANATOMIA DOS ÓRGÃOS GENITAIS

Os órgãos genitais compreendidos pela vagina, o vestíbulo e a vulva servem como órgão copulador e segmento final do canal do parto (DIAS, 2007).

A vagina é um órgão, que se estende desde a cérvix até o hímen, e possui apenas função reprodutiva. Caudalmente, o vestíbulo estende-se desde o hímen até à vulva e combina funções urinárias e reprodutivas. É um conduto relativamente longo, de paredes finas, e embora o lúmen esteja normalmente fechado, pela aproximação das paredes laterais, é notavelmente dilatável, quer em comprimento quer em largura.

Ocupa uma posição mediana na cavidade pélvica, relacionando-se dorsalmente com o reto e ventralmente com a bexiga urinária e a uretra. A superfície é lisa e circular, podendo formar pregas longitudinais. A intrusão da cérvix na parte cranial da vagina reduz o lume desta parte a um espaço em forma de anel, denominado fórnix da vagina. A junção da vagina com o vestíbulo é marcada em fêmeas virgens por uma prega de mucosa transversal (hímen). Esta junção regional é menos distensível que as partes do trato craniais e caudais a ela (DIAS, 2007).

O vestíbulo curva-se ventralmente em direção à rima da vulva. No caso da égua, o assoalho é mais longo e inclina-se ventralmente para baixo, além do arco isquiático. As suas paredes, menos elásticas que as da vagina, ficam juntas em repouso, reduzindo o lúmen a uma fenda vertical. A uretra abre-se no meato urinário, imediatamente caudal ao hímen. Embora não haja glândulas vestibulares maiores, inúmeras glândulas menores desembocam dentro de pequenas depressões, ordenadas em fileiras. A secreção mucosa produzida lubrifica a passagem do pênis durante o coito e do feto durante o parto, e o odor possui efeito sexualmente estimulante sobre o macho, no estro. Além da abertura da uretra e das glândulas vestibulares, o vestíbulo contém ainda o clitóris, circundado pela fossa do clitóris, e os músculos constritor do vestíbulo e constritor da vulva (DIAS, 2007).

O vestíbulo abre-se pela rima vulvar. Esta última, está localizada ventralmente ao ânus. A comissura labial vulvar ventral é arredondada e a dorsal pontiaguda e tal como o vestíbulo, possui funções reprodutivas e urinárias (DIAS, 2007).

2.2 PARTICULARIDADES DO PARTO EUTÓCICO E DISTÓCICO EM ÉGUAS

O parto normal é definido genericamente como a expulsão do produto para o meio externo após a ruptura dos envoltórios fetais, ao término do período gestacional. A placenta e os anexos são expelidos de imediato ou algumas horas após o início do

parto. De modo sintético, o parto caracteriza-se como um fenômeno nervoso, endócrino e mecânico em sincrônica associação. O parto na espécie equina é extremamente rápido e transcorre sob contrações vigorosas da musculatura uterina, abdominal e diafragmática. O parto eutócico pode ser dividido em três estágios, no primeiro ocorre a rotação e extensão da cabeça, pescoço e membros torácicos do potro para a posição dorsal; no segundo, o potro insinua-se e ocupa os espaços na via fetal mole e dura, para que ocorra a definitiva expulsão no terceiro estágio, marcadamente um reflexo mecânico/nervoso. Nos equinos, de forma geral, em 95 a 97% dos partos normais a estática fetal predominante é a apresentação longitudinal cranial, posição dorsal e atitude estendida. Qualquer alteração nesta disposição constitui-se em distocia, exigindo intervenção imediata, pois a permanência do potro por um período de 30 a 40 minutos entre o estágio I e II do parto é suficiente para provocar sua morte por asfixia, em consequência do descolamento da placenta (PRESTES, 2000).

Diante da distocia de causa materna ou de causa fetal procede-se a identificação do animal, anamnese e exame geral, constituído basicamente de aferição da temperatura corporal, inspeção geral, auscultação respiratória, cardíaca e do aparelho digestório, observação e palpação da vulva, períneo, ligamento sacro-isquiático e inspeção da cauda, atentando para grau de umidade, lóquio aderido ou odores anormais. A glândula mamária merece destaque e avaliação principalmente com relação a edema, presença e aspecto do colostro. Após rigorosa higienização do períneo, deve-se promover o exame obstétrico interno específico com o objetivo de avaliar as condições de dilatação e lubrificação do canal do parto e estimar a viabilidade e estática do produto. Somente após estas providências será possível estabelecer um diagnóstico, prognóstico e instituir a manobra obstétrica que a situação requeira. Os traumas encontrados com frequência no pós-parto de éguas são laceração perineal, laceração de cérvix, fístulas retovaginais, ruptura, hemorragia e prolapso uterino (PRESTES, 2000).

Segundo Papa (1992), as lacerações perineais e as fístulas reto vaginais estão entre os principais traumas cirúrgicos encontrados em éguas no pós-parto, podendo estes levar a complicações como pneumovagina, urovagina e até a morte. Ocorrem devido à força excessiva realizada pela égua para expulsão do feto, geralmente em distocia, éguas nervosas, auxílio inadequado ao parto, éguas primíparas e também fetos grandes.

2.3 FISTULA RETO VAGINAL

Fistula é a comunicação entre duas cavidades fisiológicas ou entre uma cavidade e o meio externo, drenando conteúdos fisiológicos ou patológicos. Podem ser classificadas em primeiro grau, quando envolvem a mucosa vestibular e pele da comissura dorsal da vulva; segundo grau, quando envolvem a mucosa vestibular e submucosa, a pele da comissura dorsal da vulva e o músculo do corpo perineal e ainda podem ser de terceiro grau, quando envolvem adicionalmente a mucosa retal e submucosa, septo perineal e esfíncter anal (AMORIM *et al.*, 2013).

Em lesões recentes observa-se hemorragia (STAINKI e GHELLER, 2001; AMORIM *et al.*, 2013), cuja intensidade está diretamente ligada ao grau de lesão; já que quanto maior a quantidade de tecido envolvido maior será a hemorragia (AMORIM *et al.*, 2013). Já em lesões mais antigas observa-se edema, infecção e até mesmo necrose. Se não tratada de imediato a fístula pode causar metrite, e em casos mais graves, morte do animal. Isso ocorre principalmente devido a infecção advinda dessa afecção, que é determinada pela quantidade de tecido lesionado e quantidade de fezes presentes na vulva (STAINKI e GHELLER, 2001).

O diagnóstico é baseado na inspeção da região vulvar (FARIAS *et al.*, 2013). Quando realizada a palpação transretal e vaginal, observa-se grande presença de ar que é liberado durante a manipulação. A entrada e saída de ar para o interior da vagina emite um som característico que ocorre de forma espontânea (DIAS, 2007; FARIAS *et al.*, 2013).

A cirurgia pode ser realizada imediatamente após o trauma, desde que o tecido esteja viável para a cicatrização. Se o tecido estiver necrosado ou contaminado a cirurgia não terá resultado satisfatório, indicando-se longo período de tratamento de ferida para o desbridamento, cicatrização por segunda intenção e amadurecimento tecidual para a obtenção de tecido que tenha resistência suficiente para a ancoragem das suturas empregadas na vulvoplastia (DIAS, 2007).

Antes de iniciar o tratamento cirúrgico é importante realizar medicação antibacteriana e anti-inflamatória (FARIAS *et al.*, 2013; STAINKI e GHELLER, 2001). Em alguns casos deve-se realizar a profilaxia antitetânica (STAINKI e GHELLER, 2001). Além disso, deve ser acompanhada a dieta para melhorar o prognóstico em relação ao procedimento cirúrgico (FARIAS *et al.*, 2013). Esta dieta deve ser adequada

para tornar as fezes amolecidas para evitar compactação, sendo indicado também que o animal consuma apenas feno nos três dias anteriores à cirurgia (DIAS, 2007).

Os primeiros relatos do uso das técnicas cirúrgicas para reparo de fístula reto vaginal e lacerações perineais completas datam de 1908, quando Flemming utilizou fio de metal, seda e catagute para aproximar as bordas da ferida após desbridamento (PRESTES e LOURENÇÃO, 2015).

2.4 VULVOPLASTIAS PARA O TRATAMENTO DAS FÍSTULAS DE TERCEIRO GRAU

A dilatação insuficiente e estenose vulvar e vestibular acontece por uma doença crônica, um distúrbio no crescimento corporal, nutrição deficiente ou por retração cicatricial e devido a sequelas de lesões ocorridas em partos anteriores (PRESTES e LANDIM-ALVARENGA, 2006).

A vulvoplastia é uma técnica com finalidade de corrigir a laceração perineal, prevenindo assim outras patologias agravantes, como pneumovagina, urovagina, vaginite, endometrites, melhorando também a estética e a qualidade de vida do animal (PRESTES e LANDIM-ALVARENGA, 2006).

Vulvoplastia é a cirurgia de reconstrução da comissura dorsal da vulva que apresenta defeito anatômico, ocasionado durante o parto ou devido à realização de uma episiotomia. Escore corporal, idade, partos repetidos e lordose também podem alterar a posição da vulva. A vulvoplastia é frequentemente indicada como forma de tratamento de pneumovagina, enfermidade que afeta principalmente éguas velhas e multíparas e predispõe à urovagina (DIAS, 2007; PRESTES e ALVARENGA, 2006).

Segundo Malschitzky *et al.*, (2007), éguas candidatas à vulvoplastia apresentaram um índice de prenhez menor do que aquelas que não necessitavam cirurgia, ou do que aquelas que já haviam sido operadas anteriormente. Existem três técnicas cirúrgicas para correção da pneumovagina: Caslick, Pouret e Modino-Mereck, sendo que a mais utilizada é a de Caslick, que é feita com anestesia local mediante infiltração direta da margem labial vulvar, e com uma tesoura ou bisturi remove-se uma tira de mucosa de aproximadamente 3 mm de largura de cada lábio vulvar, as margens cruentas são colocadas em aposição com pontos contínuos simples, sendo que grampos de aço também podem ser utilizados. No pós-operatório, geralmente não são indicados antibióticos tópicos ou sistêmicos, retiram-se os pontos 7 a 10 dias após, e como

complicações são incluídas a recorrência de pneumovagina e deiscência da sutura (HENDRICKSON, 2010).

A técnica mais utilizada para a correção das fistulas retovaginais de terceiro grau é a de Aanes, que consiste no fechamento em dois estágios, sendo que no primeiro procede-se o debridamento das superfícies, seguida de fixação caudal dos flaps de tecido em dois planos reconstituindo-se a anatomia do reto e do teto da vagina, sem, contudo realizar o fechamento completo de ânus e períneo. A fixação deve ser suficiente para separar as duas cavidades (DIAS, 2007).

Todas as lacerações perineais de terceiro grau requerem reparação cirúrgica. O gerenciamento é dividido em duas partes: o tratamento imediato e reparo cirúrgico tardio. Reparação de uma laceração perineal de terceiro grau no estágio agudo deve ser feita com cautela, pois o tecido é muito edematoso e contaminado com fezes e alguns tecidos podem não ser viáveis. O reparo deve ser adiado pelo menos 3 a 4 semanas, ou mais longo se possível, para permitir a cicatrização dos tecidos lesados (DIAS, 2007).

A terapia inicial deve incluir cuidados diários para feridas e limpeza dos tecidos contaminados. Lacerações perineais de terceiro grau resultam em contaminação bacteriana contínua da vagina e do útero. As alterações uterinas são reversíveis após o reparo cirúrgico. Inicialmente, mudanças na dieta podem ser necessárias para que tornem as fezes moles sem uma quantidade excessiva de água. Contudo, para limitar a contaminação uterina muitos métodos podem ser usados para suavizar as fezes, administrando laxantes como o óleo mineral ou o magnésio, através de um tubo nasogástrico e alimentação de farelo molhado são alguns exemplos. Alterações dietéticas adicionais devem ser instituídas antes da cirurgia para a consistência fecal.

Se as fezes estiverem firmes a cirurgia deve ser adiada porque a deiscência do reparo cirúrgico é provável (AUER e STICK, 2005).

A cirurgia é realizada com a égua sedada e contida e o uso da anestesia peridural é necessário. Depois da cirurgia a consistência fecal deve ser mantida por pelo menos duas a três semanas (AUER e STICK, 2005).

A técnica Aanes ou reparo em dois estágios foi adaptada para minimizar a constipação, o que pode levar a falha do reparo. Na primeira etapa do reparo, o reto é reconstruído sem reparo do períneo. Três a quatro semanas depois, o segundo estágio é realizado com o reparo do períneo e ânus. As suturas de reparo podem ser usadas

para fornecer acesso ao local cirúrgico. A dissecação inicial começa de forma cranial em um plano frontal ao nível da parede retovestibular. Após a incisão na junção das mucosas vaginal e retal, dissecação romba é usada para dividir profundamente o tecido em paredes retal e vestibular. A parede retal deve representar dois terços da espessura, e a parede vestibular um terço. O plano de dissecação é continuado cranialmente por uma distância de 3 a 5 cm. A dissecação cranial é importante para aliviar a tensão nas bordas dos tecidos. As incisões são continuadas lateralmente e caudalmente através do tecido cicatricial que se formou na junção do reto e mucosa vestibular. A dissecação é continuada lateralmente até que as paredes do tecido possam ser aplicadas na linha mediana sem tensão. A hemostasia é feita usando ligaduras (AUER e STICK, 2005).

A primeira etapa do reparo é composta por dois planos de suturas. O primeiro plano contempla as paredes vestibulares. Material de sutura absorvível é usado para inverter o vestíbulo, esse padrão deve ser interrompido. Quando cerca de um quarto da metade do defeito vestibular está fechado permite um acesso mais fácil para colocação do segundo plano de sutura, que é colocado dorsal ao primeiro de forma interrompida no tecido periretal e tecidos perivestibulares com material de sutura absorvível. A ancoragem é colocada tomando o primeiro ponto na camada de mucosa subretal à direita; o segundo, no tecido subvestibular da mucosa à direita; o terceiro, no tecido subvestibular à esquerda; e o quarto, no tecido mucoso subretal à esquerda, seguido de arremate em nó de cirurgião. Esses dois planos de suturas continuam caudalmente, de forma alternada até o nível da comissura dorsal da vulva. Nem o esfíncter anal nem o períneo são reparados. A segunda etapa do reparo é realizada de 3 a 4 semanas mais tarde, e consiste em remover o epitélio da superfície triangular do períneo e tecidos na linha mediana. A função do esfíncter anal é restabelecida pela sutura dos tecidos do corpo perineal. Nenhuma tentativa é feita para isolar e suturar as fibras musculares do esfíncter anal. A técnica de Caslick pode ser executada, se necessário (AUER e STICK, 2005).

O pós-operatório é realizado com curativo local diário, anti-inflamatórios e antibióticos. Quando o animal retornar à reprodução preconiza-se a inseminação artificial ou montas controladas (YOUNGQUIST e THRELFALL, 2007; PRESTES e LANDIM ALVARENGA, 2006; TURNER e MCILWRAITH, 2002; MCKINNON e VOSS, 1993).

2.5 DINITRATO DE ISOSSORBIDA

O dinitrato de isossorbida é um vasodilatador de ação direta, que relaxa a musculatura vascular lisa. Além da musculatura vascular lisa, relaxa a musculatura lisa brônquica, biliar, gastrointestinal, uretral e uterina (LANCE *et al.*, 2009).

O dinitrato de isossorbida é um fármaco utilizado para profilaxia da dor isquêmica cardíaca associada à insuficiência coronariana incluindo aquela associada ao infarto do miocárdio. O dinitrato de isossorbida pode reduzir a frequência, duração e intensidade das crises de angina. A tolerância ao exercício pode ser restabelecida e a necessidade de nitroglicerina pode ser reduzida em pacientes humanos portadores de cardiopatias (LANCE *et al.*, 2009).

O dinitrato de isossorbida vem sendo utilizado no tratamento de fissuras anais em humanos. Segundo Mesquita *et al.* (1997) o uso de medicamentos que provocam direta ou indireta inibição da contração do músculo esfíncter anal interno é aconselhável como tratamento inicial alternativo ao tratamento cirúrgico. Os nitratos são substâncias doadoras de óxido nítrico, que por sua vez são neurotransmissores responsáveis pelo relaxamento do esfíncter interno do ânus. O dinitrato de isossorbida é um dos compostos mais utilizados em estudos clínicos em humanos portadores de fissuras anais. A utilização tópica do nitrato resulta em diminuição das pressões anais de repouso e melhora da microcirculação na anoderme (LUND e SCHOLERFIELD, 1997).

As substâncias produtoras de óxido nítrico, um potente neurotransmissor que inibe a contração anal e aumenta o fluxo sanguíneo no anoderma por vasodilatação, estão o trinitrato de glicerina e o dinitrato de isossorbida com índices de cura que variam entre 30% a 80% a depender da dose utilizada e via de administração se oral ou tópica (GORDON; NIVATVONG, 2007).

Estudos realizados por Novell *et al.*, (2004) utilizando trinitrato de glicerina em um grupo de 80 pessoas com fissuras agudas e crônicas observaram que todas as fissuras cicatrizaram com a medicação. Porém apresentou muitos efeitos colaterais como rubor facial, cefaleia e hipotensão ortostática.

Lund e Schoelfield, (1997) realizaram estudo para comprovar a eficácia do trinitrato de glicerina tópico. Observaram então que houve cicatrização em 68% dos pacientes e registraram redução da pressão no anoderma.

Richard *et al.*, (2000) também realizou um estudo para comprovação da eficácia do trinitrato de glicerina, porém registraram 84% de efeitos colaterais, sendo que 20,5% necessitaram da suspensão da terapia por cefaleias ou síncope severa.

Utilizando o dinitrato de isossorbida, Mesquita *et al.* (1997) iniciou sua pesquisa com 13 pacientes, que demonstrou queda da pressão média de repouso. A cicatrização ocorreu em 77% dos pacientes sem apresentar efeitos colaterais.

Schouten *et al.*, (1996b) também utilizou o dinitrato de isossorbida e avaliou o fluxo sanguíneo no anoderma e a melhora clínica por informações dos pacientes. Seus resultados apresentaram acréscimo do fluxo sanguíneo e redução da pressão média de repouso, obtendo um índice de cura de 88%.

Parellada (2004) utilizou o dinitrato de isossorbida tópico onde obteve total cicatrização em 89% dos casos, sem presença de nenhum efeito colateral.

3. RELATO DOS CASOS

Foram atendidas três éguas no Hospital Escola Gardingo LTDA, duas da raça Mangalarga Machador. A primeira (égua I) de 6 anos, pesando 340kg e a segunda (égua II) de 6 anos, pesando 345kg e uma égua da raça quarto de milha (égua III) de 9 anos, pesando 400kg, todas as três com histórico de parto distócico resultando em fístulas retovaginais crônicas de grau III.

Na inspeção os animais apresentavam som semelhante à saída de ar na região da vulva, e uma comunicação entre a vulva e o reto. Esses animais não aceitavam a monta, não eram capazes de manter a gestação e ainda apresentavam vaginite e metrite.

Ao exame clínico, foram aferidos seus parâmetros vitais onde não se constatou nenhuma irregularidade. A égua I apresentava a frequência cardíaca em 32 batimentos por minuto, frequência respiratória de 14 movimentos por minuto, a temperatura de 37,5°, o tempo de preenchimento capilar menor que 2 segundos; a égua II apresentava a frequência cardíaca de 33 batimentos por minuto, frequência respiratória de 13 movimentos por minutos, temperatura de 37,8°, o tempo de preenchimento capilar menor que 2 segundos e a égua III apresentou frequência cardíaca de 35 batimentos por minutos, frequência respiratória de 12 movimentos por minuto, temperatura de 38,2°, o tempo de preenchimento capilar menor que 2 segundos. Durante a inspeção da região vulvar, diagnosticou-se fistula reto vaginal de grau III em todas as éguas.

Os animais foram submetidos a uma dieta adequada com feno e água para tornar as fezes moles e evitar compactação. Antes de iniciar o procedimento cirúrgico, os animais foram submetidos à antibioticoterapia terapêutica com gentamicina na dose de 6,6 mg/kg/IV, administração do anti-inflamatório meloxicam na dose de 0.6 mg/kg/IV, e terapia antitetânica em dose única (10000UI/animal/IM). Administrou-se também o leite de magnésia pela via oral, como laxativo.

Os procedimentos de vulvoplastia em dois estágios pela técnica de Aanes foram realizados utilizando-se os mesmos protocolos de anestesia e técnica cirúrgica em todos os animais, sendo também mantido o mesmo cirurgião para os três casos. Os animais foram contidos em tronco e operados em estação. Para a sedação usou-se Cloridrato de Detomidina 1% na dose de 20 mcg/kg/IV; para a anestesia epidural caudal utilizou-se Lidocaína 2% na dose de 0,2 mg/kg. Depois da sedação e anestesia epidural, procedeu-se o preparo segundo técnicas cirúrgicas assépticas, seguido do procedimento cirúrgico de reconstituição plástica segundo a técnica de Aanes em duas etapas. Primeiro reconstituiu-se o teto vaginal e o assoalho retal e 15 dias depois o corpo perineal e o esfíncter anal. A cirurgia iniciou-se com os pontos de reparo e sustentação na rima dorsal e de cada lado dos pilares vulvares, o que possibilitou visão adequada do campo cirúrgico. Em seguida foi feita uma incisão ao longo da lesão, separando a mucosa retal da vaginal e divulsionando a submucosa e mucosa vaginal formando os flaps retal e vaginal. A reconstituição do teto vaginal foi feita com fio absorvível Poliglecaprone 0, com padrão de sutura contínua, englobando os dois flaps mais ventrais dos planos dissecados, que mediam aproximadamente um terço da espessura do tecido em relação à espessura dos flaps dorsais. Concomitantemente à evolução caudal desse plano de sutura, o assoalho retal também foi reconstituído através da aposição dos flaps dorsais feita com pontos de Donatti interrompidos (padrão *mattress* vertical) com fio absorvível Poliglecaprone 0. Ambos os planos de sutura evoluíram do aspecto mais cranial da dissecação dos flaps até o aspecto mais caudal, próximo à junção muco-cutânea, sem, contudo envolver o ânus e o períneo. Durante o pós-operatório usou-se gentamicina 6,6 mg/kg/IV e meloxicam 0,6 mg/kg/IV por 5 dias. A limpeza das feridas cirúrgicas foi feita duas vezes ao dia; uma lavagem com água corrente para retirada de fezes ou sujidades grosseiras presentes externamente, seguida da lavagem do interior da ferida com utilização de solução fisiológica e clorexidine 0,5%. A pomada à base de furanil acrescida de dinitrato de

isossorbida 2% foi aplicada a cada 8 horas em todo sítio cirúrgico durante o período de 15 dias, iniciando-se na égua I no quinto dia de pós-operatório, quando verificou-se início da deiscência da ferida cirúrgica, caracterizada por presença de tecido desvitalizado, afastamento das bordas da ferida e formação de pequenas fístulas do aspecto mais dorsal e caudal da ampola retal em direção ao teto da vagina. Nos animais II e III, o uso da pomada acrescida de dinitrato de isossorbida foi instituído desde o primeiro dia do período pós-operatório. No segundo dia após a cirurgia, iniciou-se enema com solução salina a cada 3 horas e fluidoterapia enteral contínua com solução hidroeletrólítica de 3 litros por hora para todos os animais, estendendo-se por 3 dias no período pós operatório.

As éguas tiveram alta 15 dias após as cirurgias, apresentando processo de cicatrização bem desenvolvido. A recomendação dada aos proprietários foi que continuassem utilizando Furanil acrescido de Dinitrato de Isossorbida por mais duas semanas.

Os animais retornaram ao Hospital Veterinário, para uma reavaliação do quadro clínico, quando observou-se total cicatrização das feridas, sem formação de fístulas, abscessos, granulomas ou estenoses, sendo os animais liberados para as atividades reprodutivas e os proprietários aconselhados a optar pela inseminação artificial, montas controladas ou preferencialmente utilizá-las como doadoras de embriões para evitar recidivas.

4. DISCUSSÃO

Todos os animais apresentavam uma comunicação entre a vulva e o reto decorrente de um parto distócico, sendo o diagnóstico do quadro clínico relativamente simples, através da inspeção e do exame ginecológico completo. As três éguas também apresentavam complicações reprodutivas relacionadas às fístulas retovaginais, como vaginites e metrites, o que comprometia a reprodução, constituindo queixa de todos os proprietários, assim concordando com os achados de Papa *et.al.*, (1992), quando relatam que as lacerações perineais e as fístulas reto vaginais estão entre os principais traumas encontrados em éguas no pós-parto, podendo levar a diversas complicações e até a morte.

Ao exame clínico os animais encontravam-se em estação e com todos os parâmetros vitais dentro da normalidade. Durante as inspeções da região vulvar foi

diagnosticado fistula reto vaginal de grau III crônica em todas as éguas, com cicatrização completa das fístulas, livre de edema, restos necróticos ou qualquer alteração que inviabilizasse os procedimentos cirúrgicos. A completa cicatrização dos tecidos pós-evento traumático com desbridamento total, regressão da inflamação e maturação tecidual são fatores que estão relacionados ao sucesso dos procedimentos de vulvolplastia, quando o tecido apresenta-se saudável, elástico e resistente para a ancoragem dos planos de sutura e apto a suportar as tensões da ampola retal no período pós-operatório (DIAS, 2007).

Os animais seguiram uma dieta adequada e foram submetidos apenas ao uso de antibióticos e anti-inflamatórios de forma profilática e terapêutica no período pós-operatório, bem como a sessões de enemas, quando verificado acúmulo de bolo fecal excessivamente ressecado na ampola retal. Avalia-se que tal conduta foi também importante na prevenção de alguns tipos de complicações possíveis nesse período. A tentativa de amolecimento das fezes com dieta exclusiva a base de feno e com super-hidratação oral associada ao uso de laxativos não se mostrou totalmente eficiente, já que por diversas ocasiões observou-se acúmulo fecal ressecado nas ampolas retais dos 3 animais, o que causava frequentemente defecações dolorosas e com grande esforço.

A ocorrência de tenesmo pode ser frequente em vulvoplastias extensas que compreendam em sua abordagem planos anatômicos relacionados à ampola retal, corpo perineal e esfíncter anal, resultando em continência fecal e constipação, que podem contribuir para o aumento da pressão na ampola retal e nos planos de sutura, maximizando a possibilidade de deiscência da ferida cirúrgica e recidiva da condição. Tal apresentação clínica foi minimizada com a realização de enemas, o que aliviava os sinais clínicos de tenesmo e facilitava a expulsão das fezes principalmente nos primeiros dias do pós-operatório, quando a apresentação de dor ao defecar era mais evidente. Outra complicação associada frequente é a infecção da ferida cirúrgica. Por tratar-se de uma cirurgia contaminada é frequente a ocorrência de infecção do sítio cirúrgico em vulvoplastias, mas nos casos relatados foi observado que os cuidados com a antibioticoterapia e limpezas a cada 12 horas das feridas foram suficientes para combater infecções, com ausência de secreções ou alterações clínicas que sugerissem tal ocorrência (AUER e STICK, 2005).

A técnica de AANES baseia-se na dissecação de dois planos para ancoragem de suturas e em reparo em dois estágios, desenvolvida para minimizar a constipação, retenção fecal e pressão na ampola retal, o que pode levar à falha do reparo e recidivas, sendo por esse motivo a escolhida entre tantas para os casos relatados. Dois planos de sutura, um no reto e outro na vagina, contribuem para a divisão e atenuação de forças de tração durante a defecação, além de constituírem barreiras adicionais entre os planos que podem contribuir também para minorar os índices de desenvolvimento de infecções de sítio cirúrgico. Na primeira etapa do reparo, o reto-vestíbulo é reconstruído sem reparo do períneo e esfíncter anal. Três a quatro semanas depois, o segundo estágio é realizado e o reparo finalizado (AUER e STICK, 2005).

A primeira etapa do reparo é composta por duas linhas de suturas. Estas duas linhas de sutura continuam caudalmente alternando até o nível da comissura dorsal da vulva. O esfíncter anal e o corpo perineal não são reparados. A segunda etapa do reparo é realizada de 3 a 4 semanas mais tarde e consiste em remover o tecido da superfície triangular do corpo perineal e tecidos na linha média. A função do esfíncter anal é reestabelecida após sutura dos tecidos do corpo perineal (AUER e STICK, 2005).

A utilização da pomada Furanil acrescida de Dinitrato de Isossorbida 2% baseou-se nos trabalhos de Schouten *et al.*, (1996), Mesquita *et al.*, (1997) e Parellada, (2004) que apontaram que a taxa de cicatrização de fístulas anais com o uso do dinitrato de isossorbida tiveram melhor eficácia que outros métodos de tratamento tópico em humanos. Iniciou-se na égua I a administração tópica do princípio ativo apenas no quinto dia do pós-operatório, quando se verificou início de deiscência da ferida cirúrgica, com formação de pequenas fístulas. A região citada apresentava ainda debris de tecidos desvitalizados, sugerindo processo isquêmico local. Também havia apresentação de tenesmo e defecação dolorosa ainda no quinto dia de pós-operatório na égua I.

Após dois dias do uso da isossorbida, houve considerável melhora no ambiente da ferida, com coloração rosada, desbridamento total do tecido que parecia desvitalizado e início ativo da formação de tecido de granulação, que em poucos dias cobriu toda a área operada, recobrando inclusive as formações fistulosas e fortalecendo o corpo perineal neo-formado. Verificou-se também clinicamente uma atenuação do tenesmo apresentado pela égua I após o início do uso do protocolo. Em termos

cicatriciais houve considerável melhora da ferida cirúrgica da égua I, talvez pelos mesmos mecanismos descritos na medicina humana, relacionados à vasodilatação, analgesia e relaxamento muscular, que incentivaram o uso desde o primeiro dia do pós-operatório das éguas II e III.

Nos animais II e III, verificou-se além do menor grau de tenesmo, cicatrização linear dentro dos padrões fisiológicos, sem ocorrência de deiscência de pontos da ferida ou infecção de sítio cirúrgico, mesmo que parcial, ou em estágio inicial. A formação de tecido de granulação e reforço do corpo perineal ocorreram de forma precoce no período pós-operatório, não sendo observada nenhuma complicação imediata ou mediata relacionada à técnica.

Na experiência prática do cirurgião, esses resultados podem ser considerados muito positivos, já que o mesmo observa em sua experiência a ocorrência frequente de infecções de foco cirúrgico e de deiscências totais ou parciais das feridas cirúrgicas para essa mesma técnica de vulvoplastia, sendo necessários procedimentos adicionais para correções de recidivas na grande maioria dos casos, fato que também é descrito na literatura por Amorim *et al.*, (2013).

Em humanos os estudos realizados por Schouten *et al.*, (1996), Mesquita *et al.*, (1997) e Parellada (2004) apontaram que a taxa de cicatrização com o uso do dinitrato de isossorbida tópico em fissuras anais, nas quais os mecanismos relacionados à isquemia tecidual coexistem com a infecção da ferida, teve melhor eficácia que outros métodos de tratamento tópico, o que também pode ser observado de forma clínica nos animais tratados nesse trabalho

Basendo-se em estudos com dinitrato de isossorbida utilizados em humanos para tratamento de fissuras anais observou-se resultados satisfatórios na cicatrização das feridas. Com base nesses estudos utilizamos o dinitrato de isossorbida no tratamento das fistulas reto vaginais com intuito de obter resultados semelhantes. Por promover ação vasodilatadora e melhoria da perfusão tecidual assim como o relaxamento muscular promovendo melhor ambiente para a cicatrização da ferida. O Furanil acrescido do dinitrato de isossorbida promoveu um processo de cicatrização mais rápido e com menos riscos de infecção devido a sua ação antimicrobiana e antisséptica.

Com relação aos resultados finais obtidos pelos tratamentos empregados aos animais nesse trabalho, considera-se bastante satisfatórios, já que não houve

complicações cirúrgicas graves em nenhuma das três éguas, deiscências que levassem à recidivas das condições, todas as éguas tiveram alta em duas semanas e não apresentaram nenhuma reação adversa frente o uso da isossorbida. As afecções secundárias como vaginite e metrite se resolveram ainda em período de internação, o que sugere que as três éguas poderão ter vida reprodutiva normal ou pelo menos passível do uso como doadoras de embriões.

A falta de estudos com a utilização do dinitrato de isossorbida como tratamento tópico de feridas ou condições semelhantes às fissuras anais, fístulas retovaginais entre outras em equinos, reforça a importância dos resultados obtidos e a importância de estudos controlados nessa área.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como tratamento tópico, utilizando-se como veículo a pomada Furanil acrescida de dinitrato de isossorbida 2% como adjuvante ao tratamento cirúrgico das fístulas retovaginais em equinos, apresentou resultados satisfatórios, com melhoria da cicatrização da fistula reto vaginal, sendo que todos os animais tiveram alta em 15 dias, sem apresentarem recidivas; sendo liberados para as atividades esportivas e reprodutivas.

6. REFERÊNCIAS

AMORIM, R. M. D. R.; FARIAS, M. C.; SOUSA, K. M. P.; LIMA, E. R.; SILVA, A. C. P.; BARTOLOMEU, C. C.; LIMA, P. F. Relato de caso: vestibuloplastia em égua. **XIII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão**. JEPEX, 2013, Dezembro.

AUER, J.A., STICK, J.A. **Equine surgery**. 3. ed. Philadelphia: Saunders, 2005. p.845-850.

BORGES, L.; RODRIGUEZ, M.; PAULA, V.; AMBROGI, M.; FACCO, F.; GALON N.; CARDILLI D.; RIBEIRO, I.; BONATO, D.; VICENTE, W.; TEIXEIRA, P. Intervenções Obstétricas em Equinos. **Revista Investigação**, v. 14, n. 1, 2015.

BRANDTNER, A.; GOELZER, A.; MACAGNAN, L.; BORGES, L. Laceração vulvar em égua - Relato de caso. **XIX Seminário Interinstitucional de Ensino, Pesquisa e Extensão**. Unicruz, 2014.

DIAS B. M. L. **Clínica Das Espécies Pecuárias: Cirurgias Corretivas**. 2007. 50 f. Licenciatura em Medicina Veterinária. Universidade de Trás-os-Monte e Alto Douro. Vila Real, 2007.

FARIAS, M. C.; CRUZ, J. A. L. O.; AMORIM, R. M. D. R.; SILVA, D. J.; LIMA, E. R.; LIMA, P. F. Relato de Caso: Ruptura de Períneo em Égua. **XIII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão**. JEPEX, 2013, Dezembro.

GORDON, P. H.; NIVATVONGS, S. **Principles and practice of surgery for the colon, rectum, and anus**. CRC Press, 2007.

HENDRICKSON, D.A. **Técnicas Cirúrgicas em Grandes Animais**. 3ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

LUND, J. N.; SCHOLEFIELD, J. H. A randomized, prospective, double-blind, placebo-controlled trial of glyceryl trinitrate ointment in treatment of anal fissure. **Annals of Emergency Medicine**, v. 29, n. 6, p. 828, 1997.

LANCE, L. L.; GOLDMAN, M. P.; LACY, C. F.; ARMSTRONG, L. L. **Medicamentos Lexi-comp Manole**: Uma fonte abrangente para médicos e profissionais da saúde. 1º ed. Editora Manole. 2009.

MALSCHITZKY, E.; GASBADE, E.; GREGORY, R. M.; MATTOS, R. C. Vulvoplastia pré ou pós-cobertura e sua influência na fertilidade. **Revista Brasileira de Ciências Veterinária**, 14(1):56-58, 2007.

MCKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine Reproduction**. 1ª ed. Philadelphia: Lea & Febiger. 1993, 1137p.

MESQUITA, R. M.; RAMOS, J. R., GAMA; J. A. D. C. Tratamento da fissura anal com dinitrato de isossorbida tópico. Experiência inicial. **Rev. Bras. Coloproct**, 17(2), 93-5. 1997.

NOVELL, F.; NOVELL-COSTA, F.; NOVELL, J. Topical glyceryl trinitrate in the treatment of anal fissure. **Rev Esp Enferm Dig**, v. 96, n. 4, p. 255-258, 2004.

PAPA, F. O.; ALVARENGA, M. A.; BICUDO, S. D.; MEIRA, C.; PRESTES, N. C. Modificações na técnica de correção cirúrgica de dilaceração perineal de 3º grau em éguas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 29(2), 239-250. 1992.

PARELLADA, C. Randomized, prospective trial comparing 0.2 percent isosorbide dinitrate ointment with sphincterotomy in treatment of chronic anal fissure: a two-year follow-up. **Diseases of the colon & rectum**, v. 47, n. 4, p. 437-443, 2004.

PRESTES, N. C.; LOURENÇÃO, J. A. C. Como enfrentar os obstáculos frequentes em éguas portadores de alterações genitais passíveis de tratamento cirúrgico. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.39, n.1, 2015.

PRESTES, NEREU CARLOS. O parto distócico e as principais emergências obstétricas em equinos. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 3, n. 2, p. 40-46, 2000.

PRESTES, N. C.; LANDIM-ALVARENGA, F. C. **Manual de Obstetrícia Veterinária**. São Paulo: Guanabara Koogan, 2003. p. 85-87.

RICHARD, C. S.; GREGORIE, R.; PLEWES, E.A.; SILVERMAN, R.; BURUL, C.; BUIE, D.; REZNICK, R.; ROOS, T.; BURNSTEIN, M.; O'CONNOR B.; MUKRAI, D.; MCLEOD, R. S. Internal sphincterotomy is superior to topical nitroglycerin in the treatment of chronic anal fissure. **Diseases of the colon & rectum**, v. 43, n. 8, p. 1048-1055, 2000.

SCHOUTEN, W. R.; BRIEL, J. W.; AUWERDA, J. J. A.; DE GRAAF, E. J. R. Ischaemic nature of anal fissure. **British journal of surgery**, 83(1), 63-65, 1996.

STAINKI, D. R.; GHELLER, V. A. Laceração perineal e fístula reto-vestibular na égua: Uma revisão. **Revista da FZVA**, 8(1), 2001.

TURNER, A.S.; MCILWRAITH, C.W. **Técnicas Cirúrgicas em Animais de Grande Porte**. São Paulo, Roco, 2002. p.177 a 179.

YOUNGQUIST, R. S.; THRELFALL, W. R. **Current therapy in large animal theriogenology**. 2ª ed. Canadá: Elsevier. 2007.

UTILIZAÇÃO DE SAPONINA ASSOCIADA À VACINA COMO MÉTODO TERAPÊUTICO DA PAPILOMATOSE CUTÂNEA BOVINA

Acadêmicos: Bruno Silva Freitas e Jânio Ricardo Alves Filho
Orientadora: Vívian Rachel de Araújo Mendes

RESUMO

A papilomatose é uma enfermidade cosmopolita que infecta várias espécies animais principalmente os bovinos. Sua propagação se dá através da exposição direta com o vírus que infecta o epitélio dos vertebrados apresentando inicialmente pequenos tumores de caráter benigno. Pode causar grandes prejuízos por predispor a doenças secundárias como a mastite e miíase, ocasionando queda na produção. Atualmente existem vários métodos de tratamento para essa enfermidade, porém nem todos apresentam eficácia. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o emprego da vacina no controle da papilomatose bovina em duas formulações, uma associada à saponina e outra sem adjuvante. Nesse experimento foram utilizados animais com até 2 anos de idade, da raça Girolando, portadores do papiloma pedunculado, infectados naturalmente. Os adjuvantes são substâncias imunoestimulantes que induzem títulos elevados de anticorpos auxiliando na formação de uma resposta imune mais rápida e intensa ao antígeno vacinal. O tratamento utilizado mostrou eficácia com redução média de 95,7% em tamanho e 99,3% em quantidade, concluindo que a vacina com saponina é mais eficiente na cura da papilomatose.

PALAVRAS-CHAVE: *Papilomavirus*; Adjuvante; Vacina; Bovino.

1 INTRODUÇÃO

Os papilomas são neoplasias cutâneas proliferativas benignas apresentadas etiologicamente devido ao contato com o *Papilomavirus*. Os cavalos, cães e bovinos são relativamente susceptíveis ao contágio (CAMPO, 2002; JELINEK & TACHEZY, 2005), porém as neoplasias são mais frequentes em bovinos, com predisposição para animais mais novos, abaixo de dois anos de idade (NICHOLLS & STANLEY, 2000).

O *Papilomavirus* infecta o epitélio dos vertebrados podendo causar neoplasias ou persistir de forma assintomática (FAUQUET *et al.*, 2005). A doença se apresenta inicialmente com o aparecimento de pequenos nódulos, que com o tempo vão se tornando cada vez maiores e mais numerosos (HIRSH & ZEE, 2003). Freitas *et al.*, (2016) acrescenta que os tumores apresentam diferentes formatos como os pontiagudos e os com aspecto de couve flor, além de diversos tamanhos, podendo ser classificados em planos e pedunculados.

A propagação do vírus se dá através da exposição direta ou indireta por meio de fômites ou currais infectados. É necessário que algum fator colabore com a infecção, como desequilíbrio nutricional ou hormonal, sendo que ambos provocarão depressão no sistema imunológico (OTTER & LEONARD, 2003).

Marins, (2004) declarou que o principal método de infecção se dá através do cocho, por ser a região mais contaminada pelo *papilomavirus*. Ambos os sexos podem ser infectados e 81,64% da infecção encontra-se na região anterior, principalmente barbela, por permanecer em maior contato com o cocho.

Vários tratamentos têm sido empregados no tratamento das neoplasias (CIMTAY *et al.*, 2003; HEMMATZADEH *et al.*, 2003). Alguns tratamentos consistem na administração de fármacos ou substâncias químicas com objetivo de estimular o sistema imune (DINC, 1995). Hartmann, (2002) relatou que a utilização de vacina autógena apresentou resultados positivos em relação ao tratamento.

A vacina autógena pode ser o melhor método de tratamento dentre os demais por conter o vírus inativo, promovendo uma resposta imunológica mais eficaz em relação aos outros tratamentos instituídos, acreditando-se que essa vacina pode ter um efeito profilático (MARINS, 2004).

Agostini *et al.*, (2008) deixara claro que para ter um resultado positivo no tratamento, os animais devem apresentar imunidade adequada para responder aos efeitos da vacina.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o emprego da vacina no controle da papilomatose bovina em duas formulações, uma associada à saponina e outra sem adjuvante, em animais naturalmente infectados pelo *Papillomavirus*, buscando maior avanço para tratamento da papilomatose, enfermidade de difícil controle e que causa grandes prejuízos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 PAPILOMATOSE

O *papilomavirus bovino* (BPV) é um DNA circular que infecta o tecido epitelial e mucosas de mamíferos, causando papilomas benignos ou malignos (MONTEIRO *et al.*, 2008).

Atualmente, a família *Papillomaviridae*, com base na biologia e homologia genômica, é formada por 18 gêneros de vírus (VILLIERS *et al.*, 2004). Os tipos de BPV

identificados até o momento são classificados em quatro gêneros que incluem o *Deltapapillomavirus* (BPV-1 e -2), *Xipapillomavirus* (BPV-3, -4, -6, -9, -10 e -11), *Epsilonpapillomavirus* (BPV-5 e -8) e um gênero ainda classificado (BPV-7) (VILLIERS *et al.*, 2004; OGAWA *et al.*, 2004; TOMITA *et al.*, 2007; HATAMA *et al.*, 2008).

Campo, (2002) afirma que existe a classificação de dois subgrupos. O subgrupo A, contendo os BPVs 1, 2 e 5, formado pelos fibropapilomavírus, e o subgrupo B, contendo os BPVs 3, 4 e 6, que compreende os papilomavírus epiteliotrópicos. Ainda Wosiachi *et al.*, (2006) e Ogawa *et al.*, (2007) deixaram claro que BPV 1 e 2 causam fibropapilomas cutâneos, o que pode determinar câncer de bexiga, o BPV 4 provoca papilomatose e câncer do trato gastrointestinal superior e os BPVs 5 e 6 ocasionam papilomatose das tetas e úberes.

O agente etiológico da papilomatose é um vírus DNA dupla fita circular, com tamanho de aproximadamente 8 Kb, com peso molecular de $5,0 \times 10^6$ daltons, o que representa 12% da massa vírion; possui um capsídeo externo formado pela proteína principal (L1) e a proteína secundária interna do capsídeo (L2) (GARCEA & CHEN, 2007; TOZATO, 2011).

O genoma do vírus possui três segmentos, sendo eles: *early* (E), *late* (L) e o segmento *long control region* (LCR). O segmento E compreende 45% do genoma viral e é responsável pela codificação de proteínas necessárias durante a fase de transcrição e replicação do vírus. Já o genoma L ocupa 40%, sendo este responsável pela codificação das proteínas L1 e L2 do capsídeo - são proteínas de replicação de fases tardias e são encontradas em células de infecção produtiva. O LCR ocupa os 15% restantes do genoma viral que não codifica proteína, mas é constituído por elementos reguladores de replicação e transcrição viral (HOWLEY & LOWY, 2001; TOZATO, 2011).

A partícula viral é resistente às condições do meio ambiente e aos solventes lipídicos como o éter (GARCEA & CHEN, 2007; TOZATO, 2011). O vírus conserva-se ativo por 90 dias a 4°C e por 180 dias em temperatura de -70°C. Também permanece ativo por longo tempo quando mantido em glicerina 50% ou liofilizada. É inativado por 30 minutos a 60°C e por formalina a 10% (MAYR & GUERREIRO, 1988).

2.2 VACINA

Em humanos, o estudo de vírus oncogênicos tem proporcionado importantes descrições de processos celulares como o armazenamento e expressão da informação genética, o controle de ciclo celular, a tradução de sinal, a regulação da resposta imune e carcinogênese. A identificação dos tipos virais envolvidos na patologia de tumores possibilita novas oportunidades de tratamento clínico e o desenvolvimento de estratégias de vacinação. Acredita-se que a ação de imunoprofilaxia com abordagens específicas antivirais reduzam a incidência desses tumores (NASIR & CAMPO, 2008).

A vacina é uma exposição deliberada a qual se aplica no organismo do mamífero com o objetivo de provocar um estímulo imunológico, fazendo com que tenha uma produção de anticorpos contra o antígeno (LOCKSHIN, 2001). Kahn e Bernstein, (2005) relataram que as vacinas são classificadas como terapêuticas ou profiláticas, sendo que as terapêuticas induzem a regressão das lesões ou tumores e as profiláticas evitam a infecção pelo agente etiológico.

O animal exposto ao antígeno, subseqüentemente desencadeará uma resposta que inclui a proliferação de linfócitos B, T, a formação de anticorpos que protegem o indivíduo de desenvolver a doença e a produção de células de memória que caracteriza memória imunológica, traduzida por uma proteção de longa duração (CREPE, 2009).

As vacinas contêm diferentes componentes que as tornam mais ou menos seguras para uso nesses pacientes, sendo classificadas segundo esses componentes em três tipos: a) bactérias ou vírus mortos; b) bactérias ou vírus vivos atenuados; e c) proteínas ou açúcares extraídos de bactérias ou vírus ou sintetizados em laboratório (CREPE, 2009).

2.3 ADJUVANTE

As vacinas inativadas requerem o uso de potencializadores da resposta imunológica denominados adjuvantes (FUNASA, 2001). Os adjuvantes são necessários para induzir títulos elevados de anticorpos TNF- α (DALUM, 1999).

GUPTA & SIBER, 1995 relatam que adjuvantes auxiliam na formação de uma resposta imune mais rápida, de maior intensidade e duração, utilizando uma quantidade menor de antígenos, o que pode diminuir os custos na produção das vacinas.

Em 1925, estudos demonstraram ser possível aumentar a resposta imunológica contra toxinas tetânicas ao adicionar à fórmula substâncias como amido, lecitina ou

saponinas. Assim, há mais de 80 anos os adjuvantes vêm sendo utilizados em experimentos científicos e na vacinação humana e animal, nos quais seu uso adequado dispensa doses elevadas e aplicações frequentes dos antígenos sensibilizantes (LIMA, 2008).

As saponinas são descritas como pertencentes a um grupo de glicosídeos triterpenos, obtidos da casca de árvores da espécie *Quillaja saponaria*. As saponinas são indutoras de uma intensa resposta imune Th1 (citotoxicidade mediada por LT CD8+ e produção de IgG 2a) bem como, concomitantemente, resposta Th2 (LIU *et al.*, 2002). Possivelmente, as saponinas são os adjuvantes ideais para serem utilizados em ensaios vacinais, (RAVINDRAN & ALI, 2004). Isso porque apresentam baixo custo, formulações simples e, geralmente, são consideradas seguras para o uso veterinário (COX & COULTER, 1997).

3 METODOLOGIA

3.1 AMOSTRAS

Esse experimento foi conduzido em Miradouro – MG no período de fevereiro a outubro de 2016. Foram utilizados 25 animais, todos da mesma propriedade, com faixa etária inferior a 24 meses, de raças mestiças ($\frac{1}{2}$ Holandês X $\frac{1}{2}$ Gir), de ambos os sexos e portadores de papilomas pedunculados. Desse total, 24 animais foram divididos em quatro grupos, contendo 6 animais cada grupo, e 1 animal foi utilizado para obtenção dos papilomas para produção das vacinas. Todos os animais passaram por uma avaliação para determinar o aspecto morfológico dos papilomas, cuja finalidade foi identificar se todos os animais selecionados eram portadores do mesmo tipo de papiloma (pedunculado ou plano). Para contagem dos papilomas foi delimitada uma área de 21 x 29,7 centímetros (folha de ofício) entre a escápula e a cabeça do animal. Os papilomas que se apresentavam dentro dessa área foram contados e medidos com a utilização de um paquímetro e, posteriormente, foi feita uma média entre eles. Os grupos foram identificados através de brincos A, B, C e D.

Inicialmente foi coletado papilomas de um único animal da mesma propriedade, sendo este o que apresentava maior quantidade de papilomas. O procedimento de coleta iniciou com limpeza prévia com água, tricotomia da área e anestesia local. O total de verrugas coletadas foi equivalente a 25 g. No mesmo dia, o material foi levado

em isopor com gelo ao laboratório de microbiologia do Hospital Veterinário da Faculdade Univértix, Matipó- MG, onde a vacina foi produzida.

3.2 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

O protocolo foi baseado no trabalho de Hartmann *et al.*, (2002), porém acrescentando saponina como adjuvante.

Os papilomas coletados foram submetidos à limpeza para a retirada de restos de pelos, sendo lavados com água destilada. Todo o material foi triturado com utilização do cadinho. Foi acrescentado soro Ringer com Lactato na proporção de 5 ml de solução para cada 1g de papiloma e em seguida foi filtrado com o uso de algodão e gaze estéril. O material resultante da filtragem foi acrescido de formol a 0,04%, para a inativação do vírus, e de 1 mg de saponinas (ROATT *et al.*, 2012) a cada 10 ml. Assim, obteve-se a produção de 120 ml de vacina que permaneceu durante 24 horas em estufa a 27°C. Depois de pronta, a vacina foi transportada em caixa isotérmica com gelo até a fazenda.

3.3 TRATAMENTO DOS ANIMAIS E COLETA DOS RESULTADOS

Baseado no trabalho Hartmann *et al.*, (2002), os animais infectados receberam 2 doses de vacina (10 ml/Sc) com intervalo de 15 dias. Durante o período de acompanhamento, os animais possuíam uma ficha onde se registravam o tamanho médio e a quantidade dos papilomas. Esse acompanhamento foi feito quinzenalmente, a contar da primeira dose da vacina, durante três meses. Esta ficha também apresentava identificação do animal, idade, sexo, identificação de grupo e proprietário. A ficha foi feita no *Microsoft Office Excel 2007*.

Os grupos foram formados da seguinte maneira:

- **Grupo A**

O Grupo A foi tratado com vacina associada à saponina, na dose de 10 ml, via subcutânea.

- **Grupo B**

Utilizou-se de tratamento semelhante ao Grupo A, porém sem a utilização da saponina. A dose e a via de aplicação nesse tratamento foi a mesma do grupo A.

- **Grupo C**

Grupo controle, ou seja, sem nenhum tipo de tratamento. Porém, os animais deste grupo passaram pelo mesmo grau de estresse. Foram aplicados nesses animais 10 ml de soro fisiológico.

- **Grupo D**

Submetido à avaliação com saponina na dose de 1mg/10ml de solução fisiológica.

3.4 ANÁLISE E PROCESSAMENTO DOS DADOS

Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de comparação de média Tukey, comparando tamanho e quantidade inicial e final dos papilomas, a nível de 1 e 5% de significância, utilizando o programa Bio Estat 5.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados levantados na propriedade do estado de Minas Gerais, referentes à porcentagem de redução tanto em tamanho quanto em quantidade das neoplasias dentro do período de 90 dias, demonstraram grandes alterações no grupo teste quando comparado ao grupo controle. Isso porque todos apresentaram redução dos papilomas em tamanho e quantidade, exceto o Grupo C (grupo controle), como observado na Tabela 1.

Tabela 1: Demonstra a média e desvio padrão da quantidade e tamanho inicial e final com acompanhamento da regressão dos papilomas no período de 90 dias no grupo A (vacina com saponina), grupo B (vacina sem saponina), grupo C (grupo controle, soro fisiológico) e grupo D (soro com saponina).

Tratamento	Quantidade inicial	Quantidade final	Tamanho inicial	Tamanho final
Grupo A	24,83 ± 24,62 ^a	0,17 ± 0,41 ^a	0,80 ± 0,31 ^a	0,03 ± 0,08 ^a
Grupo B	32,2 ± 24,34 ^a	1,33 ± 2,80 ^{a,b}	0,62 ± 0,18 ^a	0,12 ± 0,24 ^{a,b}
Grupo C	24,17 ± 12,58 ^a	28,17 ± 34,00 ^b	0,90 ± 0,13 ^a	0,73 ± 0,32 ^b
Grupo D	20,17 ± 11,11 ^a	2,33 ± 3,93 ^{a,b}	0,87 ± 0,36 ^a	0,28 ± 0,34 ^{a,b}

Médias seguidas por letras, minúsculas, iguais nas colunas, não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey.

O Grupo A mostrou uma maior eficiência com redução média de 95,7% em tamanho e 99,3% em quantidade. O Grupo B mostra também uma grande melhora nos animais, destacando redução de 77,4% do tamanho e 95% na quantidade dos papilomas. O Grupo D, que caracteriza o tratamento com soro e saponina, apresenta boa redução na quantidade, 88,4% e no tamanho, 67,8%. Já o Grupo C teve um aumento de 16,5% na quantidade e em tamanho teve uma redução de 18,8% (TABELA 1).

A partir do resultado obtido no período de 90 dias, observou-se que os animais do Grupo A tiveram a regressão dos papilomas quase completa, o que mostra a eficácia no tratamento dessa enfermidade ($p > 0,05$). O Grupo B, no qual foi feito o estudo semelhante ao de Hartmann *et al*, (2002), apresentou resultados divergentes referentes ao presente trabalho.

Hartmann *et al*, (2002) afirma que a partir dos 25 dias obteve uma pequena redução dos papilomas. Aos 30-40 dias os papilomas foram totalmente substituídos por um novo tecido epitelial e a redução ocorreu devido ao aumento da imunidade dos animais. Neste trabalho, os animais do Grupo B também apresentaram redução dos papilomas no período de 30 dias, porém a remição completa não ocorreu em todos os animais como mostra a Figura 1. Sendo assim, através da análise estatística na qual foi observada a regressão dos papilomas, o tratamento com vacina sem saponina mostrou menor eficiência ($p < 0,05$) ao ser comparado com o do grupo que utilizou vacina com saponina.

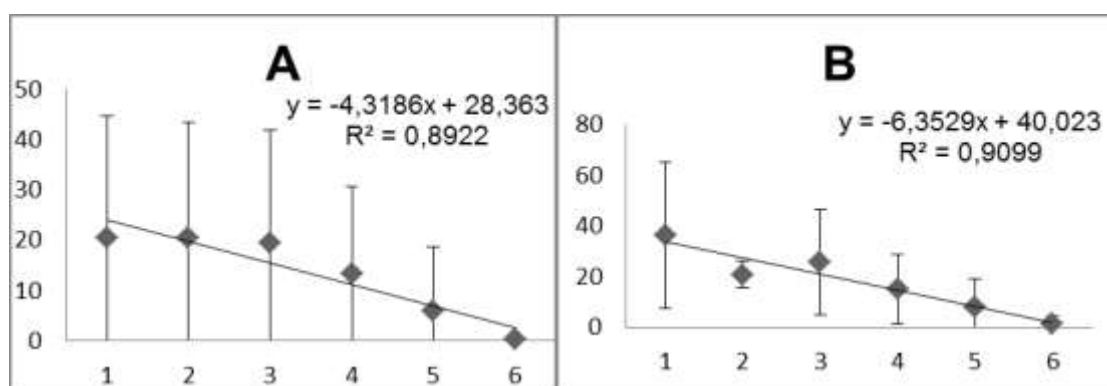


Figura 1: Apresenta a regressão da quantidade dos papilomas no período de 90 dias, tendo feito acompanhamento em intervalos de 15 dias. Figura 1A (tratamento vacina com saponina), Figura 1B (tratamento vacina sem saponina).

A Figura 2 A apresenta uma curva de tendência de alta confiabilidade ($R^2=0,9065$), a qual tende a chegar a zero. Já a figura 2 B possui uma boa correlação de confiabilidade ($R^2=0,8264$) com uma inclinação da curva de tendência que tende a chegar a zero mais tardiamente em relação à Figura 2 A.

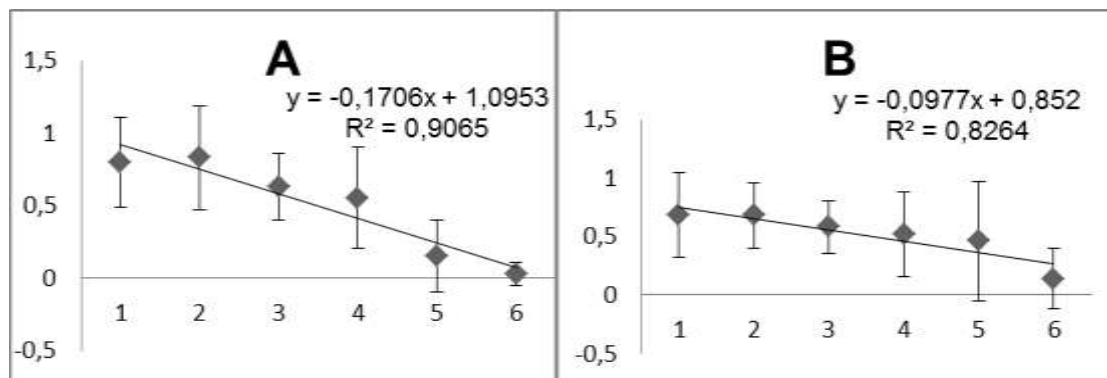


Figura 2: Representa a regressão no tamanho dos papilomas observados no período de 90 dias, com intervalos de 15 dias, referente aos respectivos tratamentos: figura 2A representa o tratamento de vacina com saponina; figura 2B representa o tratamento de vacina sem saponina.

Kirnbauer *et al.*, (1996), com seu estudo utilizando epítomos do papilomavírus tipo 2 e 4 com o adjuvante incompleto de Freund's, afirma que não foi eficiente seu tratamento, pois no grupo de tratamento que possuía 7 animais apenas 3 apresentaram remissão completa das neoplasias e no grupo controle apenas 1 animal.

Uma das razões para a falha do tratamento da papilomatose está na deficiência do sistema imunológico em reconhecer o antígeno vacinal, mesmo quando injetado intradermicamente em doses altas. Dois fatores possíveis são: a falta de adjuvante no inóculo ou administração de uma dose única. A ausência de uma resposta ao vírus numa infecção já avançada pode ser explicada pelo fato de que os papilomas são restritos ao epitélio e, portanto, alguns são protegidos do reconhecimento imunológico (KIRNBAUER *et al.*, 1996).

Nasir e Campo (2008) acrescentam que o *Papilomavírus* desenvolve um mecanismo de defesa ao se esconder do sistema imunitário do hospedeiro através da regulação da expressão de MHC1 por proteína viral (E5).

O Grupo D foi semelhante ao Grupo B, apresentando redução no tamanho e quantidade dos papilomas. De acordo com os resultados, esse grupo não apresentou diferença estatística ($p<0,05$), mesmo um animal apresentando remissão completa dos papilomas. Segundo Rajput *et al.*, (2007) a saponina tem capacidade de induzir a

produção de citocinas, tais como interleucinas e interferon, que podem ser imunostimulantes.

A saponina mesmo em doses baixas possui a capacidade de exercer a atividade de adjuvante, modulando o sistema imune mediado por células, aumentando a produção de anticorpos (ODA *et al.*, 2000). Rajput *et al.*, (2007) e Liu *et al.*, (2002) acrescentaram que seu mecanismo de ação é através da indução de efeitos aos linfócitos T, induzindo a atividade dos linfócitos CD8⁺ (citotóxico) e respostas aos antígenos da mucosa.

A Figura 3, referente ao Grupo D, exibe o declínio acentuado do tamanho e quantidade dos papilomas, os quais, em ambos os gráficos, tendem a chegar a zero com uma correlação de confiabilidade alta. Esta redução, porém, não foi completa dentro do período de 90 dias.

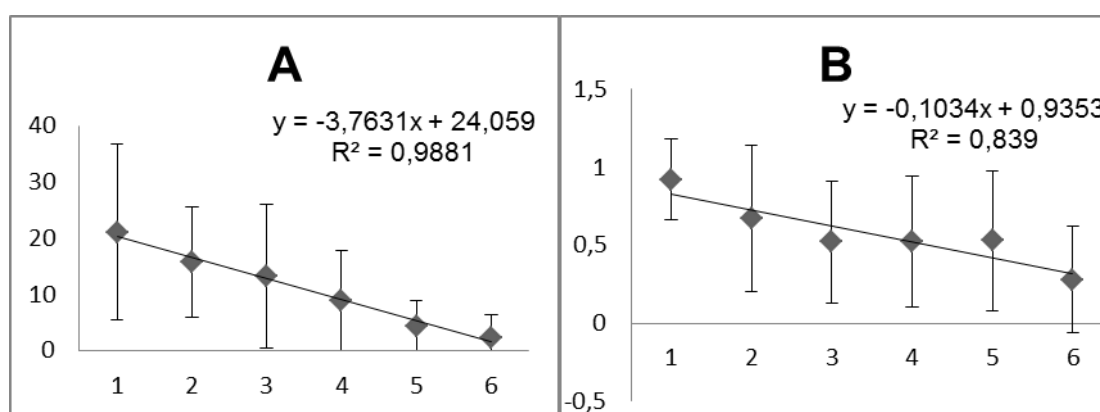


Figura 3: Mostra os gráficos de regressão dos papilomas no período de 90 dias com avaliação em intervalos de 15 dias. Figura 3A caracteriza redução da quantidade e Figura 3B redução do tamanho dos papilomas no grupo tratado com saponina.

No Grupo C, não era de se esperar uma melhora, porém os papilomas apresentaram pequena redução de tamanho. Já em quantidade houve um aumento mais significativo (FIGURA 4). Silva (2008) afirma que, normalmente, em alguns animais ocorre regressão espontânea dos papilomas devido a uma resposta imune celular, mas alguns animais são incapazes de responder.

A resposta imune nos bovinos contra o *Papilomavírus* é surpreendente. Os animais podem ter tumores maciços produzindo ativamente vírus em grande escala, porém não respondem facilmente aos antígenos durante o curso da infecção. Isso porque anticorpos anti-*Papilomavírus* raramente são detectados. A falha do sistema imunológico em reconhecer o vírus deve-se ao fato de que a vida do vírus é de ciclo

restrito ao epitélio e, portanto, não possui contato com o sistema imunológico (NASIR & CAMPO, 2008).

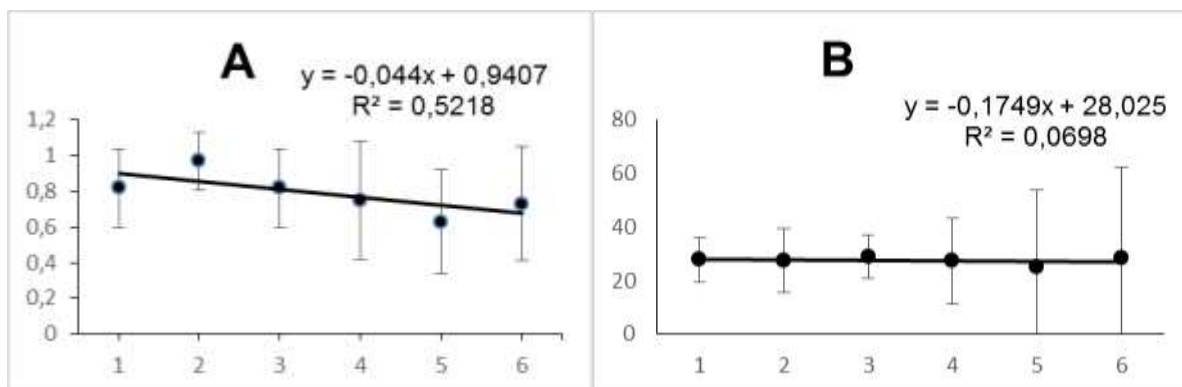


Figura 4: Ambos os gráficos evidenciam que não houve mudança significativa no tamanho (Figura 4A) nem na quantidade (Figura 4B) dos papilomas no período de 90 dias no grupo controle.

Para que ocorra a regressão dos papilomas é necessário que se tenha uma resposta imunológica contra o vírus. Como o grupo controle não foi exposto ao antígeno, o sistema imune não foi capaz de desenvolver esta resposta. Nasir e Campo (2008) afirmam que os antígenos virais entram em contato com células imunes e induzem resposta celular nos linfócitos T e B à cápside Proteínas ou à proteína transformadora E7, que pode ser observada em alguns animais em estágios mais avançados da infecção e parece estar associada à rejeição do papiloma. Durante a rejeição de papilomas, grandes massas de linfócitos se acumulam na derme. Os linfócitos $CD4^+$ são o subtipo predominante, enquanto os linfócitos $CD8^+$ predominam na camada basal e entre os queratinócitos.

5 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, concluímos que a vacina associada à saponina apresenta resultado eficiente para o tratamento da papilomatose bovina. Isso porque estimula o sistema imune a responder de forma mais satisfatória contra o antígeno vacinal. Todavia, são necessárias novas pesquisas a fim de aprimorar esta forma de tratamento.

REFERÊNCIAS

AGOSTINI, C.; SANTOS, D. C. V.; BETELLI, R.; CARVALHO, H. F.; TOMINAGA, H. W.; SILVA, F. R. C. **Tratamento de papilomas em bovinos com vacinas autógenas.**

2008.

Disponível

em:

<www.revista.ulbrajp.edu.br/seer/inicia/ojs/include/getdoc.php?id=4227...2110>
22/01/2016

Acessado:

CAMPO, M. S, Animal models of papillomavirus pathogenesis. **Virus research**. v.89, p.249-261, 2002.

CIMTAY, I.; BIRICIK, H. S.; KESKIN, O.; BABA, Z. F. Comparative studies on the efficacy of different vaccination methods in the treatment of bovine papillomatosis. **Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences**. v. 27, p929-933, 2003.

COX, J.C.; COULTER, A.R. Adjuvants - a classification and review of their modes of action. **Vaccine**. v.15, n°3, p.248-256, 1997.

CREPE, C. A. **Introduzindo a imunologia: vacinas**. Apucarana, 2009. Disponível em: <www.diaadiaeducacao.pr.gov.br/portals/pde/arquivos/1816-6.pdf>, Acessado: 20/01/2016.

DALUM, I.; BUTLER, D. M.; JENSEN, M. R.; HINDERSSON, P.; STEINAA, L.; WATERSTON, A. M.; GRELL, S. N.; FELDMANN, M.; ELSNER, H. I.; MOURITSEN, S. Therapeutic antibodies elicited by immunization against TNF- α . **Natural Biotechnology**. v.17, p. 666–669, 1999.

DINÇ, D. A. Papillomatozis. In: Evcil Hayvanlarda Memenin Deri Hastalıkları Dolasım Bozuklukları ve Operasyonları. **Konya, Ulku Matbaası**. p.41-45, 1995.

FAUQUET, C.M.; MAYO, M.A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L.A. **Virus taxonomy. The Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Family Papillomaviridae**. Elsevier, p. 239–255, 2005.

FUNASA (Fundação Nacional da Saúde). **Manual de normas de vacinação**. 3 ed., Brasília, 2001.

GARCEA, L.R.; CHEN, X. Papillomavirus Structure and Assembly. In: GARCEA, L. R. The Papillomavirus. **Springer Science**. p.69-83, Nova York, 2007.

GUPTA, R.K.; SIBER, G.R. Adjuvants for human vaccines-- current status, problems and future prospects. **Vaccine**. V.13, p.1263-1276, 1995.

HATAMA, S., NOBUMOTO, K., KANNO, T. Genomic and phylogenetic analysis of two novel bovine papillomavirus, BPV-9 e BPV-10. **Journal of General Virology**. v.89, p.158-163, 2008.

HARTMANN, W.; VIEIRA, A. G. N.; DIEDRICHS, T. N.; FUNAYAMA, S.; HILL, J. A. G. Vacina autógena para o tratamento da papilomatose bovina. **Ciência e Cultura** n°. 31, Curitiba, p.107-112, 2002.

HEMMATZADEH, F.; FATEMI, A.; AMINI, F. Therapeutic effects of fig tree latex on bovine papillomatosis. **Journal of Veterinary Medicine Series B**. v.50, p.473-476, 2003.

HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia Veterinária**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.446, 2003.

HOWLEY, P.M.; LOWY, D.R. Papillomaviruses and their replication. In: **Fields Virology**. 4ed. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven, p. 2197-2229, 2001.

JELINEK, F.; TACHEZY, R. Cutaneous papillomatosis in cattle. **Journal of Comparative Pathology**. v.132, p.70-81, 2005.

KAHN, J.A.; BERNSTEIN, D.I. Human papillomavirus vaccines and adolescents. **Curr Opin Obstet Gynecol**. v.17, n°5, p.476-482, 2005.

KIRNBAUER, R.; CHANDRACHUD, L. M.; O'NEIL, B. W. WAGNER, E. R.; GRINDLAY, G. J.; ARMSTRONG, A.; McGARVIE, G. M.; SCHILLER, J. T.; LOWY, D. R.; CAMPO, M. S. Virus-like particles of bovine Papillomavirus type 4 in prophylactic and therapeutic immunization. **Virology**. n.219, p.37-44, 1996.

LIMA, M.G.S. **Uso de óleos vegetais como adjuvantes da resposta imunológica em procedimentos de imunização/vacinação**. 2008. Departamento de bioquímica e biologia molecular. Disponível em: <<http://64.233.169.104/search?q=cache:jqM2aWE1K04J:sbbq.iq.usp.br/arquivos/regional/2002/cdresumo/Palestras/028.pdf+sbbq.iq.usp.br/arquivo/regional/2002/cdresumo/palestras/028.pdf&hl=pt-BR&ct=clnk&cd=1&gl=br>>. Acessado: 01/02/2016.

LIU, G.; ANDERSON, C.; SCALTRETO, H.; BARBON, J.; KENSIL, C.R. QS-21 structure/function studies: effect of acylation on adjuvant activity. **Vaccine**. p.2808-2815, 2002.

LOCKSHIN, M.D. **Vaccinations and Rheumatic Disease**, 2001. Disponível em: <www.rheumatology.hss.edu>. Acessado em: 10/12/2015.

MARINS, R. S. Q. S. **Epidemiologia da papilomatose cutânea bovina e avaliação da eficácia de diferentes tratamentos em micro-regiões dos estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo**. Dissertação de mestrado na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes-RJ, 2004.

MAYR, A.; GUERREIRO, M. G. **Virologia veterinária**. 3 ed. Porto Alegre: editora Sulina, p.476, 1988.

MONTEIRO, V. L. C.; COELHO, M. C. O. C.; CARNEIRO, A. S.; SILVA, R. A. A.; TEIXEIRA, M. N. WANDERLEY, A. G.; WANDERLEY, E. K.; FRANCO, E. S. Descrição clínica e histopatológica da papilomatose cutânea bovina (BPV). **Ciência Animal Brasileira**. v.9, n°4, p.1079-1088, 2008.

NASIR, L.; CAMPO, M.S. Bovine papillomaviruses: their role in the aetiology of cutaneous tumours of bovids and equids. **Veterinary Dermatology**. v.19, p.243- 254, 2008.

NICHOLLS, P. K.; STANLEY, M. A. The immunology of animal papillomaviruses. **Veterinary immunology and immunopathology**. v.73, p.101-127, 2000.

ODA, K., MATSUDA, H.; MURAKAMI, T.; KATAYAMA, S.; OHGITANI, T.; YOSHIKAWA, M. Adjuvant and haemolytic activities of 47 saponins derived from medicinal and food plants. **Biological Chemistry**. v.381, n°1, p.67-74, 2000.

OGAWA, T.; TOMITA, Y.; OKADA, M.; SHINOZAKI, H.K.; KAIHO, I.; SHIRASAWA, H. Broad-spectrum detection of papillomaviruses in bovine teat papilomas and health teat skin. **Journal of General Virology**. v.85, p.2191-2197, 2007.

FREITAS, B. F.; ALVES-FILHO, J. R.; AZEVEDO, M. A. J.; SILVEIRA, L. M.; SCHITTINI, A. C. P.; FERREIRA, V. R.; CARVALHO, R. O. Associação de diferentes protocolos de tratamento de papilomatose cutânea bovina. **Anais do IX FAVE- Fórum Acadêmico de Faculdade Vértice- UNIVÉRTIX**. p. 261-270, 2016.

OTTER, A. e LEONARD, D. Fibropapillomatosis outbreak en calves. **Veterinary Record**. v.1, p.570-571, 2003.

RAJPUT, Z. I.; HU, S.; XIAO, C.; ARIJO, A. G. Adjuvant effects of saponins on animal immune responses. **Journal of Zhejiang University**. n.8, v.3, p.153-161, 2007.

RAVINDRAN, R.; ALI, N. Progress in vaccine research and possible effector mechanisms in visceral leishmaniasis. **Current molecular medicine**. v.4, n.6, p.697-709, 2004.

ROATT, B. M.; AGUIAR-SOARES, R.D.O.; SOUZA, V.J.; VITAL, W. C.; BRAGA, S. L.; OLIVEIRAS, R. C.; MARTINS-FILHO, A.; CARVALHO, A. T.; LANA, M.; GONTIJO, N. F.; MARQUES, M. J.; GIUNCHETTI, R. C.; REIS, A. B. Performance of LBSap vaccine after intradermal challenge with *L. infantum* and saliva of *Lu. Longipalpis*: Immunogenicity and parasitological evaluation. **Journal PLOS ONE**. v.7, nº.11, p.1-12, 2012.

SILVA, M. A. R. **Avaliação da presença de papilomavírus bovino em sêmen de touros (*Bos taurus*) em Pernambuco**. Dissertação de mestrado na Universidade Federal de Pernambuco, p.1-54, 2008.

TOMITA, Y.; LITERÁK, I.; OGAWA, T.; JIN, Z.; SHIRASAWA, H. Complete genomes and phylogenetic positions of bovine papillomavirus type 8 and variant type from European bison. **Vírus Genes**. v.35, p.243-249, 2007.

TOZATO, C. C. **Análise filogenética de papilomavírus bovino (BPV) identificados a partir de lesões epiteliais da glândula mamária de vacas leiteiras**. Dissertação de mestrado na Universidade Estadual de Londrina, p.1-117, 2011.

VILLIERS, E.M.; FAUQUET, C.; BROKER, T.R.; BERNARD, H.U.; ZUR HAUSEN, H. Classification of papillomaviruses. **Virology**, v.324, p.17-27, 2004.

WOSIACKI, S.R.; CLAUS, M.C.; ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A. Bovine papillomavirus type 2 detection in the urinary bladder of cattle with chronic enzootic haematuria. **Memória Institucional Oswaldo Cruz**. v.101, n.6, p.635-638, 2006.

UTILIZAÇÃO DE *Solanum lycocarpum* NO COMBATE DO *Rhabditis* spp., CAUSADOR DE OTITE EM GIR LEITEIRO

Acadêmicos: Vinicius Rodrigues Ferreira e Humberto Alves de Lima
Orientador: Rogério Oliva Carvalho

RESUMO

A rhabditiose ou otite do Gir leiteiro é uma doença parasitária (causada pelo nematoide *Rhabditis* spp.) de grande impacto na bovinocultura leiteira, sendo de grande importância econômica, por atingir animais da raça Gir devido à suas características anatômicas, visto a relevância desta raça no cenário leiteiro nacional. Atualmente os tratamentos existentes dessa parasitose com a utilização de alguns fármacos não tem apresentado resultados satisfatórios devido ao difícil controle, alto custo, manejo e seguidas recidivas. Dessa forma se faz necessário a busca por novas alternativas terapêuticas que possam causar o controle deste nematoide ou que venham a trazer uma perspectiva para novos testes e experimentos no tratamento desta doença. No presente estudo, avaliou-se o efeito *in vitro* do extrato da *Solanum lycocarpum* (Fruta do Lobo) em três grupos de concentrações distintas (5, 10 e 20%) e um grupo controle que não foi tratado. O resultado deste estudo mostrou que o extrato reduziu o número de nematoides nos grupos de tratamento, cujo efeito foi diretamente proporcional as concentrações utilizadas, sendo que no grupo controle aumentou o número de nematoides. O ensaio *in vitro* revelou que o composto do extrato apresentou ação letal sobre o *Rhabditis* spp. podendo ser uma alternativa promissora no tratamento da otite do Gir leiteiro.

Palavras-chave: *Rhabditis* spp.; Otite do Gir; Fruta do Lobo; *Solanum lycocarpum*.

1. INTRODUÇÃO

A raça Gir leiteiro foi oficialmente introduzida no Brasil do ano de 1906 à 1962, e agora encontra-se distribuída em mais de 80% dos rebanhos leiteiros do país constituídos de animais puros ou cruzados (REIS FILHO, 2006). Galal e Boyazoglu (2003) relatam que a raça é originária da península de Kathiawar, localizada no estado indiano de Gujarat, a oeste do país, na divisa com o Paquistão. Esta raça apresenta uma rusticidade e uma adaptabilidade maior em comparação as raças europeias, são animais dóceis e mostram um grande desempenho produtivo, devido ao baixo custo para a produção de leite (REIS FILHO, 2006).

De acordo com a ABCGIL (2012) a raça Gir passa por um período acelerado de desenvolvimento, visto que a pecuária leiteira nos países tropicais requer opções que permitam uma exploração mais eficiente dentro da realidade econômica e ambiental, sendo que esta raça se encaixa perfeitamente nessa situação. Em 2010 a raça

comercializou mais de 691.000 doses de sêmen no Brasil, o que representou cerca de 48% do total de sêmen produzido no país para leite e mais de 15% do total comercializado para este fim (ASBIA, 2010).

O Brasil se configura atualmente como exportador de genética bovina para outros países que tenham condições climáticas similares às brasileiras, sendo isso fruto dos fidedignos trabalhos fomentados pelo PNMGL - Programa Nacional de Melhoramento da raça Gir Leiteiro (SILVA, 2011).

A atividade leiteira ocupa posição de destaque na economia brasileira, o Brasil está entre os cinco maiores produtores de leite do mundo e crescendo a taxa de 4% ao ano (VILELA, 2002). A produção de leite é considerada a característica mais importante em programas de melhoramento genético. No entanto, a ênfase dada somente a produção pode afetar negativamente algumas características funcionais como fertilidade e resistência a doenças (WALL *et al.*, 2005; PEREZ- CABAL *et al.*, 2006).

A raça mesmo sendo resistente a parasitas, possui as suas particularidades, como por exemplo, uma doença característica da raça, conhecida como otite do Gir leiteiro ou *rhabditiose*, a qual o agente etiológico da doença é um nematoide de vida livre o *Rhabditis* spp. (LEITE, 2010).

Os sinais clínicos das otites podem ser diversos, variando de acordo com o grau de infestação e a parte do órgão afetada, partindo de simples incômodos nas otites externas, desorientação nas otites médias e chegando a causar danos nervosos irreparáveis, podendo levar o animal à óbito nos casos de otite interna severa (REZENDE, 2010).

A Otite do Gir tem consequências econômicas acentuadas, tornando o tratamento cada vez mais oneroso, com medicamentos e manejo. Existem vários protocolos terapêuticos que ainda são extremamente questionados a respeito de sua eficácia, pois vários deles não apresentam resultados satisfatórios (VIEIRA *et al.*, 2001; PITOMBO, 2006; ABDALLA *et al.*, 2008).

A *Solanum lycocarpum* é uma típica espécie de planta do cerrado. O lobo guará que se alimenta desta planta conhecida popularmente por fruta do lobo ou fruta lobeira, com tudo não desenvolve o parasitismo renal causado pelo nematoide *Dioctophyma renale* (SILVA, 2002).

Miranda, (2013) relata que novos estudos devem ser realizados, para melhor explorar a utilização de *S. lycocarpum*, que podem dispor novas perspectivas para o controle alternativo de parasitas.

Este trabalho teve como objetivo, avaliar o efeito, *in vitro*, do extrato alcoólico dos frutos da *Solanum lycocarpum* contra *Rhabditis* spp., um nematoide de vida livre causador da otite em bovinos da raça Gir leiteiro e desenvolver nova alternativa de tratamento.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Otite em bovinos

A Otite do Gir Leiteiro é uma inflamação do conduto auditivo dessa raça, a qual é provocada por um parasita nematoide de vida livre, denominado *Rhabditis* spp. (DUARTE, e. R.; HAMDAN, 2004). Esta enfermidade tem consequências graves nos criatórios desse animais, devido aos gastos com medicamentos, manejo, diminuição de produção, além da desvalorização e até morte dos animais (VIEIRA *et al.*, 2001).

Duarte *et al.*, (2001) mostram que em rebanhos Gir do estado de Minas Gerais, há alta correlação na presença dos parasitas com os casos clínicos de otite. Sendo que a prevalência chega a 100% nas vacas mais velhas e em apenas 14,3% dos bezerros. Facuri Filho *et al.*, (1990) estudando um rebanho Gir, relataram que a frequência de *Rhabditis* spp. foi de 100% nas vacas e ausente em bezerros com menos de 3 meses de idade.

A raça possui esta particularidade devido aos fatores predisponentes, que são os chifres característicos, que comprimem as orelhas, que por sua vez são longas e em formato de cânula. Tais características fenotípicas favorecem o acúmulo de cerúmen e secreções dentro do canal auditivo externo (CAE), e propiciam um ambiente favorável ao desenvolvimento de microrganismos (LEITE, 2010).

2.2. Agente etiológico

O *Rhabditis* spp. é um parasita que vive habitualmente na matéria orgânica em decomposição, terra úmida, em água doce ou salgada (ABDALLA *et al.*, 2008). Vieira (1998) relata que as fêmeas podem ser ovíparas ou larvíparas.

No Brasil, três helmintos tiveram sua presença identificada na etiologia das otites: *Tricephalobus oticola*, *Micronema* spp. e o *Rhabditis* spp. Este último começou a trazer complicações a produtores e aumentou a curiosidade dos pesquisadores. Já foram descritos trabalhos em diversos estados do Brasil sobre sua ocorrência, principalmente em áreas de maior criação destas raças (PITOMBO, 2006; ABDALLA *et al.*, 2008; LEITE & LEITE, 2010).

Em países tropicais a infestação pelo *Rhabditis* spp. é causa primária de otite em bovinos. Na África a espécie responsável por tal doença é o *R. bovis* (MSOLLA *et al.*, 1986), já o Brasil são descritos quatro espécies, *R. freitasi*, *R. costai*, *R. insectivora* e *R. terrestres*, sendo as duas primeiras as mais importantes (MARTINS JR *et al.*, 1985).

Vários autores relatam diversos fatores de transmissão da otite parasitária como o ato de coçar o ouvido com os pés sujos de esterco e a presença de moscas, pois em grandes partes das fazendas acometidas, produtores relatam a ocorrência de miíases, e grande quantidade de “moscas do chifre” - *Haematobia irritans* (VEROCAI *et al.*, 2007; ABDALLA *et al.*, 2008).

2.3. Diagnóstico e tratamento

Durante a inspeção do conduto auditivo, pode-se observar um certo grau de estenose, e por vezes, o torreia purulenta, e diretamente a circulação de parasitas, como também o cheiro fétido de secreções (DUARTE e HAMDAN, 2004; CARDONA *et al.*, 2014). Os animais infestados podem mostrar-se apáticos e anoréxicos, com a cabeça tendendo a cair para um dos lados, e desconforto aparente devido ao constante balançar de orelhas, coçar das orelhas com os membros posteriores, nos chifres de outros indivíduos ou em pontos fixos (ABDALLA *et al.*, 2008; CAMPOS *et al.*, 2009; VEROCAI *et al.*, 2007). Santos *et al.*, (2009) acrescenta que além dos sinais clínicos para fechar o diagnóstico de otite provocado pelo *Rhabditis* spp, é necessário a coleta da secreção encontrada no canal auditivo e análise laboratorial para avaliação das larvas em diferentes estágios de vida.

Existem diversos métodos de tratamento para essa enfermidade, porém alguns não tem apresentado resultados positivos, com o trabalho de Scott *et al.*, (2006) que relata a utilização de ivermectina 0,5% e o sulfóxido de albendazol a 6% não obtendo eficácia satisfatória. Leite *et al.*, (1994) indicaram como tratamento altamente eficaz a lavagem do conduto auditivo dos animais com uma solução de álcool e éter na

proporção 1:1, contendo sulfato de cobre a 2%. No entanto, Vieira *et al.*, (2001) compararam o tratamento anteriormente descrito com uma solução de triclorfon a 3% e dimetilsulfóxido a 1%, utilizando como veículo uma pasta de nitrofurazona, não obtendo o efeito terapêutico desejado.

Em trabalho, Campos *et al.*, (2009) testaram um protocolo terapêutico, no qual foi administrado moxidectina 10%, via subcutânea, na dose de 1mg/kg em dose única, e associado à antibióticoterapia para tratamento das infecções bacterianas que ocorrem junta com a otite: penicilina benzatina, procaína e potássica, associadas a estreptomicina via intramuscular. A limpeza dos condutos auditivos foi realizada diariamente com solução a base de triclorfon diluído em solução fisiológica, mostrando o protocolo como tratamento eficaz, mas ocorreu recidiva após seis meses de tratamento, devido a presença de fatores de transmissão.

2.4. *Solanum lycocarpum*

A *S. lycocarpum* A. Saint-Hilaire (*Solanaceae*) é uma típica espécie de planta do cerrado, e dá uma fruta popularmente conhecido como fruta do lobo ou lobeira. É uma planta nativa do Brasil, utilizada pelos índios Xavantes Brasileiros como agente hipoglicemiante e é empregado na medicina popular no tratamento da obesidade, diabetes e na diminuição dos níveis de colesterol. Os frutos contêm dois glicoalcalóides principais, *solamargina* e *solasodine* (SCHWARZ *et al.*, 2007; NAKAMURA *et al.*, 2008).

A *S. lycocarpum* e seus glicoalcalóides possuem atividades contra fungos (FEWELL *et al.*, 1994), protozoários (HALL *et al.*, 2006), esquistossomose (MIRANDA *et al.*, 2012), moluscicida (BAGALWA *et al.*, 2010), e efeitos antitumorais (CHAM, 2007).

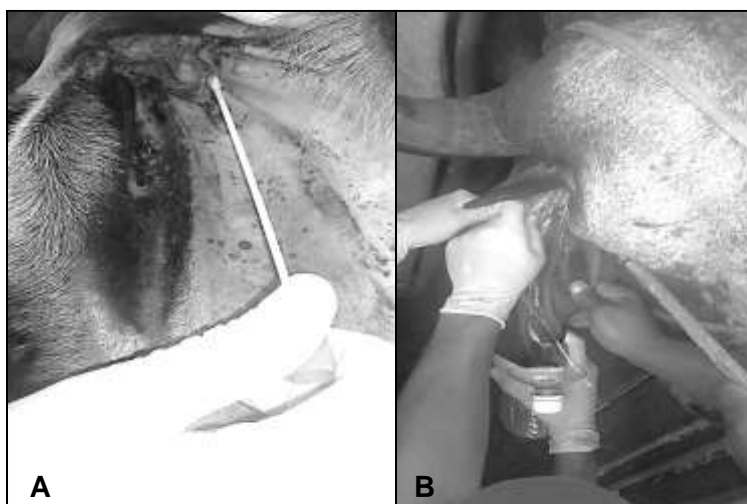
Novos estudos devem ser realizados, para melhor explorar a utilização dos alcaloides da *S. lycocarpum*, os quais deverão dispor novas perspectivas para o controle alternativo de parasita (MIRANDA, 2013). Pois, alguns trabalhos descrevem que a *S. lycocarpum* possui ação direta contra vermes adultos (KIM *et al.*, 1997), por isso a busca por novos compostos ativos que podem modular o sistema imunológico tem solicitado investigação de plantas medicinais tais como *Solanum lycocarpum* (MIRANDA *et al.*, 2012).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Obtenção e tratamento das amostras

O parasito (*Rhabditis* spp.) foi coletado na Fazenda Brasília, cidade de São Pedro dos Ferros no estado de Minas Gerais, através do swab (FIGURA 1A) e lavado direto da orelha (FIGURA 1B) dos animais infectados, e transportados em temperatura ambiente para instituição UNIVERTIX localizada na cidade de Matipó também em Minas Gerais, onde o material foi levado para o laboratório de parasitologia desta instituição.

FIGURA 1. Coleta do *Rhabditis* spp.: A- Coleta do parasito através de swab da orelha de uma vaca da raça Gir Leiteira; B- Coleta do parasito através de lavado direto da orelha de uma vaca da raça



Gir Leiteira.

Todo o material passou por um processo de lavagem sobre centrifugação a 1000 rpm por 3 minutos com água destilada, com total de cinco lavagens, a fim de remover os resíduos de exsudato e cerume. Em seguida, a amostra foi analisada em microscópio confirmando a presença do *Rhabditis* spp., os quais foram cultivados em placas de Petri contendo ágar sangue (a base de sangue bovino), durante todo o experimento. Mantidos a temperatura ambiente (FIGURA 2 A e B).

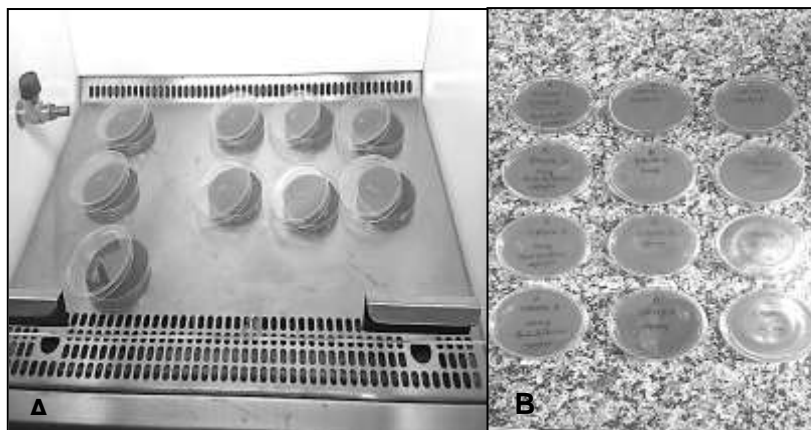


FIGURA 2. **A-** Preparo das placas de Petri com ágar sangue; **B-** Placas de Petri identificadas com os grupos de nematoides e as concentrações do substrato de *Solanum lycocarpum* nas concentrações de 5, 10 e 20 % e também o grupo controle.

3.2. Obtenção do extrato

Os frutos da *S. lycocarpum* foram seccionados (fatias de um centímetro de espessura), como demonstrados na figura 3A e desidratados em estufa a 40°C por 5 dias, após desidratação foram triturados e armazenados em frasco âmbar.

Para a obtenção dos alcaloides foi adicionado uma parte do fruto triturado em três partes de solvente (álcool etílico hidratado 70%), mantida a temperatura ambiente por 48 horas (FIGURA 3B).



FIGURA 3. **A-** *Solanum lycocarpum* (Fruta do Lobo) fatiada; **B-** Extrato da *S. lycocarpum* diluída no álcool etílico na proporção de 1:3, respectivamente.

Após este período o material foi filtrado e a fração solúvel em etanol foi concentrada em banho Maria 40°C até a completa evaporação do solvente. O extrato obtido foi diluído em água destilada para obter as concentrações de 50mg/ml (5%), 100mg/ml (10%) e 200mg/ml (20%).

3.3. Experimento

As larvas foram extraídas das placas pelo método de “Rugai”, centrifugadas a 1500 rpm por 5 minutos e concentradas chegando a uma alíquota de 1000 nematoides para cada 1ml.

Foram formados quatro grupos contendo três placas de ágar sangue para cada grupo. Cada placa recebeu 1 ml da solução contendo 1000 nematoides, em seguida foi administrado 1ml da solução de extrato alcoólico de *S. lycocarpum* nas concentrações de 5, 10 e 20 % nas placas dos grupos de tratamento e 1 ml de água destilada nas placas do grupo controle (sem tratamento). As placas permaneceram por 72 horas em temperatura ambiente.

Após este período os nematoides foram extraídos do meio de cultura (ágar sangue) pelo método de Baermann e Moraes, utilizando água a 45°C e aguardando 6 horas para decantação (sedimentação), como demonstrado na figura 4.

O volume final foi reduzido para 2 ml e estimado o número total de parasitas a partir de 5 alíquotas de 10 microlitros de cada placa, para contagem em microscópio óptico, objetiva 10X.



FIGURA 4. Extração das larvas do parasito utilizando o método de Baermann e Moraes.

3.4. Análise e processamento dos dados

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância seguido do teste de comparação de médias de Tukey a nível de 1 e 5% de significância, utilizando o programa estatístico “BioEstat 5.3”.

O percentual de redução do número de nematoides nos diferentes tratamentos foi determinado, comparando-se as médias de nematoides recuperados em cada um dos grupos de tratamento com a média recuperada nas placas do grupo controle (sem tratamento).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Todos os grupos de tratamento apresentaram médias de nematoides recuperados significativamente menores que o grupo controle (sem tratamento) ($p < 0,01$), com quantidades ínfimas as depositadas nas placas, demonstrando que o extrato de *S. lycocarpum* foi capaz de matar os *Rhabditis* spp. (figura 1).

Na comparação entre os tratamentos foi observado que o extrato na concentração de 10% (100mg/ml) não diferiu dos demais grupos ($p > 0,05$) sendo que a concentração de 5% (50mg/ml) e de 20% (200mg/ml) diferiram entre si ($p < 0,05$) (figura 5).

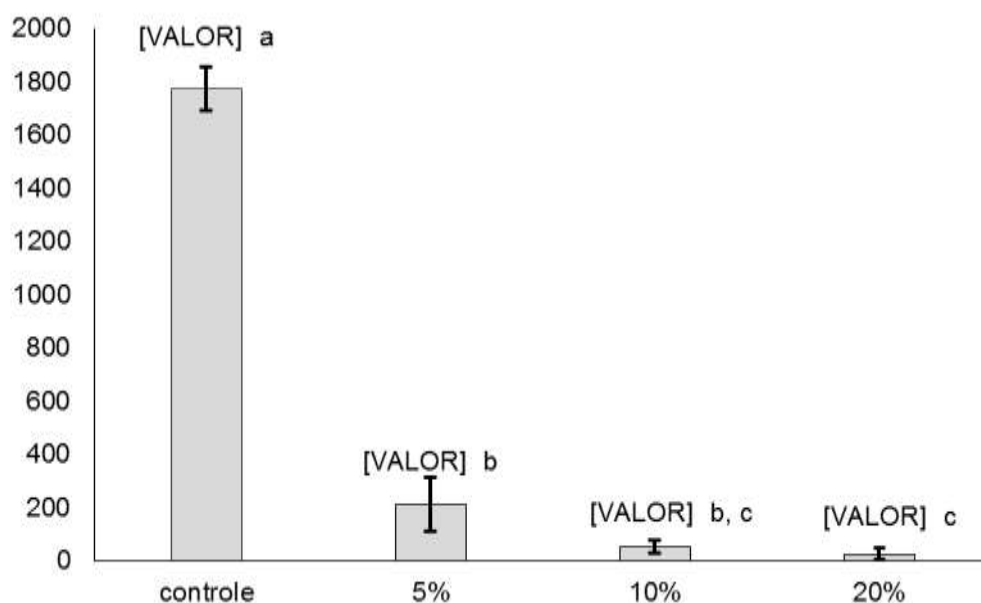


Figura 5- Média e desvio padrão do número de *Rhabditis* spp. recuperados das placas do grupo controle (sem tratamento) e dos grupos tratados com extrato alcoólico do fruto da *Solanum lycocarpum* nas concentrações de 5, 10 e 20%. Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente ($p > 0,05$) – Teste de Tukey.

Na comparação dos grupos de tratado com o controle foram observados percentuais de redução no número de *Rhabditis* spp. de 88, 97 e 98,5% para os grupos

tratados com extrato alcoólico do fruto da *S. lycocarpum* nas concentrações de 5, 10 e 20%, respectivamente.

Não foram encontrados trabalhos com testes *in vitro* utilizando extrato de plantas ou produtos químicos no controle de *Rhabditis* spp. Contudo, Araújo e Guimarães (2002) em testes utilizando o fungo nematófago *Monacrosporium thaumasium* no controle de *Rhabditis* spp. obtiveram 100% de eficácia em teste *in vitro*, porém, *in vivo* o fungo não foi capaz de colonizar o conduto auditivo do bovino (Gir) e preda os nematoides. No presente trabalho não foi feito o teste *in vivo*, necessitando de novos estudos para determinar a eficácia do extrato alcoólico do fruto de *S. lycocarpum* no controle a campo do *Rhabditis* spp.

Alguns protocolos de tratamentos realizados para o controle de *Rhabditis* spp., a campo, foram descritos como a utilização de ivermectina 0,5% e o sulfóxido de albendazol a 6% (SCOTT *et al.*, 2006). Lavagem com solução de álcool mais éter na proporção 1:1 e sulfato de cobre a 2% (LEITE *et al.*, 1994). Solução de triclorfon 3% e dimetilsulfóxido 1% em pasta de nitrofurazona (VIEIRA *et al.*, 2001). Contudo, nenhum desses tratamentos obteve um resultado satisfatório, justificando a necessidade de mais pesquisas na busca de alternativas no controle da otite bovina pelo *Rhabditis* spp.

Este foi o primeiro trabalho que testou extrato alcoólico do fruto de *S. lycocarpum* no controle do *Rhabditis* spp. No entanto, é conhecida a ação leishmanicida, estrongiloicida e esquistossomicida do extrato alcalóidico dos frutos da *S. lycocarpum* (MIRANDA, 2013).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo realizado no laboratório de parasitologia da instituição UNIVERTIX campus Matipó/MG, onde foram realizados testes *in vitro* com a utilização do extrato alcoólico de frutos do *S. lycocarpum* no controle do nematoide *Rhabditis* spp. (causador da otite do Gir), mostrou-se eficaz e com ação direta atingindo percentual acima de 98% sobre este. Justificando assim a necessidade de novos estudos que elucidem a utilização e o efeito da *S. lycocarpum* e suas propriedades em testes *in vivo*.

6. REFERÊNCIAS

ABCGIL. Associação Brasileira dos criadores de Gir Leiteiro. Uberaba, MG. **O Gir Leiteiro hoje**, 2012. Disponível em: <<http://www.girleiteiro.org.br/novo/?desempenho>> Acesso em: 13/02/2016.

ABDALLA, M. S.; PEIXOTO, T. C.; ALVES, P. A. M.; FRANÇA, T. N.; BRITO, M. F. Aspectos anatomo-patológicos da otite causada por *Rhabditis* sp. em bovinos no estado do Rio de Janeiro, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIA, 35, 2008, Gramado. **Anais eletrônicos** [online]. Gramado: COMBRAVET, 2008. R0743-1. Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0743-1.pdf>>. Acesso em: 13/02 2016.

ARAÚJO, J.V. e GUIMARÃES, M.P. Ação do fungo predador de nematoides *Monacrosporium thaumasium* sobre *Rhabditis* spp. **Ciência Animal**, v.12, n.2, p.129-132, 2002.

ASBIA. Associação Brasileira de Inseminação artificial. **Relatório estatístico de produção, importação e comercialização de sêmen**. 2010. Disponível em: <<http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/relatorio2010.pdf>>. Acesso em: 10/02/2016.

BAGALWA, J. J. M.; VOUTQUENNE-NAZABADIOKO, L.; SAYAGH, C.; BASHWIRA, A. S. **Evaluation of the biological activity of the molluscicidal fraction of Solanum sisymbriifolium against non-target organisms**. Fitoterapia v.81, p.767–771, 2010.

CAMPOS, S. B. S.; SERODIO, J. J.; DENIZE, S. B.; et al. EVOLUÇÃO CLÍNICA, DIAGNÓSTICO, TRATAMENTO E ACHADOS DE NECROPSIA DA OTITE PARASITÁRIA POR *Rhabditis* sp. EM TOURO DA RAÇA GIR. In: Congresso Brasileiro de Buiatria, suplemento 1, 2009, B. H. **Anais eletrônicos**. Belo Horizonte: VIII Congresso Brasileiro de Buiatria, p.120 2009. Disponível em: <<http://200.137.221.132/index.php/vet/article/viewFile/7883/5717>>. Acesso em: 10/02/2016.

CARDONA, J.; CALDERÓN, A.; PERDOMO, S. Frecuencia de otitis parasitaria bovina (*Rhabditis* spp) en tres explotaciones de la raza Gyr en el departamento de Sucre, Colombia. Revista Científica da **Facultad de Ciencias Veterinárias de la Universidad del Zulia**, v.XXIV, n.1, p.22-26, 2014.

CHAM, B.E. Solasodine rhaminosyl glycosides specifically bind cancer cell receptors and induce apoptosis and necrosis. Treatment for skin cancer and hope for internal cancer. **Research Journal of Biological Sciences**. v.2, p.503–514, 2007.

DUARTE, E.R.; MELO, M.M.; HAMDAN, J.S. Epidemiological aspects of bovine parasitic otitis caused by *Rhabditis* spp. and/or *Raillietia* spp. in the state of Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Parasitology**. v. 101, n. 1, p. 45-52, 2001.

DUARTE, E. R.; HAMDAN, J. S. Otitis in Cattle, an Aetiological Review. **Journal of Veterinary Medical**, Berlin, n.51, p.1–7, 2004.

FACURI FILHO E. J.; GUIMARAES, A. M.; OLIVEIRA, P.R.; *et al.* **OCORRÊNCIA DE OTITE PARASITÁRIA EM UM REBANHO DA RAÇA GIR, NO MUNICÍPIO DE BETIM, MINAS GERAIS.** In: CONGRESSO MINEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 4, 1990, Belo Horizonte. ANAIS.... Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG.

FEWELL, A.M.; RODDICK, J.G.; WEISSENBERG, M. Interactions between the glycoalkaloids solasonine and solamargine in relation to inhibition of fungal growth. **Phytochemistry.** v.37, p.1007–1011, 1994.

GALAL, S. e BOYAZOGLU, J. **Animal Genetic Resouces Information.** eds., Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, 2003.

ARAÚJO, J. V.; GUIMARÃES, M. P. **ACÇÃO DO FUNGO PREDADOR DE NEMATÓIDES *Monacrosporium thaumasium* SOBRE *Rhabditis* spp.** Ciência Animal, 12(2): 129-132, 2002. Disponível: <<http://www.uece.br/cienciaanimal/dmdocuments/Comunicacao1.2002.2.pdf>>. Acesso em: 26/04/2017.

HALL, C.A.; HOBBY, T.; CIPOLLINI, M. Efficacy and mechanisms of a-solasonine and a-solamargine-induced cytolysis on two strains of *Trypanosoma cruzi*. **Journal of Chemical Ecology.** v.32, p.2405–2416, 2006.

KIM, Y.M.; TALANIAN, R.V.; BILLIAR, T.R. Nitric oxide inhibits apoptosis by preventing increase in caspase-3-like activity via two distinct mechanisms. **Journal of Biological Chemistry.** v.49, p.31138–31148, 1997.

LEITE, P. V. B. **Dinamica da infestação, abordagem semiológica e tratamento das infestação por *Rhabditis* spp. e *Raillietia* spp. Em bovinos Gir minas gerais, 2010.** Belo horizonte, Departamento de veterinária-UFMG, 2010.

LEITE, R. C.; LEITE, R. C.; FACCINI, L. H. Diagnóstico e tratamento da otite parasitária por nematóides rhabditiformes em bovinos. Short communication. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Seropédica, v.3, n.1, p.69-70, 1994.

LEITE, P. V.; LEITE, R. C. Otite parasitária em bovinos da raça Gir. **Revista Interural**, v.4, n.33, p.52, 2010.

MARTINS JR., W. *Rhabditis* (*Rhabditis*) *freitasi* sp. n. e *Rhabditis* (*Rhabditis*) *costai* sp. n. (Nematoda-Rhabditidae) isolados de otite bovina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 80, n. 1, p. 11-16, 1985.

MIRANDA, M. A.; KUEHN, C. C.; CARDOSO, J. F. R.; OLIVEIRA, L. G. R.; MAGALHÃES, L. G.; TIOSSI, R. F. J.; McCHERNEY, J. D.; BASTOS, J. K. Immunomodulatory effect of the alkaloidic extract of *Solanum lycocarpum* fruits in mice infected with *Schistosoma mansoni*. **Experimental Parasitology.** v.133, p.396-402, 2013.

MIRANDA, M. A.; MAGALHÃES, L.G.; TIOSSI, R.F.J.; KUEHN, C.C.; OLIVEIRA, L.G.R.; RODRIGUES, V.; McCHESNEY, J.D.; BASTOS, J.K. Evoluution of the

schistosomicidal activity of the steroidal alkaloids from *Solanum lycocarpum* fruits. **Parasitology**. Res. v.111, p.257–262, 2012.

MSOLLA, P. et al. Epidemiology of bovine parasitic otitis. **Tropical Animal Health and Production**, v.18, p.51–52, 1986.

NAKAMURA, S.; HONGO, M.; SUGIMOTO, S.; MATSUDA, H.; YOSHIKAWA, M. Steroidal saponins and pseudoalkaloid oligoglycoside from Brazilian natural medicine, “fruta do lobo” fruit of *Solanum lycocarpum*). **Phytochemistry**, v.69, p.1565-1572, 2008.

PÉREZ- CABAL , M.A.; GARCÍA, C.; GONZÁLEZ- RECIO , O.; ALENDA, R. Genetic and phenotypic relationships among locomotion type traits, profit, production, longevity, and fertility in Spanish dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.1776-1783, 2006.

PITOMBO, L. H. Vermes causam doloridas otites. **Revista ABCZ**. [online] n.32. Maio 2006. Disponível em:<<http://www.abcz.org.br/revista/materia.php?mostrar=%20Edi%E7%E3o%20N%BA%2032%20-%20maio/2006&id=2748>>. Acesso em: 12/02/2016.

REIS FILHO, J. C. **Endogamia na raça Gir**. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.

Rezende R.B. 2010. **Otite parasitária causada por Rhabditis spp. em bovinos. Monografia de Especialização em Medicina Veterinária**, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Jatobá, 2010. 48p. Disponível:<<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v36n7/1678-5150-pvb-36-07-00605.pdf>>. Acesso em: 29/03/2017.

SANTOS, S.; SERÔDIO, J.; SILVA, D. *et al.* Evolução clínica, diagnóstico, tratamento e achados de necropsia da otite parasitária por *Rhabditis* sp. em touro da raça Gir - relato de caso Ciênc. **Animals Bras**, v.1, p.677-683, 2009.

SCHWARZ, A.; PINTO, E.; HARAGUCHI, M.; OLIVEIRA, C.A.; BERNARDI, M.M.; SPINOSA, H.S. Phytochemical study of *Solanum lycocarpum* (St. Hil) unripe fruit and its effects on rat gestation. **Phytother**. Res. 21, 1025–1028, 2007.

SCOTT, F.B.; VEROCAI, G.G.; CORREIA, T.R.; MELO, R.M.P.S.; ALVES, P.A.M. **Eficácia de dois tratamentos no controle da otite parasitária bovina causada por nematoides rhabditiformes**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 14, 2006, Ribeirão Preto. *Anais...* Jaboticabal: CBPV, 2006. p.295.

SILVA, J. C. da; MACHADO, C. H., 2011. **Teste de Progênie: Ferramenta de Melhoramento Genético e Avaliação/Seleção de Reprodutores Gir Leiteiro**. Disponível: <<http://www.fazu.br/ojs/index.php/posfazu/article/viewFile/315/221>>. Acesso em: 05/04/2017.

SILVA, W.R. Biologia e conservação do lobo-guará na estação ecológica de águas emendadas, Distrito Federal. Tese – **Institute of Biology, University of Campinas**, Department of Ecology, 2002.

VILELA, D. Perspectivas para a produção de leite no Brasil. In: TEIXEIRA, J. C.; DAVID, F. M.; ANDRADE, G. A.; ÍTALO NETO, A.; TEIXEIRAS, L. F. A. C. **Avanços em produção e manejo de bovinos leiteiros**. Lavras: UFLA, 2002. p. 225-262.

VEROCAI G.G.; FERNANDES J.I.; CORREIA T.R.; MELO R.M.P.S.; ALVES P.A.M. & SCOTT F.B. Otite parasitária bovina por nematóides rhabditiformes em vacas Gir no Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.16, n.2, p.105-107, 2007.

VIEIRA, M. C. M. Otites clínicas por *Rabditis* sp. em bovinos da raça Gir no estado de Goiás: estudo da prevalência, alguns aspectos da biologia dos parasitos e tratamento. 1998. 59 f. **Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal)** – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

VIEIRA M.C.M.; SILVA L.A.F.; ARAÚJO J.L.B.; ANDRADE M.A.; FIORAVANTI M.C.S. & SILVA E.D. Otites parasitárias por nematóides rabditiformes em bovinos: avaliação de tratamentos. **Ciência Animal Brasileira**, v.2, n.1, p.51-55, 2001.

WALL, E.; WHITE, I.M.S.; COFFEY, M.P.; BROTHERSTONE, S. The relationship between fertility, rump angle, and selected type information in Holstein-Friesian cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.1521-1528, 2005.

TRATAMENTO CIRÚRGICO DA HÉRNIA INGUINO-ESCROTAL ESTRANGULATIVA EM EQUINO – RELATO DE CASO

Acadêmicos: Caroline Carvalho Campos e Juliana de Morais Silva
Orientador: Bruno Santos Cândido de Andrade

RESUMO

A síndrome cólica é uma condição muito comum na clínica médica equina, e mesmo com grandes desenvolvimentos para o tratamento, ainda assim apresentam-se grandes índices de mortalidade. A cólica em equinos é de causa multifatorial e o seu principal sinal clínico é a presença da dor abdominal, sendo o diagnóstico clínico muitas vezes um desafio para o médico veterinário. A hérnia inguinal ocorre ocasionalmente em garanhões e, se as vísceras estiverem encarceradas, resultam em sinais de cólica. O presente trabalho descreve o caso de um cavalo da raça Mangalarga Marchador que iniciou quadro clínico com sinais de dor abdominal no haras, foi encaminhado para o Hospital Veterinário, onde foi diagnosticada cólica por hérnia inguino-escrotal estrangulada. O termo hérnia inguinal se refere à passagem de parte do conteúdo abdominal através do canal inguinal. Quando o conteúdo herniário passa pelo canal inguinal e entra no escroto é denominada hérnia inguino-escrotal. Foi realizada laparotomia exploratória, desencarceramento de alça intestinal do jejuno, lavagem do cólon maior e herniorrafia, preservando-se ambos os testículos, para que o equino continuasse com sua atividade reprodutiva normal. Após 15 dias de internação o animal obteve alta, sem apresentar qualquer complicação no período pós-operatório, retornando para o haras de origem e para as suas atividades esportivas e reprodutivas, depois de um período de seis meses. Concluimos que quando o paciente portador da hérnia inguino-escrotal é tratado rapidamente e de forma correta, apresenta um excelente prognóstico.

PALAVRAS CHAVES: Cólica equina, hérnia, compactação, herniorrafia.

1. INTRODUÇÃO

A síndrome do abdome agudo (cólica) é a emergência mais comum na medicina equina, sendo que aproximadamente 4 a cada cem cavalos apresentam 1 episódio de cólica por ano (TRAUB-DARGATZ, 2001). O grande índice de mortalidade em equinos está associado com a isquemia intestinal, causando deterioração rápida da barreira intestinal, o que leva à absorção de lipopolissacarídeos de membranas de bactérias gram negativa que migram para a corrente sanguínea, causando um quadro de endotoxemia (GROSCHKE *et al.*, 2011).

A cólica equina é uma síndrome resultante de afecções que acometem o aparelho digestório e têm relação com vários fatores, como por exemplo, a produção

excessiva de gases no estômago, obstrução ou torção intestinal (CAMPELO e PICCININ, 2008) e a hérnia inguino-escrotal, que ocorre tipicamente em garanhões (MARIEN, 2001; ROSSIGNOL *et al.*, 2007; ROBINSON e CARMALT, 2009).

A cólica é caracterizada pela manifestação de dor, com mudanças no comportamento do animal, como rolar e se jogar no chão, deitar e levantar constantemente, olhar frequente e escoicear o abdômen. Tais alterações comportamentais caracterizam a “mímica da dor”, que é perceptível e facilitam reconhecimento de um animal com cólica. Entretanto, determinar a origem da dor é um desafio para os médicos veterinários, pois são múltiplas as desordens intestinais que desencadeiam esse problema (CAMPELO e PICCINI, 2008).

O veterinário deve examinar o equino na primeira visita, analisando criteriosamente os sinais clínicos para estabelecer o diagnóstico e indicar as opções de tratamento. Na avaliação do paciente deve-se levar em consideração o histórico e exame físico completo, como parâmetros vitais, palpação transretal e intubação nasogástrica, com intuito de descomprimir o estômago e avaliar a presença de refluxo de origem do intestino delgado. Esse acervo de informações fornece o que é preciso para determinar a necessidade do encaminhamento para um centro de tratamento mais adequado. Encaminhar o paciente não é somente necessário em casos de intervenção cirúrgica, mas também para tratamento médico intensivo avançado, incluindo monitoramento 24 horas, terapias diversas e administração de fluidos (COOK e HANSSEL, 2014).

A avaliação completa do equino com cólica permite a identificação precoce dos casos, direcionando para intervenção clínica ou cirúrgica. O encaminhamento precoce tem relação com melhor prognóstico, tornando o tratamento menos oneroso para o cliente ao permitir a intervenção enquanto o cavalo está sistematicamente estável e as lesões intestinais são menos intensas, o que diminui o índice de morbidade e mortalidade (SOUTHWOOD *et al.*, 2010).

Este trabalho tem como objetivo relatar o caso de um equino que foi atendido no Hospital Veterinário da Faculdade Univértix, Campus Matipó, que apresentou um episódio de cólica, devido a hérnia inguino-escrotal estrangulativa, e que foi submetido ao tratamento cirúrgico, preservando-se ambos os testículos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ANATOMIA

2.1.1 APARELHO DIGESTÓRIO

Os equinos possuem algumas particularidades anatômicas em seu aparelho digestório que, devido a manejos inadequados para a espécie, predispõem a alterações no aparelho digestório, responsáveis por sinais de dores abdominais intensas, conhecidas como síndrome cólica (FEITOSA, 2004).

Assim como em todos os animais, o aparelho digestório tem início na boca, que é composta por lábios, dentes, língua, glândulas salivares. O esôfago é um componente muscular, dotado de glândulas esofágicas, que se liga ao estômago, e possui esfíncter cárdico muito desenvolvido, delimitando o esôfago e impedindo a regurgitação dos alimentos ingeridos pelos equinos. Essa estrutura especializada explica o fato dos equinos não terem a capacidade de fazer êmese (PEDROSA, 2008).

O estômago do cavalo é do tipo simples, com capacidade de 5-15 litros, considerado pequeno para um animal de seu porte, pois é um animal andarilho que possui o hábito de se alimentar 18 horas por dias. Encontra-se na parte cranial da cavidade abdominal, inteiramente encoberto pela caixa torácica, principalmente à esquerda do plano mediano e, quando moderadamente preenchido, encontra-se disposto do 9º ao 14º espaço intercostal. Mesmo quando totalmente distendido o estômago permanece encoberto pela caixa torácica (BUDRAS *et al.*, 2005).

O intestino é subdividido em intestino delgado e grosso, sendo o intestino delgado dividido em duodeno, jejuno e íleo. O duodeno tem cerca de 1 metro de comprimento. Sua parte cranial começa no piloro, com ligeiro alargamento, formando uma flexura sigmóide, é denominado assim também como duodeno descendente e ascendente. Delimitando o duodeno e jejuno temos a região chamada de junção duodeno-jejunal. O jejuno tem aproximadamente 25 metros de comprimento e a sua maior parte reside próximo ao flanco esquerdo, ventral à entrada pélvica, e à esquerda do ceco. O íleo possui cerca de 80 cm de comprimento e logo após o jejuno, onde é caracterizado por um revestimento muscular grosso que tende a estreitar o lúmen (REECE, 2008).

O intestino grosso dos equinos é bem complexo, devido à sua forma e suas flexuras, pois é composto por três partes: ceco, cólon e reto. O ceco expansivo e partes do cólon permitem a estase da ingesta para facilitar a digestão microbiana. O ceco consiste em base, corpo e ápice e tem cerca de 1 metro de comprimento, com

capacidade de 35 litros. A base do ceco ocupa o flanco direito e estende-se crânio-medialmente sob a cobertura das últimas costelas. O cólon possui a porção ventral direita e esquerda e, entre elas, a flexura esternal; possui também a flexura pélvica que se encontra na região do flanco esquerdo, delimitando o cólon ventral esquerdo do dorsal esquerdo. Após o dorsal esquerdo temos a flexura diafragmática, que une o cólon dorsal direito com o esquerdo. Dando continuidade, encontramos a região do cólon transversal que criará a transição com o cólon menor e por fim o reto e o ânus (BUDRAS *et al.*, 2005).

2.1.2 ESCROTO

O escroto é um divertículo duplo, pré-púbico, que contém os testículos, seus ductos associados e a porção distal dos funículos espermáticos. É marcado na linha mediana pela rafe escrotal, que continua com a rafe do prepúcio e do períneo. Intimamente aderido à pele escrotal existe uma camada de tecido muscular liso, a túnica dartos. Esse músculo relaxa com o calor e se contrai com o frio, regulando a temperatura testicular, variando assim o tamanho do escroto. No plano mediano do escroto a túnica dartos envia um septo mediano, dividindo-o nos compartimentos direito e esquerdo, cada um contendo um testículo (KÖNIG e LIEBICH, 2004).

Na cavidade do escroto encontram-se os testículos, epidídimo, ligamento próprio do testículo, ligamento da cauda do epidídimo, parte do funículo espermático, músculo cremaster, anel inguinal externo, parte do canal vaginal, túnica visceral, e túnica parietal (BUDRAS *et al.*, 2005).

2.2 EPIDEMIOLOGIA

A maioria dos estudos epidemiológicos disponíveis sobre a síndrome foi realizada nos Estados Unidos (KAYA *et al.*, 2009). Em um desses estudos, Traub-Dargatz *et al.*, (2001), acompanharam uma população de 21.820 animais entre 1998 e 1999, mediante a utilização de levantamento de dados obtidos por meio do Sistema Nacional de Monitoramento da Saúde Animal (NAHMS, EUA), quando estimou-se a incidência anual de casos da síndrome cólica em 4,2 cólicas para cada 100 equinos/ano, com letalidade de 11%, sendo que 1,4% do total resultaram em cirurgia.

Pessoa *et al.*, (2012) fizeram um levantamento epidemiológico de quadros de cólica em um hospital veterinário de Campina Grande, em um período de 2001 a 2010.

Durante esse período verificou-se que os tipos de cólicas mais frequentes eram: compactação do cólon maior (37,14% dos casos cólica), seguido por compactação do cólon menor (17,14% dos casos de cólica), obstrução por corpo estranho no cólon menor, e cólica espasmódica; ainda acrescentam que, nos Estados Unidos, as compactações de cólon maior representam cerca de 13% e com letalidade de 20%.

O índice de letalidade do estudo foi de 61,43%, um índice bastante alto quando comparado com Estados Unidos, de 6,7%, e Canadá, com 34,4% (PESSOA *et al.*, 2012). Esses valores evidenciam a necessidade de melhoria nos serviços de emergência de síndrome cólica, pois o atendimento imediato dos casos de cólica por veterinários qualificados, com o tratamento e decisões adequadas, se conservador ou cirúrgico, certamente irão influenciar nos dados de incidência de cólica e taxa de óbito observado.

Hillyer *et al.*, (2001) relatam que a incidência de cólica varia de 3,5 a 10,6 casos para 100 cavalos, dentro de um ano, sendo 10 a 15% dos casos recorrentes, e alguns cavalos apresentam 3-4 cólicas por ano, e que cerca de 80 a 85% são interpretados como cólica simples, sem chegar a um diagnóstico específico. White *et al.*, (2005) acrescenta que 10% das cólicas são por compactações, e as obstruções ou lesões estrangulativas, que requerem cirurgia, constituem cerca de 2 a 4% dos casos de cólicas.

A maior incidência de hérnias inguinais em equinos é a hérnia congênita em potros com faixa etária de 3 a 6 meses (CARON e BRAKENHOFF, 2008) e a adquirida dos garanhões. A incidência da hérnia congênita é de 1,13/1000 casos de internação hospitalar; sendo que esse número de casos também está relacionado a certas linhagens de cavalos de raças puras, como o árabe, e acredita-se que a hérnia congênita tenha caráter hereditário (TEIXEIRA e SCHOSSLER, 1997).

2.3 ETIOLOGIA

A própria domesticação dos animais possibilita o aparecimento desta síndrome, pois a cólica é rara entre os cavalos que vivem em seu habitat natural, devido à frequência de ingestão de alimento e por percorrerem grandes distâncias durante todo o dia. A domesticação modifica esses hábitos, pois o cavalo passa a caminhar pouco e permanecer longos períodos em jejum, para depois se alimentar com ansiedade e compulsão. A maioria dos casos de cólica tem origem na alimentação irregular

(CAMPELO e PICCINI, 2008), mas Back *et al.*, (2013) relataram que a cólica é um dos maiores problemas na clínica equina, devido a causas multifatoriais.

Exemplos de causas conhecidas são parasitoses, especialmente *Strongylusvulgaris* e ascarídeos, excessos alimentares, mudanças brusca na dieta, sablose (ingestão de areia), enterólitos e alguns agentes infecciosos como a *Salmonellaspp* (PEDROSA, 2008).

2.4 FISIOPATOLOGIAS DAS OBSTRUÇÕES INTESTINAIS

As obstruções estrangulativas representam apenas 7,2% dos casos de cólica, no entanto, a taxa de óbito é alta, representando 71,5% dos casos (MARVAL *et al.*, 2007). Essas afecções são caracterizadas pela oclusão vascular, e podem ser exclusivamente venosas, arteriais ou ambas. A progressão do quadro clínico nos pacientes com lesões estrangulativas pode ser muito rápida, como resultado da hipovolemia e choque séptico (PEDROSA, 2008).

Obstrução simples é aquela que se refere à oclusão do lúmen intestinal sem interferência do suprimento sanguíneo do epitélio intestinal. O processo obstrutivo simples é causado por estase e timpanismo, bloqueio do lúmen por uma massa de ingesta ou por um corpo estranho, ou ainda por compressão externa do intestino por uma aderência, abscesso ou tumor (WHITE *et al.*, 2005).

A hérnia inguinal ocorre ocasionalmente em garanhões e, se as vísceras estiverem encarceradas, resultam em sinais de cólica (CARON e BRAKENHOFF, 2008), mas o grande problema está relacionado à isquemia da alça intestinal, causando necrose e levando ao quadro de endotoxemia e septicemia, podendo causar a morte do animal (TEIXEIRA e SCHOSSLER, 1997).

As obstruções simples podem acontecer em diversos segmentos intestinais, porém o duodeno é um local raro para obstrução intraluminal. Obstruções com digesta e helmintos ocorrem mais comumente no íleo, considerando que cólons maior e menor são mais comumente obstruídos por corpos estranhos e enterólitos (GILLEN *et al.*, 2015).

Segundo Rio Tinto *et al.*, (2000) isquemia é uma redução ou interrupção do fluxo sanguíneo, constituindo uma das principais causas de lesão tecidual. As alterações celulares estão relacionadas com a duração da isquemia e, quando prolongadas por longos períodos levam à necrose. Devido à lesão de mucosa, a isquemia se torna

grave no intestino, levando a efeitos intensos e complexos, por causa da absorção de endotoxinas e da ocorrência de distúrbios hidroeletrólíticos e no equilíbrio ácido-base, cujo tratamento é mais difícil que a correção dos distúrbios isquêmicos ou ressecção cirúrgica intestinal.

O fluxo sanguíneo quando interrompido provoca uma série de processos metabólicos e enzimáticos. As reservas de ATP são rapidamente depletadas, havendo acúmulo de lactato, tornando a célula acidótica e são ativadas proteases intracelulares. O objetivo terapêutico principal é restabelecer a reperfusão o mais rápido possível. Embora o benefício da reperfusão precoce seja inquestionável, a reintrodução do oxigênio em um meio isquêmico inicia uma corrente complexa de eventos, levando a lesões tissulares adicionais e a um acúmulo intracelular de cálcio. Os mecanismos do paradoxo do cálcio não são bem conhecidos, mas após a reperfusão há um maciço influxo de cálcio para dentro da célula, provavelmente por alteração da permeabilidade de membrana (RIO TINTO *et al.*, 2000).

A lesão de reperfusão é um termo usado para descrever as alterações, funcionais e estruturais, que se tornam aparentes durante o restabelecimento do fluxo após um período de isquemia (EVORA *et al.*, 1996).

2.5 HÉRNIA INGUINO-ESCROTAL

As hérnias inguinais congênitas são geralmente indiretas e identificadas nas primeiras horas após o nascimento, podendo se resolver espontaneamente em três ou quatro meses (TEIXEIRAS e SCHOSSLER, 1997).

Hérnia indireta, com passagem de vísceras através do canal vaginal, é mais comum em cavalos, em contraste com humanos, onde a hérnia direta é mais comum. A probabilidade da ocorrência de hérnia inguinal está relacionada com o tamanho do canal vaginal (ROSSIGNOL *et al.*, 2007; WILDERJANS *et al.*, 2010).

O termo hérnia inguinal se refere à passagem de parte do conteúdo abdominal através do canal inguinal. Quando o conteúdo herniário passa pelo canal inguinal e entra no escroto é denominada hérnia inguino-escrotal. Essa afecção pode ser classificada como congênita ou adquirida e ainda em direta ou indireta. Na hérnia indireta a víscera entra no canal vaginal, passando pelos anéis interno e externo, indo se localizar na cavidade inguinal, ao lado e em contato com o testículo; já na hérnia direta o conteúdo passa por uma falha do peritônio, atravessa os anéis inguinais interno

e externo, e se localiza na região inguino-escrotal por fora da túnica vaginal (TEIXEIRA e SCHOSSLER, 1997).

O tratamento cirúrgico é o mais indicado para a correção das hérnias inguinais adquiridas, estrangulativas ou não, sendo também recomendado nos casos de hérnias congênitas, quando não ocorre resolução espontânea até os seis meses de idade, ou quando há sinais de encarceramento ou desconforto abdominal.

A herniorrafia é a técnica utilizada para correção das hérnias inguino-escrotais, pois ela consiste no fechamento completo do anel inguinal externo com fios cirúrgicos e até mesmo telas. Existem também algumas manobras para o reposicionamento da alça intestinal para cavidade abdominal, mas ainda assim não é isenta de riscos e passível de recidivas (RIO TINTO, 2004).

Rio Tinto *et al.*, (2004) acrescentam que não é aconselhada a preservação dos testículos devido a possibilidade de complicações como edema, fibrose, necrose e hipoplasia testicular. Para que ocorra a espermatogênese normalmente é necessário que a temperatura testicular se mantenha 4°C abaixo da temperatura corporal, e levando em consideração o aumento da temperatura por causa da inflamação que ocorre no pós-cirúrgico, existe assim a possibilidade da degeneração testicular e também a redução do diâmetro do anel inguinal externo ou o edema nos tecidos vizinhos, o que poderia produzir compressão do funículo espermático, resultando em isquemia e degeneração testicular.

3. METODOLOGIA

3.1 RELATO DE CASO

Foi encaminhado para o Hospital Escola da Faculdade Vértice – UNIVÉRTIX, no município de Matipó-MG, um garanhão da raça Mangalarga Marchador, de 9 anos, pesando 365 kg, comum quadro de cólica e hérnia inguino-escrotal adquirida, que se iniciou pela manhã do dia 22/10/2014. Este animal se alimentava de capim picado e 4 kg de ração (15% de proteína bruta) duas vezes ao dia, encontrava-se vermifugado, com vacinação em dia, ausência de ectoparasitas e vivia em baia.

O animal foi atendido no haras por médico veterinário, que diagnosticou hérnia inguino-escrotal. Foi feita a reposição hidroeletrólítica, o controle da dor e lavagem gástrica para o encaminhamento ao HV-Univértix.

Ao chegar ao hospital, foram aferidos os parâmetros vitais, apresentando 92 bpm de frequência cardíaca, 36mrpm de frequência respiratória, 38°C de temperatura corporal, as mucosas se apresentavam ligeiramente hiperêmicas, o tempo de preenchimento capilar menor que 2 segundos, avaliando pela mucosa e boca e elasticidade da pele pode-se notar desidratação menor que 5%, pulso arterial normal e, na avaliação do abdômen, foi encontrada atonia intestinal sem distensão abdominal durante a auscultação. À palpação retal notou-se presença de alça intestinal encarcerada no canal inguinal direito, compactação nos cólons dorsal e ventral esquerdos e flexura pélvica, sem presença de refluxo nasogástrico e alças de intestino delgado distendidas em *loops*. Na avaliação do escroto, foi identificado um aumento de volume firme durante a palpação, e temperatura fria do lado direito devido à falta de circulação sanguínea no órgão, confirmando as suspeitas de hérnia inguino-escrotal pela palpação do escroto.

Para a cateterização da veia jugular foi realizada a tricotomia e antisepsia no local, utilizou cateter de poliuretano, com intuito de reposição hidroeletrólítica, administração de medicamentos e redução dos riscos de tromboflebite.

No pré-cirúrgico foi realizada a hidratação parenteral com soro Ringer Lactato devido a seu potencial de reposição de eletrólitos e correção do volume vascular e administração de fármacos antioxidantes, como vitamina C por via intravenosa (5 mg/kg/IV) e a vitamina E por via intramuscular (5mg/kg/IM), hidrocortisona (4mg/kg/IV) e dimetilsulfóxido (200mg/kg/IV), com o intuito de prevenir lesões de isquemia e reperfusão. A antibioticoterapia profilática empregada foi gentamicina (6,6 mg/kg/IV) e penicilina na dose de 22,000 UI/kg/IM.

O protocolo anestésico instituído para esse procedimento foi a detomidina (20mcg/kg/IV) como medicação pré-anestésica. Para indução foi administrado éter gliceril guaiacol (EGG) na dose de 25mg/kg/IV e seguido de cetamina (2 mg/kg/IV) e midazolam (0,03mg/kg/IV). Para manutenção anestésica e aporte ventilatório mecânico utilizou-se isoflurano e infusão contínua de dobutamina (0,05mg/kg/min/IV) durante o trans-cirúrgico com objetivo de melhorar a pressão arterial.

O tratamento instituído foi a celiotomia mediana exploratória, com uma incisão pré-umbilical de aproximadamente 20 cm, estendendo-se ao subcutâneo, muscular e peritônio, permitindo ampla exploração da cavidade abdominal. Para o desencarceramento da alça de intestino delgado do canal inguinal direito, procedeu-se

incisão de 8 cm de comprimento à região inguinal, sobreposta ao anel inguinal externo, aprofundada por divulsão roma até a túnica vaginal, que foi incisada em sua porção cranio-proximal, permitindo o acesso à alça encarcerada no espaço vaginal. A alça foi então manipulada através dos dois acessos para dentro da cavidade abdominal. Procedeu-se ordenha do intestino delgado do duodeno em direção ao íleo, com posterior avaliação das lesões no segmento encarcerado. Optou-se então pela enterectomia do segmento, medindo aproximadamente 2 metros de transição entre jejuno e íleo, seguida de anastomose término-terminal jejuno-íleo, com padrão de sutura Lambert contínuo em fio Poliglecaprone 2-0.

A herniorrafia do anel inguinal externo foi realizada com sutura de Sutan ("X") em fio de náilon 0,80, fechando-se 70% do anel do sentido cranial para o caudal. Após avaliação do testículo direito e não identificação de alterações que indicassem a necessidade da orquiectomia, a túnica vaginal foi fechada com padrão simples contínuo em fio Poliglecaprone 2-0, também utilizado para redução do espaço morto da região inguinal.

A exploração do restante da cavidade abdominal revelou a necessidade de exposição do cólon maior, realização de enterotomia da flexura pélvica e drenagem do conteúdo compactado.

Após o completo esvaziamento do cólon, procedeu-se a enterorrafia com padrão coaptante simples contínuo, seguido de sepultamento com Lambert contínuo, ambos os planos fechados com fio Poliglecaprone 0. Após reposicionamento das alças intestinais, procedeu-se a celiorrafia em 3 planos, com sutura simples contínua em fio de náilon 0,80 pela muscular, sutura simples contínua em fio Poliglecaprone 0 no subcutâneo e sutura de Colchoeiro em fio Náilon 2-0 para dermorrafia.

No pós-cirúrgico o animal foi mantido em hidratação parenteral com soro Ringer Lactato, em infusão contínua de lidocaína (0,05mg/kg/min/IV), cálcio (20 ml/h/IV) e potássio (0,03 mEq/kg/h/IV) para estimular a motilidade intestinal. A antibioticoterapia terapêutica foi à base de gentamicina (6,6mg/kg/IV/SID por 5 dias) e penicilina (22.000 UI/kg/IM/BID por 7 dias) para prevenção de infecções secundárias. Para o controle da dor foi administrado meloxicam (0,6 mg/kg/IV/ SID por 5 dias), flunixin meglumine na dose anti-endotoxêmica (0,25mg/kg/IV TID por 3 dias), ale, da terapia antioxidante com dimetilssufóxido (200 mg/kg/IV/SID por 8 dias). Os últimos medicamentos também contribuem para a prevenção de laminite em associação com a heparina (50 UI/kg/IV

SID por 3 dias), que também contribui para evitar aderências de vísceras na cavidade abdominal.

Foram também empregadas 48 horas de crioterapia nos dígitos do paciente como método de prevenção da laminite. A limpeza da ferida cirúrgica foi feita três vezes ao dia até a cicatrização. O animal foi submetido a jejum alimentar por 48 horas e, após esse período a alimentação foi reintroduzida de forma progressiva, administrando-se feno aos poucos até restabelecer a alimentação normal.

Após a alta do animal (15 dias internação) foram sugeridas recomendações de manejo, como o fornecimento de uma alimentação de concentrado de 1,5 kg/dia de ração Equitage Kiblets® (GUABI) divididos em 3 tratos de 0,5kg, volumoso fornecido à vontade em pastagem de tyfton novo e feno de alfafa 2kg/dia, e suplementação com mineral (Suplemento Mineral Kromium – Tortuga®) à vontade no cocho ou misturado à ração, óleo de canola (300ml, divididos em 3 tratos de 100ml por via oral, misturado à ração) e suplementação com Glicosol® (administrar 20 ml por via oral 1 vez ao dia) somente durante a fase de recuperação do animal. As atividades esportivas foram iniciadas após seis meses de recuperação.

O paciente não demonstrou nenhum tipo de complicação como íleo adinâmico, refluxo gastroesofágico e intestinal, infecção do sítio cirúrgico, laminite ou recidiva de cólica, havendo boa resposta à terapia instituída para o tratamento da hérnia inguino-escrotal adquirida.

4. DISCUSSÃO

Há muitos métodos de diagnóstico, técnicas anestésicas, cirúrgicas e terapia pós-operatória intensiva para o tratamento de cólica, porém o índice de mortalidade ainda permanece elevado. Considerando-se que os distúrbios digestivos de equinos favoreçam a transferência de bactérias e endotoxinas do lúmen intestinal para a corrente sanguínea, e contribuem para a manifestação de sinais sistêmicos diversos (FEITOSA, 2004). O animal foi diagnosticado com hérnia devido ao aumento de volume, na região escrotal e também aos sinais característicos de cólica como o ato de se rolar, escoicear o abdome, aumento da frequência cardíaca, direcionando o médico veterinário tomar uma decisão correta sobre o tratamento do animal.

A cateterização da veia jugular é um recurso indispensável para administração de fluidos e medicamentos, porém é um dos principais motivos para o desenvolvimento

da tromboflebite, pois alguns tamanhos e tipos de cateter têm influência no desenvolvimento da enfermidade. Os cateteres menos trombogênicos são de silicone, poliuretano, politetrafluoretileno, polietileno, polipropileno (DEARO, 2001), sabendo que foi usado o poliuretano por durante 5 dias e sem presença de tromboflebitas, uma afecção que interfere na recuperação do animal, com capacidade de levar o prognóstico do animal para desfavorável.

Silveira, (2012) relataram que um dos tratamentos mais usados nas síndromes cólicas é a fluidoterapia, que tem o propósito da hidratação para reposição e a manutenção da volemia e da homeostase. Portanto a fluidoterapia empregada no momento do atendimento, foi de suma importância pois o animal chegou hidratado pronto para o procedimento cirúrgico, possibilitando melhor prognóstico.

A reposição mais rápida de fluido é pela via parenteral porém essa via pode trazer algumas complicações quando não utilizada de forma correta, ou seja, propiciando o desenvolvimento de tromboflebitas. Um dos métodos de prevenção para a tromboflebite e a antissepsia no local de inserção fazendo também a tricotomia, diminuindo a contaminação para dentro dos vasos (DEARO, 2002).

Os fluidos são classificados em cristaloides e coloides, dentre eles o mais utilizado são os cristaloides, pois fornece a correção de volumes vasculares, reposição de eletrólitos, fornecimento de energia e equilíbrio ácido-básico (DEARO, 2002), já os colóides são moléculas mais pesadas e exerce a função semelhante à das proteínas plasmáticas, permanecendo dentro do vaso aumentando a pressão oncótica (BELLI *et al.*, 2008). A escolha de Ringer Lactato foi devido ao animal apresentar normoproteinemia, e por ele ser levemente alcalinizante em quadros sistêmicos. Segundo Cosenza *et al.*, (2013) dentre as opções de soluções eletrolíticas para administração intravenosa a solução de Ringer Lactato seria a melhor forma de corrigir a desidratação, os desequilíbrios eletrolíticos e da acidose metabólica.

A infusão contínua de lidocaína tem demonstrado resultados como efeito pro-cinético na diminuição da recuperação intestinal pós-cirúrgica. O mecanismo de ação pode ser inibição dos efeitos simpático-adrenal com consequente redução dos níveis de catecolaminas circulantes, supressão da atividade dos neurônios aferentes primários envolvidos no reflexo inibitório da motilidade, estimulação direta da musculatura lisa, efeitos anti-inflamatórios diretos na inibição da resposta celular inflamatória e liberação de radicais livres (HARVEY *et al.*, 2009).

O uso de flunixin meglumine na dose anti-endotoxêmica para prevenção de alguns problemas relacionado a endotoxemia, que é um fator comum que estar presente na síndrome do abdome agudo. A endotoxemia pode ocorrer em vários animais, principalmente equinos que tiveram um episódio de cólica. Esse evento pode desencadear diversas outras patologias como laminites, tromboflebitas, e até mesmo levar o animal ao choque (FERREIRA, 2009). Entretanto, foram administrados drogas com fins profiláticos destas afecções a qual obteve-se êxito.

Ratnam *et al.*, (2006) afirmaram que os antioxidantes têm recebido uma grande atenção pelo seu potencial terapêutico, em situações relacionadas à produção de radicais livres que causa efeitos deletérios nas células dos animais. Dentre as substâncias antioxidantes tais como enzima superóxido desmutase, dimetilsulfóxido, hidrocortisona e vitaminas C e E. A vitamina C se encarrega de reduzir os radicais de tocoperóxido e restauram suas atividades, além desses mecanismos, ela potencializa os efeitos da vitamina E (CATANIA, 2009). Cerqueira *et al.*(2007) afirmaram que a vitamina E é um potente antioxidante de membrana, pelo fato de reduzir os efeitos da peroxidação lipídica, capturando os elementos reativos de oxigênio e diminuindo a quantidade de peróxido lipídico que são tóxicos e destroem as células. No entanto, As vitaminas são fundamentais para o equilíbrio orgânico, que são responsáveis por manter as reações metabólicas celulares nos equinos, agindo como cofatores enzimáticos, modulando reações de acordo com a demanda de cada célula.

O dimetilsulfóxido (DMSO) é um anti-inflamatório com ação de neutralização de radicais superóxido, estabilização de membranas lisossomais, inibição da quimiotaxia de neutrófilos, da agregação plaquetária e da proliferação de fibroblastos (PAGLIOSA, 2009). Rio Tinto (2004) acrescentaram com sua pesquisa o uso de hidrocortisona para prevenção de lesões na reperfusão intestinal e concluiu que, esse medicamento poderia ser implementado na rotina para tratamento de equinos portadores de abdome agudo. Pode-se considerar que a hidrocortisona tenha produzido efeitos benéficos sobre o tecido laminar dos equinos pelo fato de que os glicocorticoides reduzem a produção do fator de necrose tumoral e das interleucinas 1α e 1β . Faleiros (2003) descreve que em modelo de distensão de cólon maior, a hidrocortisona reduziu a hemorragia, o infiltrado de neutrófilos e o edema de serosa durante a reperfusão.

A celiotomia mediana é a via de acesso mais utilizada nas cirurgias em equinos com cólica, permitindo a maior área de inspeção dos órgãos abdominais. Devido à

natureza fibrosa e escassez vascular da linha alba, há menor hemorragia durante a incisão e maior resistência às forças de tensão da sutura e peso das vísceras abdominais durante a cicatrização (PAGLIOSA, 2004). Sendo assim, não houveram nenhuma complicação durante o procedimento, ou no pós-operatório

.A decisão da seguinte técnica aplicada pelo cirurgião para correção da hérnia inguino-escrotal preservando os testículos, foi tomada através da avaliação do órgão que se apresentava viável de acordo com sua coloração e perfusão tecidual e o tempo que o animal foi submetido ao procedimento cirúrgico. Porém Robinson *et al.*, (2009) e Caron e Brakenhoff, (2008) afirmaram que não é recomendável fechar o anel inguinal sem castração pois propicia diversas complicações como inchaço, distúrbios, recorrência de hérnia, hipoplasia e fibrose testicular. Rio Tinto, (2004) afirmaram que nos casos de hérnias inguiniais encarceradas, há compressão sobre o cordão espermático e o testículo, resultando em isquemia, necrose testicular sendo necessária a realização de orquiectomia. Quando não há o encarceramento, o testículo geralmente é viável. Neste caso, o equino não apresentou complicações no seu pós-operatório, podendo voltar à reprodução.

O Íleo adinâmico de pós-operatório, uma alteração transitória da motilidade gastrointestinal, é uma causa frequente de atraso no retorno à motilidade intestinal normal devido ao uso de anestésicos que inibem a despolarização da membrana ao interferirem nos canais de sódio de todas as fibras neuronais de uma forma dose-dependente não seletiva, ou seja, começam por inibir as fibras após a cirurgia abdominal, enquanto o intestino delgado demora algumas horas a se normalizar, o estômago e o colón demoram em torno de 24 a 48 horas e 48 a 72 horas respectivamente (GOULART & MARTINS, 2010), o animal não mostrou nenhum problema relacionado a recuperação intestinal, pois foi feita infusão contínua de lidocaína com a finalidade da prevenção desta condição.

A crioterapia é uma técnica promissora para prevenção das laminites, pois promove vasoconstrição diminuindo a chegada de toxinas bacterianas nos vasos das lâminas dérmicas. Outro fator é a redução das citocinas pró-inflamatórias e inibição do fator de isquemia, que causaria necrose nas lâminas dérmicas do casco. Isso explica o fato da utilização da crioterapia durante o período de 48 horas nesse animal, pois como foi feito enterotomia, enterectomia e enteronastomose houve a migração de toxinas

para corrente sanguínea como descreve Feitosa *et al.*, (2004) logo acima, a qual o animal não teve nem um sinal que demonstraria causa de laminite.

5. CONCLUSÃO

Concluimos que quando o paciente portador da hérnia inguino-escrotal é tratado rapidamente e de forma correta, apresenta um excelente prognóstico. No presente relato de caso afirma que devido ao rápido diagnóstico foi possível a preservação de ambos os testículos.

6. REFERÊNCIAS

BACK, H.; NYMAN, A.; LIND, E. O. The association between *Anoplocephalaperfoliata* and colic in Swedish horse – A case control study. **Veterinary Parasitology**.v.197, p.580-585, 2013.

BELLI, C. B.; MICHIMA, L.E.S.; LATORRE, S.M.; FERNANDES, W.R. Solução concentrada de albumina equina na fluidoterapia em equinos com desidratação leve a moderada. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**. v.60, n.1, p.30-35, 2008.

BUDRAS, K. D.; SACK, W. O.; ROCK, S. **Anatomy of the horse**. 4, Editora Schlutersche, p.64-86 2005

CATANIA, A. S.; BARROS, C. R.; FERREIRA, S. R.G. Vitaminas e minerais com propriedades antioxidantes e risco cardio metabólico: controvérsias e perspectivas. **Arq Bras Endocrinol Metab**. São Paulo. 2009

CAMPELO, J.; PICCININ, A. Cólica Equina. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**.n.10, p.1679-7353, 2008.

CARON, J. P.; BRAKENHOFF, J. Intracorporeal suture closure of the internal inguinal and vaginal rings in foals and horses. **Veterinary Surgery**.v.37, p. 126-131, 2008.

CERQUEIRA, F.M.; MEDEIROS, M.H.G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v.30, p.441-449, 2007

COOK, V. L.; HANSSEL, D. M.; Evaluation of the colic in horses. **Veterinary Clinics: Equine Practice**. n.2, v.30, pg. 383-398, 2014.

COSENZA, M.; PEREIRA, P. F. V.; FERNANDES, L. I.; DEARO, A. C. O.; FLAIBAN, K. K. M. C.; LISBÔA, J. A. N. Efeito da solução de Ringer com lactato sobre os equilíbrios hidroeletrólítico e ácido base de equinos, ovelhas e bezerros sadios. **Ciência Rural**, Santa Maria. v.43, n.12, p.2247-2253, dez, 2013.

DART, A. J.; HODGSON, D. R. Role of prokinetic drugs for treatment of postoperative ileus in the horse. **Australian Veterinary Journal.**, v.76, n.1, p.25-31, 1998.

DEARO, A. C. O. Fluidoterapia em grandes animais - Parte II: quantidade e vias de administração. **Continuous Educacion Journal**. v.4. São Paulo, 2001.

DEARO, A.C.O. Fluidoterapia e transfusão sanguínea. In: Andrade, S.F. **Manual de terapêutica veterinária**. 2. ed. p.486-491. São Paulo: Roca, 2002.

EVORA, P. R. B.; PEARSON, P. J.; SECCOMBE, J. F.; SCHAFF, H. V. Lesão de Isquemia-Reperusão. Aspectos Fisiopatológicos e a Importância da Função Endotelial. **Arq Bras Cardiol**. São Paulo. v.66, n.4, 1996.

FALEIROS R.R. **Obstrução experimental do cólon menor equino: aspectos clínicos, patológicos e terapêuticos**. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2003.

FEITOSA, F.L.F. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico**. São Paulo: Roca, p.139-175, 2004.

FERREIRA, C.; PALHARES, M. S.; GHELLER, U. P.; BRAGA, V. A.; EUSTÁQUIO, C.. Cólicas por Compactação em Equinos: Etiopatogenia, Diagnóstico e Tratamento. **Revista Acta Veterinaria Brasilica**, v.3, n.3, p.117 – 126, 2009.

GILLEN, A. M.; CATTLEY, R. C.; MUNSTERMAN, A. S. Proximal Duodenal Obstruction Caused by a Trichophytobezoar in a Horse. **Journal of Equine Veterinary Science**. v.35, n.9, p. 768-772, 2015.

GOULART. A.; MARTINS, S. íleo paralitico pós-operatório: fisiopatologia, prevenção e tratamento. **Rev. Port. Coloproct**. p.60-67. 2010.

GROSCHE, A.; MORTON, A. J.; GRAHAM, A. S.; SANCHEZ, L. C.; BLIKSLAGER, A. T.; POLYAK, M. M.; FREEMAN, D. E.; Ultrastructural changes in the equine colonic mucosa after ischaemia and reperfusion. **Equine Veterinary Journal**. v.43 p.8–15, 2011.

HARVEY, K.P.; ADAIR, J. D.; ISHO, M.; ROBINSON, R. Can intravenous lidocaine decrease postsurgical ileus and shorten hospital stay in elective bowel surgery? A pilot study and literature review. **American Journal Surgery**. v.198, p.231-236, 2009.

HILLYER, M.H.; TAYLOR, F.G.; FRENCH, N.P. A cross-sectional study of colic in horses on thoroughbred training premises in the British Isles in 1997. **Equine Veterinary Journal**. v.33, p.380–385, 2001.

JONES, S. L. Treatment of acute and chronic gastrointestinal inflammation. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**. v.19, n. 3, p.697-714, 2003.

KAYA G, SOMMERFELD-STUR I, IBEN C. Risk factors of colic in horses in Austria. **Journal Animal Physiologi Animal Nutritive**. v.93, p.339-49, 2009.

KONIG, H.E.; LIEBICH, H.G. **Anatomia dos animais domésticos. Órgãos e sistemas. Texto e atlas colorido**. v.2. Porto Alegre. 2004.

MARIEN, T. Standing laparoscopic herniorrhaphy in stallions using cylindrical polypropylene mesh prosthesis. **Equine Veterinary Journal**. n.1, v.33, p.91-96, 2001.

MARVAL, C. A.; MATOS, M. R. F.; ANDRADE, V. G.; LEAL, B. B.; ALVES, G. E. S.; OLIVEIRA, H. P.; FALEIROS, R. R. Obstrução estrangulada de jejuno como complicação pós-operatória de ressecção do cólon maior equino: relato de caso. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**. v.59, n°.3, p.641-646, 2007.

PAGLIOSA, G. M.; ALVES, G. E. S. Fatores predisponentes das complicações incisionais de laparotomias medianas em equinos. **Ciência Rural**. v.34, n.5, p.1655-1659, set-out, 2004.

PAGLIOSA, G. M. **Lesões decorrentes de obstruções experimentais no jejuno de equinos tratados com glutamina ou associação de succinato de sódio de hidrocortisona, dimetilsulfóxido, pentoxifilina e ácido ascórbico**. Tese doutorado Universidade Federal de Minas Gerais- Escola Veterinária, p.24, 2009.

PEDROSA, A. R. P. A. A. Cólicas em equinos: Tratamento médico VS cirúrgico – critérios e decisão. **Dissertação de mestrado integrado em Medicina Veterinária**, Lisboa. 2008

PESSOA, A. F. A.; NETO, E. G. M.; PESSOA, C. R. M.; SIMÕES, S. V. D.; AZEVEDO, S. S.; CORREA, F. R. Abdômen agudo em equídeos no semiárido da região Nordeste do Brasil. **Pesq. Vet. Bras**. v.32. n.6. Rio de Janeiro. Junho. 2012.

RATNAM, D. V.; ANKOLA, D. D.; BHARDWAJ, V.; SAHANA, D. K.; KUMAR, M. N. V. R. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: **A pharmaceutical perspective. Journal of Controlled Release**.v.113.n.3.p.189-207. July.2006.

REECE, W.O. **Anatomia funcional e fisiologia dos animais domésticos**. 3 ed. São Paulo-SP. Editora Roca. 2008.

RIO TINTO, J. J. M.; ALVES, G. E. S.; FALEIROS R.R.; JUNIOR, A. P. M. Lesões de isquemia e reperfusão no intestino de equinos: fisiopatologia e terapêutica. **Ciência Rural**. v.30, n.6, p.1083-1093, 2000.

RIO TINTO, J. J. M.; ALVES, G. E. S.; SANTOS, R. L.; FALEIROS, R. R.; MARQUES JUNIOR, A. P.; MELO, E. G. Fechamento parcial do anel inguinal externo em equinos: avaliação pós-operatória e influência na morfologia testicular. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**. n.6. v. 56, p.715-722, 2004.

ROBINSON, E.; CARMALT, J. L. Inguinal herniation of the ascending colon in a 6-month-old standardbred colt. **Veterinary Surgery**.n.38, pg.1012-1013, 2009.

ROSSIGNOL, F.; PERRIN, R.; BOENING, K. J. Laparoscopic Hernioplasty in Recumbent Horses Using Transposition of a Peritoneal Flap. **Veterinary surgery**. nº36, pg. 557-562, 2007.

SILVEIRA. C. O.; RIBEIRO FILHO, J. D.; CRUZ, A. L.; MENESES, R. M.; DANTAS, W. M.F.; GUIMARÃES, J.D. Avaliação de equinos submetidos à hidratação enteral com soluções eletrolíticas isotônicas contendo diferentes fontes de energia de cálcio. **Archives of Veterinary Science**.v.7.n.1. p.22-31. 2012.

SOUTHWOOD L. L.; GASSERT, T.; LINDBORG, S. Colic in geriatric compared to mature nongeriatric horses. Part 2: treatment, diagnosis and short-term survival. **Equine Veterinary Journal**. v.42. p.628–635, 2010.

TEIXEIRA, M. W.; SCHOSSLER, J. E. Herniorrafia inguinal em potro neonato. **Ciência Rural**. n.1, v.28, p. 143-146, 1997.

TRAUB-DARGATZ, J. L.; KOPRAL, C. A.; SEITZINGER, A. H.; GARBER, L. P.; FORDE, K.; WHITE, N. A. Estimate of the national incidence of and operation-level risk factors for colic among horses in the United States, spring 1998 to spring 1999. **Journal American Veterinary Medical Association**.n1, v. 219 pg. 67–71, 2001.

WHITE, N.A.; ELWARD, A.; MOGA, K.S.; WARD, D.L.;SAMPSON, D.M. Use of web-based data collection to evaluate analgesic administration and the decision for surgery in horses with colic. **Equine Veterinary Journal**. p.347-350, 2005.

WILDERJANS, H.;MEULYZER, M.; SIMON, O. Standing laparoscopic peritoneal flap hernias plastytechnique for preventing recurrence of acquired strangulating inguinal herniation in stallions. **Veterinary Surgery**, v.41, p. 292-299, 2010.

