



FACULDADE VÉRTICE – UNIVÉRTIX

SOCIEDADE EDUCACIONAL GARDINGO LTDA. – SOEGAR

TRABALHOS DE CONCLUSÃO DE CURSO

MEDICINA VETERINÁRIA – 2018/1



**COORDENAÇÃO DE CURSO: PROF. D. SC. GILBERTO VALENTE MACHADO.
PROFESSORA RESPONSÁVEL: PROF^A. M. SC. RENATA APARECIDA FONTES.
MATIPÓ, 2018.**

SUMÁRIO

Alterações clínicas e laboratoriais em exames pré-anestésicos de cães e gatos encaminhados para cirurgias eletivas no Hospital Veterinário da UNIVERTIX-MG	3
Avaliação cardiovascular de cães acima de 8 anos, atendidos no Hospital Escola Veterinário Gardingo Ltda, Matipó - MG (Agosto/17- Dezembro 2017)	18
Avaliação da atividade antimicrobiana da água de prata coloidal frente à <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo e <i>Salmonella</i> spp.	34
Avaliação da atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> do extrato de <i>Punica granatum</i> contra <i>Salmonella</i> spp	50
Avaliação da composição bromatológica da silagem de cana-de-açúcar utilizando diferentes aditivos	66
Avaliação da eficácia de medicamento homeopático no tratamento de mastite bovina subclínica	80
Avaliação da qualidade da água para consumo animal na Zona Rural da cidade de Matipó/MG	98
Avaliação da qualidade microbiológica de queijos muçarela comercializados na cidade de Matipó, Minas Gerais	117
Avaliação da resposta superovulatória com e sem a utilização de somatotropina recombinante bovina em novilhas da raça holandesa	133
Avaliação do estágio de desenvolvimento e grau qualidade de embriões bovinos produzidos <i>in vivo</i>	150
Avaliação hematológica e bioquímica renal e hepática em cadelas com piometra	166
Avaliação microbiológica da carne bovina moídas comercializada nas cidades de Matipó e Manhuaçu, Minas Gerais	186
Avaliação oftalmológica em cães geriátricos atendidos no Hospital Veterinário Gardingo	204

Avaliação dos níveis de lactato sanguíneo em equinos da raça mangalarga marchador submetidos a prova de marcha	221
Comparação dos valores de glicose do sangue capilar e venoso em cães por meio do glicosímetro portátil humano e método enzimático-colorimétrico	237
Comparação entre clorexidina e <i>Aloe vera</i> na cicatrização de feridas abertas provocadas cirurgicamente em coelhos	255
Condenação de carcaças bovinas em abatedouro frigoríficos localizados em Minas Gerais	271
Contaminação de carcaças suínas por <i>Salmonella</i> spp em abatedouro frigorífico localizado em Minas Gerais	291
Efeitos sedativos e cardiorrespiratórios da dexmedetomidina isolada ou em associação com a meperidina em cães	307
Eficácia terapêutica da <i>Geissospermum vellosii</i> no controle de <i>Rhipicephalus microplus in vitro</i>	324
Incidência de infecção de sítio cirúrgico em animais no Hospital Veterinário da UNIVÉRTIX	341
Isolamento de <i>Salmonella</i> spp. em granja do município de Santa Bárbara do Leste - MG	356
Leishmaniose Visceral Canina: relato de caso de um cão atendido em Manhuaçu-MG	371
Lesões pulmonares em suínos abatidos em estabelecimento sob Serviço de Inspeção Federal na Zona da Mata Mineira	390
Avaliação eletrocardiográfica de cães de Agility e Guarda antes e após atividade física	406
Sincronização de receptoras para transferência de embriões bovinos produzidos in vivo em tempo fixo	423
Utilização de ECG e FSH no protocolo hormonal para IATF em novilhas da raça Guzerá criadas no Vale do Rio Doce	438

ALTERAÇÕES CLÍNICAS E LABORATORIAIS EM EXAMES PRÉ-ANESTÉSICOS DE CÃES E GATOS ENCAMINHADOS PARA CIRURGIAS ELETIVAS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNIVÉRTIX-MG

Acadêmicos: Gleison Aleixo Estevão e Isadora Machado Ferreira

Orientador: Vanessa Guedes Pereira

RESUMO

A anamnese e exame físico são peças fundamentais para seleção de determinados exames pré-operatórios que correspondem o primeiro contato do Médico Veterinário com o paciente. A avaliação pré-anestésica é uma etapa importante da anestesia e visa minimizar as complicações e aumentar a segurança anestésica. O objetivo do estudo foi avaliar os achados clínicos e laboratoriais de cães e gatos submetidos as cirurgias eletivas no Hospital Veterinário da UNIVÉRTIX-MG, visando identificar as alterações mais comuns, bem como aumentar a segurança anestésica desses pacientes. As principais alterações no exame físico pré-cirúrgico foram à taquicardia, taquipneia, bradipneia, hipertermia e hipotermia. No exame laboratorial foram constatadas a presença de anemia, leucocitose, trombocitopenia e hiperproteinemia. Conclui-se com este trabalho que a avaliação física do paciente, bem como, os exames laboratoriais solicitados na avaliação pré-anestésica, é importante para a identificação de alterações em animais encaminhados para cirurgias eletivas, visto que foram observadas alterações nos exames clínicos laboratoriais. Por este motivo, os exames físicos associados aos exames laboratoriais apresentam grande influência sobre a conduta anestésica, assim como o transoperatório e prognóstico do paciente.

PALAVRAS-CHAVES: Pré-anestesia; Hemograma; Frequência cardíaca; Anamnese.

1. INTRODUÇÃO

A avaliação pré-anestésica tem como finalidade identificar e diagnosticar enfermidades que possam comprometer o funcionamento do organismo do animal diminuindo assim o risco anestésico e aumentando o sucesso cirúrgico (VAN KLEI *et al.*, 2002). Além disso, esta importante etapa da anestesia tem papel fundamental na escolha do protocolo anestésico do paciente (LACERDA *et al.*, 2010).

A anamnese e o exame físico são peças fundamentais para a seleção de determinados exames pré-operatórios (MATHIAS e GOZZANI, 2006) e correspondem ao primeiro contato entre o médico veterinário e o paciente, onde serão coletadas informações sobre a idade, o sexo, raça, bem como, serão analisadas as condições físicas e doenças pré-existentes, informações importantes para o preparo da anestesia (FENNER, 2003). Para a realização dos exames pré-operatórios, exames hematológicos como hemograma, testes da função renal e hepática são os mais solicitados (THRALL *et al.*, 2007).

O hemograma refere-se à testes laboratoriais utilizados para analisar as células contidas no sangue, incluindo quantidade e morfologia de eritrócitos, leucócitos e plaquetas (SINK e FELDMAN, 2006). Este exame é indicado para todos os pacientes pré-operatórios independente de sua idade e corresponde à um importante teste de triagem e solicitação de outros exames complementares (REBAR *et al.*, 2003).

Considerando que as maiorias dos fármacos, incluindo os anestésicos gerais, são metabolizados no fígado e excretados por via renal, outros exames importantes são os testes da função renal e hepática (LAVOR *et al.*, 2004). Para o teste de função renal, são realizados testes sanguíneos, onde são dosadas a ureia e a creatinina, podendo incluir ainda a urinálise (DUNN, 2001). Já para os ensaios enzimáticos hepáticos utilizados como prova da função hepática que normalmente são dosados incluem a alaninoaminotransferase (ALT), aspartatoaminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA) e gamaglutamiltranspeptidase (GGT) (CRIVELLENTI, 2015).

Sendo assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar os achados clínicos e laboratoriais de cães e gatos submetidos a cirurgias eletivas no Hospital Veterinário da UNIVÉRTIX – MG, visando identificar as alterações mais comuns, bem como aumentar a segurança anestésica destes pacientes.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Avaliação pré-anestésica

A avaliação pré-anestésica compreende uma etapa importante da anestesia e visa minimizar as complicações e conseqüentemente, aumentar a segurança anestésica (BRODBELT *et al.*, 2017). Segundo Massone (2011) devem ser avaliados os parâmetros vitais através do exame físico, bem como, realizar os exames complementares para identificar possíveis alterações que coloquem a vida do animal em risco e prever possíveis complicações perianestésicas.

Os fármacos anestésicos causam depressão cardiopulmonar e a presença de patologia pré-existente está relacionada a maiores distúrbios fisiológicos intraoperatórios, por este motivo, anormalidades hematológicas e bioquímicas também devem ser avaliadas, incluindo a presença de anemia, hipoproteinemia, alterações na glicemia, concentração de ureia e creatinina e dosagem de enzimas hepáticas (MASSONE, 2011).

2.1.1. Anamnese

A anamnese é composta pela queixa principal do proprietário, o histórico do animal, sinais clínicos, exame clínico e inspeção (FEITOSA, 2014).

A anamnese é o primeiro passo para uma avaliação pré-operatória, onde são avaliados fatores como: idade, sexo, raça, condições físicas e doenças pré-existentes. Além disso, para minimizar erros no exame clínico, deve-se avaliar o histórico do animal, o ambiente e os sinais clínicos do animal (RADOSTITS *et al.*, 2003).

O objetivo da anamnese é estabelecer uma relação entre o proprietário e o veterinário, conhecer a história clínica e fatores pré-existentes dos pacientes, anotar aspectos importantes, obter uma estratégia junto com exames complementares e fornecer um tratamento em função do diagnóstico e estado do animal (FEITOSA, 2014).

A presença de doença neurológica pode ser relevante, principalmente a ocorrência de convulsões e patologias medulares que podem sensibilizar os anestésicos gerais e deprimir a ventilação e a função cardiovascular. Sendo, assim, o uso de medicamentos que podem interferir na escolha do protocolo anestésico e informações sobre o uso de ansiolíticos, anticonvulsivantes, vasodilatadores e digitálicos, devem ser pesquisadas (RADOSTITS *et al.*, 2003).

2.1.2. Exame físico geral

O exame físico é uma abordagem geral do paciente, com informações diferentes entre raças. O exame clínico é detalhado e consiste na inspeção, palpação e avaliação dos parâmetros vitais (RADOSTITS *et al.*, 2003).

O exame físico é uma parte do exame clínico que resulta da coleta de dados e dos sinais por métodos físicos como inspeção, observação, percussão, auscultação e olfação (FEITOSA, 2014).

Na inspeção são observadas alterações no comportamento, nível de consciência do animal, além da postura e estado nutricional. Deve-se realizar também, em cada região corporal, como cabeça, pescoço, tórax, movimentos respiratórios, abdômen e membros, buscando identificar alterações, incluindo sinais de dor. Posteriormente, são avaliados os parâmetros vitais, incluindo temperatura, pulso, frequência cardíaca e respiratória, hidratação, além dos demais órgãos e sistemas, como o gastrintestinal, urinário reprodutor, musculoesquelético, além da inspeção da pele e cavidade oral (RADOSTITS *et al.*, 2003).

Para a avaliação da função cardíaca realiza-se a auscultação para indicar a frequência cardíaca, bem como o ritmo cardíaco, o funcionamento das bulhas cardíacas e a presença de sons anormais, buscando identificar, taquicardia, bradicardia, arritmias (RADOSTITS *et al.*, 2003). Como pacientes idosos são predispostos a cardiopatias, é recomendado para estes pacientes o uso de exames de imagens e eletrocardiograma (FENNER,2003).

Na avaliação da frequência respiratória devemos contar o número de respirações por minuto. A frequência respiratória normal em cães e gatos é de 20 movimentos por minuto (mpm), sendo as alterações mais comuns a taquipneia (aumento da frequência respiratória), a bradipneia (diminuição da frequência respiratória), ou a apneia (ausência total de respiração). A respiração ofegante em cães e gatos pode ocorrer como mecanismo termorregulador (FEITOSA, 2014).

O exame de mucosa é extremamente importante porque pode indicar a saúde geral do animal. As mucosas devem ser avaliadas quanto a coloração, o tempo de preenchimento capilar e a presença de lesões aparentes (HOUSTON *et al.*, 2003). Pacientes anêmicos podem apresentar mucosas hipocoradas, pacientes com distúrbios cardiopulmonares podem apresentar mucosas cianóticas, pacientes com sepse e toxemia podem apresentar mucosas congestionadas, enquanto que pacientes com icterícia apresentam mucosas amareladas (FENNER, 2003). O tempo de preenchimento capilar considera o estado circulatório do animal e é avaliado na mucosa oral próximo aos dentes incisivos e alteração de TPC é consequência de desidratação ou vasoconstrição (FEITOSA, 2014).

A hipotermia é umas das principais complicações anestésicas (BRODBELT *et al.*, 2017), por este motivo, a avaliação da temperatura corporal no período peri-anestésico é imprescindível. A temperatura corporal pode ser aferida com termômetros digitais ou de mercúrio, sendo que a temperatura normal de cães é de 37,8 a 39,3°C e a de gatos de 38 a 39,2°C (HOUSTON *et al.*, 2003). Em pacientes pré-cirúrgicos a temperatura retal deve estar normotérmico (FENNER, 2003).

2.1.3. Exames laboratoriais pré-anestésicos

Os exames pré-operatórios são comumente realizados para identificar alterações orgânicas que podem contribuir para o aumento da morbidade e mortalidade anestésica. No entanto, embora não exista dúvida de que análises bioquímicas e

hematológicas são importantes para certos grupos de pacientes, há dúvidas sobre sua necessidade para todos os pacientes, em particular animais saudáveis e que serão submetidos a por procedimentos eletivos (BRODBELT *et al.*, 2017).

2.1.3.1. Hemograma

As informações do eritrograma, leucograma e plaquetograma podem ser importantes nas doenças neoplásicas inflamatórias infecciosas e degenerativa, como também, em pacientes assintomáticos (JAIN, 1993).

Alterações hematológicas devem ser detectadas no período pré-anestésico pois a anemia pode reduzir a oxigenação tecidual predispondo a hipóxia, enquanto que a hipoproteïnemia pode aumentar a resposta dos fármacos que contem alta ligação às proteínas plasmáticas, podendo causar a ocorrência de efeitos adversos (BRODBELT *et al.* 2017).

O leucograma é um componente importante do hemograma, que demonstra o quadro leucocitário e o objetivo desse exame é fornecer dados calculados que caracterizam os leucócitos no sangue. Um aumento na concentração dessas células pode significar uma doença causada por aumento da produção, desvio no tipo celular, ou aumento da sobrevivência dessas células na circulação; condição contrária do caso de uma diminuição da produção. Outras doenças que podem causar neutropenia são: inflamação, infecção bacteriana e viral grave, destruição periférica, hipoplásica granulocítica entre outras (STOCKHAM e SCOTT, 2011).

A contagem de plaquetas é importante no exame pré-anestésico pois estas células são responsáveis pela manutenção do endotélio vascular, e em caso de trombocitopenia grave o endotélio torna-se fraco e as hemácias podem sair através da parede capilar resultado em hemorragias espontâneas, petéquias e equimoses. A função de reparo do endotélio lesado seria a que melhor explica a exigência desse exame em pacientes que serão submetidos a cirurgias eletivas, uma vez que nessa situação as plaquetas funcionam como parte importante do processo de coagulação (KERR, 2003).

2.1.3.2. Bioquímica sérica

Considerando que a maioria dos anestésicos e fármacos utilizados na anestesia são metabolizadas no fígado, a avaliação da viabilidade deste órgão é indispensável,

pois a anestesia e os agentes anestésicos podem interferir nas funções do fígado, podendo influenciar ou alterar a conduta da anestesia (LAVOR *et al*, 2004). Por este motivo, é solicitada a dosagem das enzimas AST, ALT, GGT e FA como prova de função hepática (CRIVELLENTI, 2015).

A ALT e a AST são enzimas intracelulares, ambas estão presentes no citosol dos hepatócitos. A AST encontra-se também em membranas das mitocôndrias (DIAL, 1995; THRALL, 2007). A ALT é uma enzima essencialmente hepatoespecífica para cães e gatos, sendo sua atividade sérica indicativa de degeneração hepatocelular ou necrose e, por este motivo, é considerada a melhor dosagem enzimática para detecção da lesão hepática (THRALL, 2007). A AST também é uma enzima de extravasamento, onde parte dela encontra-se livre no citoplasma dos hepatócitos, mas a maior parte concentra-se nas membranas das mitocôndrias (THRALL, 2007). Em cães e gatos a atividade sérica de AST ocorre em caso de degeneração de hepatócitos ou ainda na lesão da musculatura esquelética (DIAL, 1995), por este motivo a ALT muitas vezes é usada como único critério para diagnóstico de lesão dos hepatócitos (LASSEN, 2007).

A FA é uma enzima de indução, sintetizada no fígado, nos osteoblastos, no epitélio intestinal, renal e na placenta. Em cães a meia-vida de FA é de aproximadamente seis minutos e em gatos é de dois a cinco minutos. O aumento da produção e atividade pode ser notada em casos de maior atividade osteoblástica (THRALL, 2007).

A GGT é uma enzima de indução, é um dos mais comuns marcadores enzimáticos da colestase em pequenos animais, o aumento de GGT está associado a doenças hepatobiliares, ou uso de fármacos, como glicocorticoides e anticonvulsivantes (DIAL, 1995). Além disso, uma lesão hepática pode provocar aumento imediato da atividade sérica desta enzima, possivelmente devido a liberação de fragmentos de membrana que contêm GGT. Por ser uma enzima sintetizada por quase todos os tecidos corporais, com maior concentração no pâncreas e rins, a solicitação da dosagem de GGT é incomum para cirurgias eletivas, pois não são específicas (LASSEN, 2007).

Os rins desempenham importante papel na filtração, inativação e excreção de metabólitos derivados de fármacos anestésicos e outras drogas utilizadas no pré, trans e pós-operatório. Sendo assim os exames de função renal permite avaliar a aptidão de filtração glomerular, reabsorção e secreção tubular (THRALL *et al*, 2007). Os fármacos

anestésicos comumente diminuem o fluxo sanguíneo renal, a diurese e a excreção de eletrólitos (LAVOR *et al*, 2004).

Um dos parâmetros utilizados para avaliação da filtração glomerular é a concentração de ureia sanguínea, pois a maior parte da sua produção no organismo é eliminada na urina e a queda na taxa de filtração glomerular ocasiona a elevação sérica de ureia. Outros fatores que influenciam no teor de ureia sanguínea são desidratação, sangramentos gastrointestinais e alimentos ricos em proteína (KANEKO, 1997). O exame mais específico para avaliar a taxa de filtração glomerular é a dosagem da creatinina, por ser excretada especialmente pelos rins e não sofre muitas interferências extra renais. Pacientes magros e com pouca massa muscular apresentam queda da concentração de creatinina e isso deve ser considerado na interpretação do exame (STOCKHAM e SCOTT, 2011).

3. METODOLOGIA

O projeto foi desenvolvido no Hospital Veterinário da UNIVÉRTIX, onde foram analisados os exames clínicos e laboratoriais de 26 animais independente de raça, idade e sexo, sendo 21 de cães e 5 gatos que foram submetidos a cirurgias eletivas no período de setembro de 2017 a abril de 2018. Foram coletados dados das fichas pré-anestésicas e resultados de exames laboratoriais no banco de dados do Hospital Veterinário da UNIVÉRTIX.

No exame clínico foram avaliados os parâmetros pré-anestésicos como frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura corporal, coloração de mucosa.

Com relação aos exames laboratoriais foram avaliados o hemograma completo (eritrograma, leucograma e plaquetograma), dosagem de proteína total plasmática e a bioquímica sérica, incluindo a dosagem de ureia, creatinina, FA, ALT e AST.

Para a comparação dos resultados, foram utilizados os valores de referência proposto por Feitosa (2014) para dados clínicos e por Thrall *et al.* (2007) para os dados hematológicos e bioquímico.

Estes dados foram posteriormente analisados através de estatística descritiva e apresentados em tabelas, identificando a prevalência das alterações nos exame físico e exames laboratoriais de animais encaminhados para cirurgias eletivas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos parâmetros clínico e hematológicos estão apresentados na tabela 1 e tabela 2 que representa os exames clínicos e exames laboratoriais respectivamente.

Tabela 1: Prevalência das principais alterações no exame clínico pré-anestésico de animais encaminhados à cirurgias eletivas, considerando que o mesmo animal pode apresentar mais de uma alteração.

	Taquicardia	Taquipneia	Bradipneia	Hipertermia	Hipotermia
Número de animais	6	12	1	3	3
Frequência	23,07%	46,15%	3,84%	11,53%	11,53%

Tabela 2: Média e desvio padrão do hemograma, leucograma, plaquetograma, concentrações plasmáticas de ureia e creatinina e testes de função hepática no exame pré-anestésico de animais submetidos a cirurgias eletivas.

Variável	Unidade	Média	Desvio padrão
Hematócrito	%	41,25	6,41
Hemoglobina	g/dL	16,04	28,45
Hemácias	X10 ⁶ /μL	7,73	1,55
VGM	fL	65,77	10,77
CHCM	g/L	31,73	17,64
Leucócitos	μL	10304,16	3166,46
Basófilos	μL	0	0
Eosinófilos	μL	374,16	457,43
Bastonetes	μL	24,95	71,62
Neutrófilos	μL	7075,04	2634,82
Linfócitos	μL	2544,45	1417,26
Monócitos	μL	522,25	426,75
Plaquetas	μL/x10 ³	294,87	149,40
Proteínas	g/dL	7,39	0,70
Ureia	mg/dL	49,04	22,44
Creatinina	mg/dL	1,18	1,30
ALT	U/L	47,63	30,50
AST	U/L	44,81	46,62
FA	U/L	121,96	45,06

Legenda: (VGM) Volume globular médio; (CHCM) Concentração de hemoglobina corpuscular média; (ALT) alaninoaminotransferase; (AST) aspartatoaminotransferase; (FA) fosfatase alcalina.

No presente estudo, foram avaliados o exame clínico, hematológico e bioquímico de 26 animais, sendo 21 cães e 5 gatos. Com relação ao exame clínico dos animais, seis cães (23,07%) apresentaram aumento da frequência cardíaca e um cão (3,84%) cão apresentou bradicardia. Mesmo pacientes submetidos a procedimentos

cirúrgicos eletivos podem apresentar alterações fisiológicas importantes e que, sob efeito de fármacos sedativos e analgésicos podem desenvolver distúrbios fármaco-dependentes de difícil resolução se não identificado a tempo (BRODBEL *et al.*, 2017).

O maior número de animais com taquicardia pode ser explicado pelo estresse no momento da realização do exame físico basal, o que pode alterar os valores de normalidade da frequência cardíaca, pois o agente estressante pode atuar nos neurotransmissores que gera impulsos que são percebidos pelo sistema nervoso central, gerando resposta do sistema nervoso autônomo simpático, assim a atuação simpática causa um estado de alerta nos animais provocando aumento da frequência e força de contração cardíaca (BONDAN e ORSINI, 2006).

Sendo assim, a avaliação cardíaca antes e durante, a anestesia permite a identificação e o tratamento de eventos como bradicardia ou bradiarritmia, que podem evoluir para assistolia ou taquicardia sinusal, causadas pelo aumento do consumo de oxigênio pelo miocárdio, além de taquicardia ventricular e outras arritmias, que podem evoluir para a fibrilação e a assistolia (NUNES, 2009).

Dos 26 animais avaliados, doze (46,15%) apresentaram aumento da frequência respiratória e apenas um animal (3,84%) apresentou bradipneia. A taquipneia, em cães e gatos pode ser normal como parte do mecanismo termorregulador (FEITOSA, 2014), devido o estresse dos animais. Somado a isso, a produção de calor causada pelo aumento do esforço respiratório pode ocasionar hipertermia que estimula ainda mais a taquipneia (SLATTER, 2007). O exame clínico deve ser geral e completo, pois é comum haver bradipneia imediatamente após a indução anestésica, pois grande parte dos anestésicos consiste em depressores respiratórios potentes e influenciam no centro respiratório bulbar (HASKINS, 2007).

Na avaliação da temperatura corporal, 3 animais (11,53%) apresentaram hipertermia e 3 animais (11,53%) apresentaram hipotermia. Os demais apresentaram normotermia. Sempre que um animal apresentar aumento de temperatura, deve-se diferenciar casos de hipertermia ou febre. A hipertermia é um estado em que a temperatura corporal se apresenta acima dos valores de referências. Os mecanismos relacionados são fatores físicos, tais como produção ou absorção excessiva de calor ou perda deficiente de calor, cujas causas mais comuns estão a alta temperatura do ambiente, convulsões, exercício físico, desidratação e intoxicação (HOUSTON e RADOSTITS, 2003; FEITOSA, 2014). Já a febre é causada por processos inflamatórios

e infecciosos e em graus leves, não são prejudiciais, pois podem representar uma resposta a uma infecção subjacente (HASKINS, 2007). A hipotermia deve ser reavaliada no paciente que a apresentou, pois a maioria dos anestésicos gera diminuição na temperatura corporal, por depressão do sistema nervoso central (HASKINS, 2007). Este resultado também pode ser atribuído a erros de mensuração durante o exame físico do animal, como introdução pouco profunda e tempo de permanência inadequado do termômetro no reto (FEITOSA, 2014).

Alterações hematológicas e bioquímicas devem ser averiguadas nos pacientes pré-cirúrgicos, incluindo a presença de anemia, disfunções renais e hepáticas, além da hipoproteinemia e trombocitopenia (BRODBEL *et al.*, 2008).

Com relação a avaliação hematológica dos exames pré-operatórios dos animais deste estudo, três cães (11,53%) apresentaram hematócrito abaixo dos valores de referência, caracterizando uma anemia discreta (THRALL 2007). Cinco animais (19,23%), sendo eles dois gatos e três cães, apresentaram eritrócitos totais acima dos valores de referência. A anemia é um achado nos exames hematológicos e que pode ser de extrema importância na avaliação de exame pré-anestésico. Pode ser causada por hemorragia externa crônica, deficiência de ferro, hemorragia interna, doenças inflamatórias, insuficiência renal, distúrbios endócrinos, deficiência nutricionais, hemólise por doença autoimune, corpúsculos de Heinz ou hemoparasitas (THRALL, 2007).

A anemia é uma importante alteração anestésica e cirúrgica, pois pacientes anêmicos possuem capacidade reduzida de carrear o oxigênio, estando predispostos à hipóxia e complicações anestésicas (REBAR, *et al.*, 2003; Brodbel *et al.*, 2008). Sendo assim, estes pacientes precisam de cuidados especiais na oxigenação durante a anestesia e não devem ser submetidos as cirurgias eletivas até a volta da normalidade hematológica (LACERDA *et al.*, 2010).

Além das alterações relativas às hemácias, devem ser averiguadas alterações em leucócitos e plaquetas antes de anestésias e cirurgias, exemplificando, a fim de se evitar complicações anestésicas (REBAR, *et al.*, 2003). Como por exemplo, em cães com erliquiose podem apresentar redução de leucócitos, neutrófilos, linfócitos e plaquetas (trombocitopenia) manifestando também linfocitose.

Dos animais avaliados, dois animais (7,69%) apresentaram leucocitose, que pode ser causada por estresse, infecção ou doenças inflamatórias (SCHALM 1984) e

um animal (3,84%) apresentou leucopenia. Na avaliação pré-anestésica o estresse é avaliado tanto clinicamente como laboratorialmente. Laboratorialmente são avaliados os níveis sanguíneos de cortisol ou através do próprio hemograma (THRALL, 2007), onde clinicamente observa-se estresse emocional causado pela mudança de ambiente (ambiente familiar para o hospitalar) que promove a liberação de glicocorticoides endógeno e a ocorrência de leucograma de estresse (MEYER *et al.*, 1995). No leucograma de estresse ocorre aumento na contagem total de leucócitos, bem como, aumento de neutrófilos e monócitos e diminuição na quantidade de eosinófilos e linfócitos (JAIN e JAIN, 1993).

A contagem de plaquetas é um importante exame pré- cirúrgico, visto que a trombocitopenia grave pode aumentar os riscos de sangramentos e, conseqüentemente, o risco cirúrgico (GOODGER e LEVR, 1973). No presente estudo, 6 animais (23,07%) apresentaram trombocitopenia, sendo que um animal apresentou 55.000 plaquetas/ μ L, caracterizando trombocitopenia grave segundo Thrall (2007), motivo pelo qual a cirurgia foi cancelada, demonstrando a importância dos exames pré-cirúrgicos para aumentar a segurança anestésica e cirúrgica.

Em relação a proteína total, doze animais apresentaram proteína total acima de valor de referência. A proteína total é uma parte importante no exame bioquímico, pois geralmente nota-se alterações no teor de proteínas em várias enfermidades. Avaliação no teor de proteína fornece informações que podem ser úteis para identificar as doenças específicas (LASSEN, 2007).

Além do hemograma, a bioquímica sérica também é um importante exame pré-cirúrgico para avaliação da função renal e hepática, visto que pacientes com alterações da função renal apresentam menor tolerância a anestesia e podem ser mais sensíveis a anestésicos e fármacos pré-anestésicos (BRODBEL *et al.*, 2018).

Em relação a dosagem de ureia e creatinina, 19 animais (73,07%) apresentaram ureia acima do valor de referência, 4 animais (15,38%) apresentaram creatinina acima dos valores de referência, e 11 animais (42,30%) apresentaram creatinina abaixo dos valores de referência (Tabela 2).

A ureia e creatinina elevadas podem estar relacionadas com azotemia pré-renal, comum nos animais com desidratação severa, ou pré-renal em casos de glomerulonefrite (ALMOSNY, 1998). Além disso, a fonte dietética de creatinina (exemplo carne vermelha cozida) aumenta a dosagem de creatinina após sua

absorção pelo trato gastrointestinal. No entanto dietas sem proteínas pode causar diminuição do teor sérico de creatinina, porque os nutrientes absorvidos induzem um aumento pós-prandial da taxa de filtração glomerular (FETTMAN e REBAR, 2007). Por este motivo, animais com alterações nestes exames, devem ser avaliados mais cuidadosamente, necessitando, por exemplo, de exames de imagem para descartar doenças importantes.

O fígado é um importante órgão com básicas funções no organismo, incluindo homeostase da glicose sanguínea, produção de proteínas necessárias para a coagulação, produção de albumina, bem como, biotransformação e excreção de fármacos e seus metabólitos, que influenciam diretamente na segurança da anestesia (Garcia-Pereira, 2017). O fígado é um dos órgãos que sofrem mais lesões no organismo, porém tem uma grande capacidade de regeneração, no entanto, doenças, toxinas e outras alterações hepáticas modificam diretamente a metabolização de drogas aplicadas em procedimentos anestésicos (LAVOR *et al.*, 2004). Por este motivo, a dosagem de enzimas hepáticas para a avaliação da função deste órgão é um importante parâmetro durante a avaliação pré-anestésica dos pacientes. No presente trabalho, dois animais (7,69%) apresentaram ALT abaixo dos valores de referência, e cinco (19,23%) apresentaram AST acima dos valores de referência.

5. Conclusão

Conclui-se com este trabalho que a avaliação física do paciente, bem como, os exames laboratoriais solicitados na avaliação pré-anestésica, são importantes para a identificação de alterações em animais encaminhados para cirurgias eletivas, visto que foram observados alterações no exame físico e laboratorial. Por este motivo, os exames físicos associados aos exames laboratoriais, apresentam grande influência sobre a conduta anestésica, assim como o transoperatório e prognóstico do paciente.

6. REFERÊNCIAS

ALMOSNY, N.R.P. *Eriquia canis (DONATIEN e LESTOQUART, 1935): Avaliação parasitológica, hematológica e bioquímica sérica da fase aguda de cães e gatos experimentados infectados.* Rio de Janeiro, 1998. 115f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária- Parasitologia Veterinária)-Curso em pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

BONDAN, E. F.; ORSINI, H. Fisiopatologia d estresse em animais selvagens em cativeiro e suas implicações no comportamento e bem-estar animal. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**, v.24, n.1, p. 7-13, 2006.

BRODBELT, D .F. Risco Anestésico e Consentimento Informado. In: GRIMM, K. A.; LAMONT, L. A.; TRANQUILLI, W. J.; GREENE, S. A.; ROBERTSON, S. R. Lumb & Jones **Anestesiologia e Analgesia em Veterinária**. 5.ed. Rio de Janeiro :Roca,2017.10-21.

CRIVELENTI LZ 2015. Nefrologia e Urologia IN: CRIVELENTI S **Casos de rotina de pequenos animais**. São Paulo:Medvet Ltda,2 ed.pp 419-489.

DIAL, S. M. Clinicalpathologic evaluation of the liver. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, vol 25, n. 2, 1995.

DUNN, J. K., **Tratado de medicina de pequenos Animais**. 1 ed. São Paulo: roca, p. 123, 165, 166, 169, 2001.

FENNER, W. R. **Consulta rápida em clínica veterinária**, 3 ed, 2003.

FEITOSA, Francisco Leydson F. **Semiologia Veterinária**. 3.ed. São Paulo:Roca,2014.

FETTMAN, M. J. e REBAR, A. Avaliação Laboratorial da Função Renal. In: THRALL, M. A.; BACKER, D. C.; CAMPBELL, T, W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M. J.; LASSEN, E. D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo:Roca 2007 Pagina.285-291.

GARCIA-PEREIRA, F. Fisiologia, patofisiologia e conduta anestésica de pacientes com doenças hepáticas. In: GRIMM, K. A.; LAMONT, L. A.; TRANQUILLI, W. J.; GREENE, S. A.; ROBERTSON, S. R. **Lumb & Jones Anestesiologia e Analgesia em Veterinária**. 5.ed. Rio de Janeiro: Roca,2017.627-640.

GOODGER W. F.; LEVY. W. **Anesthetic management of the cesarean section**.Vet clin Northon Am, v.3. 1973 p.85-99.

HASKINS S. C. Emergências na sala de operação. In DOUGLAS SLATTER. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3 ed. Barueri: Manole Ltda 2007.

JAIN, N. C. **Essentials of Veterinary Hematology**. Philadelphia, lee & b Febiger, 1993.

JAIN, N. C. e JAIN, A. H. **Essentials of Veterinary Hematology**. Wiley-Black,Davis,CA,USA , 1st edn. 1993.

KANEKO, J. J. **Clinical biochemistry of domestic animais**. 5.ed. San Diego: Academic, 1997. 932p.

KERR, M.G., **Exames laboratoriais em medicina veterinária: bioquímica clínica e hematologia**. 2. Ed. São Paulo: Roca 2003.

LACERDA, M. S.; SAMPAIO, R. L.; NUNES, T. C. **Estudo hematológico e cardiorrespiratório em cadelas anestesiadas com cetamina-s/xilazina e tiletamina/zolazepam e submetidas a ovariectomia.** Biosci. J., Uberlândia, v. 26, n. 6, p. 913-918, nov./Dec. 2010.

LASSEN, E. D. Avaliação Laboratorial das Proteínas do Plasma e Avaliação Laboratorial do Fígado In: THRALL, M. A.; BACKER, D. C.; CAMPBELL, T. W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M. J.; LASSEN, E. D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária.** São Paulo: Roca 2007 Pagina 376-390 e p.335-343.

LAVOR, M.S.L, POPERMAYER, L.G, NISHITAMA, S.M, DUARTE, T.S., FIGUEIRAS, R.R., ODENTHAL, M.E. **Efeitos fetais e maternos do propofol, etomidato, tiopental e anestesia epidural em cesarianas eletivas de cadelas.** Ci Rur v.34, p.1833-1839, 2004.

MARTHIAS LA, GUARATINI AA, GOZZANI JL. Preoperative exams: a critical analysis. **Rev Bras Anesthesiol.** 2006; 105;1254-9.

MASSONE, Flávio. **Anestesiologia e Analgesia em Veterinária:** 5.ed. Rio de Janeiro:Roca,2011.

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Medicina de Laboratório Veterinária Interpretação e Diagnóstico.** 1. Ed., São Paulo: Roca. p.27-29, 1995.

NUNES, N. Monitoramento da Anestesia. In. FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. G. **Anestesia em Cães e Gatos.** 2.ed. São Paulo: Roca, 2009.

RADOSTITS, OTTO M; JOE MAYHEW, I. G; HOUSTON, Doreen M. **Exame clínico e diagnóstico em veterinária.** 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

REBAR, A. H.; MACWILLIAMS, P.S.; FELDMAN, B. F.; PETZGER, F. L.; POLLPCK, R. V. H.; ROCHE, J. **Guia de hematologia para cães e gatos.** São Paulo: Roca, 2003.

SCHALM, O.W. **Manual of Hematology: Anemias/Leukocytes/Testing.** Veterinary Practice Publishing Company, California, 1984.

SINK, C. A., FELDMAN, B. F. **Urinálise e hematologia laboratorial para o clínico de pequenos animais.** São Paulo: Roca, 2006

STOCKHAM, S. L., SCOTT, M. A, **Fundamentos de patologia clínica veterinária.** 2. Ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 2011.

THRALL, M. A.; BAKER, D. C.; CAMPBELL, T. W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M. J.; LASSEN, E. D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária.** São Paulo: Roca 2007.

THRALL, M.A Classificação e Diagnostico de Anemia. In: THRALL, M. A.; BACKER, D. C.; CAMPBELL, T. W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M. J.; LASSEN, E. D.; REBAR,

A.; WEISER, G. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: roca 2007
 Pagina 78-83.

VAN KLEI, W. A, MOONS KG, RUTEN. C. L, et al. **The effect of otoutpatint preoperative evolution of hospital inpatients on cancellation of sugery and length of hospital. sty Anesth anal.** 2002;94,644-9.

ANEXO

Anexo 1: Valores de referência para frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura corporal de cães e gatos

Variável	Unidade	Valor de referência para cães	Valor de referência para gatos
Frequência cardíaca	Batimentos/min	60-160	120-240
Frequência respiratória	Mov. Resp/mim	18-36	20-30
Temperatura	°C	37,5-39,2	37,8-39,2

Fonte: Feitosa (2014).

Anexo 2: Valores de referência e variáveis avaliadas do hemograma e exame bioquímico de cães e gatos.

Variável	Unidade	Valor de referência para cães	Valor de referência para gatos
Hematócrito	%	37-55	25-45
Hemoglobina	g/dL	12-18	8-15
Hemácias	X10 ⁶ /μL	5,5-8,5	5,0-11
VCM	fL	60-72	39-50
CHCM	g/L	340-380	330-370
Leucócitos	μL	6000-17000	5000-12500
Basófilos	μL	0	0
Eosinófilos	μL	100-1200	0-1500
Bastonetes	μL	0-160	0-160
Neutrófilos	μL	0-300	0-300
Linfócitos	μL	1000-5000	1500-7000
Monócitos	μL	0-1200	0-1500
Plaquetas	μL/x10 ³	200-500	150-700
Proteínas	g/dL	5,4-7,4	5,9-8,1
Ureia	mg/dL	07-28	17-32
Creatinina	mg/dL	0,9-1,7	0,9-2,1
ALT	U/L	10-120	30-100
AST	U/L	16-40	14-30

Fonte: Adaptado de Thrall (2007).

AValiação Cardiovascular de Cães acima de 8 anos, atendidos no Hospital Escola Veterinário Gardingo Ltda, Matipó - MG (Junho/17-Dezembro 2017)

Acadêmicos: Jamily Gomes Pinho Coelho e Nathália Rocha Fernandes

Orientador: Mayara Cristini Ferreira de Aguiar

RESUMO

A maioria das doenças cardiovasculares se manifesta em animais geriátricos, seja por apoptose e deposição de tecido fibroso no tecido cardíaco, ou por processos degenerativos valvares. Muitos distúrbios são diagnosticados tardiamente, dificultando o tratamento e piorando o prognóstico. Objetivou-se com este estudo fazer a avaliação eletrocardiográfica (ECG) e da pressão arterial sistêmica (PAS) em cães idosos atendidos no Hospital Escola Veterinário Gardingo no período de primeiro de agosto a trinta de dezembro de 2017. Foram avaliados 24 animais, e destes, 14 apresentaram hipertensão arterial, sendo observada a maior prevalência nos animais acima de 10 anos de idade. Os machos castrados, mesmo hipertensos, apresentaram valores menores de PAS em relação aos não castrados. Quanto ao ECG, foi observada arritmia sinusal em 8,33% dos animais, taquicardia em 20,83%, além de desvio de eixo cardíaco para a esquerda em 20,83% dos casos. Observou-se também alterações de duração de onda P em 87,% dos animais analisados, e aumento de voltagem em onda P em 12,5%. O complexo QRS demonstrou alteração de duração em 95,83% dos exames. Também foi notada redução da duração do segmento QT, infradesnível ou supradesnível em segmento ST. Ao observar tantas alterações, comprova-se a importância da avaliação cardiovascular de rotina em pacientes caninos acima de 8 anos de idade.

PALAVRAS CHAVES: Eletrocardiograma; Doppler vascular; Cardiologia; Geriatria Canina; Hipertensão.

1. INTRODUÇÃO

Novas tecnologias e avanços nas pesquisas em saúde animal contribuem para o aumento da população de cães idosos no Brasil, que são mais acometidos por doenças cardíacas devido as mudanças fisiológicas ou patológicas que ocorrem com o envelhecimento (PEREIRA, 2012). De acordo com Goldston (1999), dentre os cães acima de 13 anos de idade examinados em clínicas veterinárias, cerca de 33% dos animais tem alguma forma de cardiopatia, arritmia ou hipertensão arterial sistêmica (HAS).

O aumento da pressão arterial sanguínea em cães tende a ser secundário a outras doenças. Esse aumento da pressão arterial pode ocasionar danos em órgãos alvos, sendo a sua mensuração importante para evitar progressão e

consequentemente mais danos a diversos órgãos, dentre eles o coração (ANDRADE & APEL, 2004).

Assim, o objetivo do estudo foi realizar a análise eletrocardiográfica e da pressão arterial sistólica em cães de diversas raças, com oito anos de idade ou mais, atendidos no Hospital Veterinário, localizado na cidade de Matipó, Minas Gerais, no período de primeiro de agosto de 2017 a 30 de dezembro de 2017.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

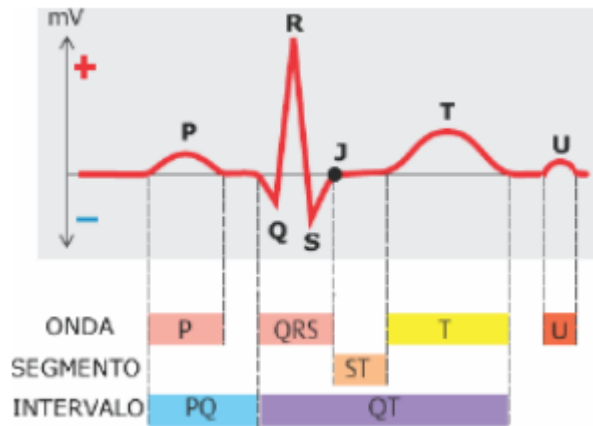
2.1. ELETROCARDIOGRAFIA E ELETROFISIOLOGIA CARDÍACA

Considerado um exame complementar para a avaliação cardiovascular na clínica de carnívoros domésticos, o eletrocardiograma (ECG) possui diferentes objetivos de diagnósticos (CARVALHO *et al.*, 2009). O exame permite identificar arritmias e auxilia no diagnóstico da mesma, pois determina o ritmo e a frequência cardíaca, fornecendo informações do miocárdio através das deflexões P-QRS-T no traçado eletrocardiográfico. Com o auxílio desse exame é possível também avaliar o tipo, origem, severidade e direcionamento terapêutico das arritmias (TILLEY, 1992; e FERREIRA *et al.*, 2008).

A despolarização cardíaca se origina no nódulo sinusal localizado no átrio direito na região do marca-passo, seguido por um estímulo que atinge o átrio esquerdo do nódulo atrioventricular, o feixe de His, a rede de Purkinje, ventrículos e, por fim se extingue (TRANCHESI, 2001).

Durante a despolarização e regularização é possível registrar os fenômenos elétricos ocorridos pelo ECG que são as chamadas ondas P-QRS-T. A onda P corresponde à despolarização atrial. O AV e o feixe de his não são detectados pelo eletrocardiograma, pois não produzem ondas registráveis (GOLDWASSER, 2002; TRANCHESI, 2001).

O complexo QRS corresponde a despolarização ventricular, enquanto a onda T se inicia ao fim da ativação ventricular e a repolarização ventricular, onde inicialmente as correntes elétricas não são intensas e por isso não causam deflexão, gerando uma linha isoelétrica, logo a seguir surgem potenciais mais intensos, captando a inscrição da deflexão e dando origem a onda (MIRVIS e GOLDBERGER, 2001). A Figura 1, a seguir, caracteriza a morfologia do sinal de eletrocardiografia e seus principais constituintes (DESPOPOULOS & SILBERNAGL, 2003).



Fonte: DESPOPOULOS; SILBERNAGL, 2003.

Figura 1: Morfologia do sinal de eletrocardiografia e suas principais constituintes .

O segmento de linha que conecta a onda P ao QRS é denominado PR, e o desvio desse segmento PR pode ser observado na pericardite aguda ou infarto atrial. Para o diagnóstico de crescimento do átrio esquerdo, avalia-se o intervalo denominado PR que corresponde ao tempo medido entre o início da onda P (OP) e o início do QRS (CASTELLANOS *et al.*, 2001).

2.2. DISTÚRBIOS DE CONDUÇÃO E RITMO

As anomalias com maiores incidência em cães são os complexos ventriculares prematuros (CVP), complexos atriais prematuros (CAP), fibrilação atrial (FA) e bloqueio atrioventriculares de primeiro e segundo grau (BAV-1 o e BAV-2) (FERREIRA *et al.*, 2008).

Os bloqueios são alterações da condução dentro do coração, que são classificados conforme a sua localização anatomica e extensão. Quanto a anatomia, pode ser denominado bloqueio SA, AV ou de ramo do feixe de His, ao passo a classificação quanto ao grau é em 1º, 2º ou 3º. Alterações complexas com defeitos na formação e na condução do impulso elétrico correspondem a pré-excitação ventricular, doença do nodo sinusal ou síndrome taquicardia-bradicardia (ETTINGER *et al.*, 2004).

Os cães com bloqueio AV de 2º grau podem apresentar redução de débito cardíaco por bradicardia. Isso ocorre quando o bloqueio AV é longo e o ritmo de escape lento (SCHROPE & KELCH, 2006).

Classificada como uma desordem na geração dos impulsos elétricos e na sua propagação, a arritmia cardíaca pode vir a desenvolver uma insuficiência cardíaca, sendo que as arritmias alteram o enchimento ventricular, diminuindo o débito cardíaco e a demanda de oxigênio do miocárdio, podendo evoluir para uma parada cardíaca e morte súbita (REZENDE *et al.*, 2002).

Os sinais presentes na fibrilação atrial são redução do débito cardíaco, fraqueza, intolerância ao exercício, síncope e morte súbita. O animal pode apresentar tosse, dispneia e outros sinais de insuficiência cardíaca congestiva (ICC) (TILLEY & SMITH, 2004).

A necessidade do ECG para determinar a etiologia da bradicardia e taquicardia é indicada quando as mesmas forem perceptíveis a auscultação (JOHNSON, 2008). Os CVPs são despolarizações prematuras geradas em focos ectópicos, localizados no tecido ventricular (ETTINGER *et al.*, 2004). Cães com essa patologia, no exame físico apresenta um desdobramento do primeiro ou segundo sons cardíacos, acompanhado por uma variação de pulso (TILLEY & SMITH, 2004).

A taquicardia pode desenvolver hipoxia do miocárdio, devido a diminuição do tempo de diástole, comprometendo a perfusão do miocárdio, podendo assim vir a desenvolver áreas de isquemia e infarto, e conseqüentemente apresentando pontos ectópicos de arritmias ventriculares (NUNES, 2002).

As alterações do ritmo cardíaco normalmente são secundária a uma cardiopatia primária em que a arritmia aumenta a gravidade dos sinais clínicos dessa afecção. Em alguns casos, a arritmia é responsável pelas primeiras manifestações clínicas em um animal com doença cardíaca latente ou subclínica. Se a arritmia não for secundária a uma cardiopatia primária, pode ser a primeira manifestação clínica de alterações sistêmicas (ETTINGER *et al.*, 2004).

2.3. HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA (HAS)

A pressão arterial (PA), segundo Bodey *et al.*, (1996), é influenciada pela idade, raça, sexo, temperamento, estado de doença, atividade física e em menor intensidade dieta.

O método não invasivo para a obtenção da PAS é comumente utilizado em situações clínicas devido a maior praticidade de uso e a possibilidade de ser repetido entre intervalos de tempo menores, no entanto, essa técnica é menos precisa quando

a pressão sanguínea é baixa, quando há vasoconstrição ou movimentação excessiva do animal (PODELL, 1992)

Algumas classes de dispositivos não invasivos para medir a PAS disponíveis atualmente são o Doppler vascular, esfigmomanômetro oscilométrico e aparelhos de fotopletoisigrafia (JEPSON *et al.*, 2005).

O exame Doppler é capaz de identificar alterações na pressão sistólica, cujos os valores da mesma são determinantes no momento da elaboração do exame, através do controle do ambiente, controle do paciente (CABRAL *et al.*, 2010).

A técnica se baseia na utilização de um manguito ou balão insuflável conectado a um esfigmomanômetro, posicionado ao redor de um membro do animal, interrompendo o fluxo sanguíneo momentaneamente. Quando o manguito é desinsuflado gradualmente ocorre a reentrada de sangue na artéria e a pressão exercida para o preenchimento é registrada (BROWN & HENIK, 2002).

A HAS é definida como a elevação constante da pressão sanguínea arterial, sistólica, diastólica ou ambas (BROWN *et al.*, 2007). Considera-se o animal normotenso quando a PAS está entre 110 e 120mmHg, ao passo que valores entre 170 e 200mmHg sugerem HAS moderada. Pacientes com valores de PAS superiores a 200mmHg são considerados hipertensos em estado avançado (TILLEY & GOODWIN; 2002). Brown *et al.*, (2006) consideraram que valores de PAS entre 150 e 170mmHg já sugerem HAS leve.

Segundo Galvão *et al* (2010), os órgãos mais afetados pela hipertensão são os envolvidos na regulação do fluxo sanguíneo (coração) e os que contêm extensas redes arteriolares ou capilares (olhos, cérebro e rins).

Cerca de 80% dos casos de HAS em cães é secundária e diversas afecções podem estar associadas à nefropatias, cardiopatias, hiperadrenocorticism, hipertireoidismo, feocromocitoma, dieta com alto teor de sal, diabetes mellitus, hepatopatia e obesidade (BROWN *et al.*, 2007).

Uma das principais indicações para avaliação da PA em um paciente é a observação de alterações clínicas consistentes com lesão hipertensiva de órgãos-alvo principalmente no sistema ocular, renal, cardiovascular e neurológico (CARVALHO, 2009). Indício repentino de cegueira é uma queixa comum em cães com hipertensão não controlada, que também podem apresentar sintomas compatíveis com hemorragia cerebral e insuficiência cardíaca (BROWN e HENIK, 2002).

O tratamento das HAS em cães podem ser classificados em dietético ou farmacológico, geralmente baseado em protocolos de terapêutica humanos (BROWN e HENIK, 2002).

3. METODOLOGIA

3.1 SELEÇÃO DE ANIMAIS

Foram utilizados 24 cães com idade acima de 8 anos, independente de sexo ou raça ou estado de saúde, atendidos no Hospital Veterinário de Matipó da Faculdade Univértix no período de 01 de agosto a 30 de dezembro de 2017. Os animais foram submetidos a avaliação do eletrocardiograma (ECG) e da pressão arterial sistólica (PAS).

3.2 ELETROCARDIOGRAMA

Os exames eletrocardiográficos foram realizados utilizando equipamento eletrocardiográfico portátil computadorizado (TEB – ECG- PC TM, TEB, Brasil). Os animais foram posicionados em decúbito lateral direito, contidos manualmente sem contenção química, e os eletrodos foram posicionados de acordo com recomendações de Tilley (1992). Foram avaliadas as derivações bipolares (I, II, III), unipolares de membros (aVR, aVF, aVL), e determinados o ritmo, a frequência cardíaca (FC), o eixo cardíaco, as durações em milissegundos (ms) de P, PR, QRS, QT e as amplitudes em milivolts (mV) de P, Q, R, T e desvio do segmento ST em relação à linha de base, segundo as descrições de Tilley (1992). A duração mínima do ECG foi de 5 minutos, em alguns animais a duração do ECG foi maior devido a movimentação do animal no momento da avaliação.

3.3 AFERIÇÃO DE PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA

A obtenção da pressão arterial sistólica (PAS) foi juntamente com a análise eletrocardiográfica, no qual foi realizada pelo método não invasivo com Doppler ultrassônico vascular (Doppler Vascular Veterinário tipo Pastilha, Medmega, Brasil), na região palmar metacarpal no membro torácico esquerdo, no qual foi feita a depilação da região para o posicionamento da probe com o auxílio do gel ultrassonográfico, com o animal em decúbito lateral direito. O manguito foi selecionado e posicionado entre 40 a 60% do diâmetro do terço médio do antebraço. Animais com pressão arterial sistólica

acima de 150 mmHg é considerado hipertensos, e a pressão foi aferida 5 vezes consecutivamente, para se obter a média da mesma e evitar erro no diagnóstico final devido as diversas variáveis que podem influenciar a pressão.

4. AVALIAÇÃO DE DADOS

Os valores obtidos em ambos exames foram comparados com os estabelecidos por Tilley & Goodwin, (2002). Foi realizada a estatística descritiva para determinar a prevalência de HAS e alterações eletrocardiográficas. Os dados foram agrupados de acordo com o resultado de cada teste e das afecções diagnosticadas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PRESSÃO ARTERIAL SISTÊMICA

Neste trabalho foram avaliados 24 animais idosos de raças distintas, sendo que 14 desses animais eram fêmeas e 10 eram machos, com idade entre 8 e 18 anos ($11,66 \pm 2,67$ anos).

Entre os animais avaliados 66,6% dos animais obtiveram elevação da PAS, sendo que dentre estes, 11 (78,57%) eram fêmeas e 5 (50%) eram machos (Tabela 1).

Tabela 1 – Características e valores médios de PAS de 24 animais avaliados agrupados por sexo.

Animal	Sexo	Idade (anos)	Raça	PAS (mmHg)
1	Fêmea	12	SRD	172,4*
2	Fêmea	10	Yorkshire	218*
3	Fêmea	18	Poodle	176*
4	Fêmea	13	SRD	157*
5	Fêmea	11	SRD	189*
6	Fêmea	10	Poodle	193*
7	Fêmea	14	Maltês	146
8	Fêmea	12	Lhasa Apso	167,4*
9	Fêmea	8	Yorkshire	184*
10	Fêmea	9	Pinscher	153,8*
11	Fêmea	16	Poodle	126,4
12	Fêmea	12	Poodle	107,2
13	Fêmea	10	Yorkshire	168*
14	Fêmea	9	SRD	206*
15	Macho	8	SRD	124,2
16	Macho	14	SRD	144,6
17	Macho	9	SRD	203,4*
18	Macho	10	Labrador	126,8
19	Macho	12	Poodle	123,6
20	Macho	11	Fox Paulistinha	156,4*
21	Macho	14	Pinscher	188,4*
22	Macho	8	Shitzu	194,4*
23	Macho	16	SRD	205,4*
24	Macho	14	Blue Heeler	125,2

* Animais considerados hipertensos. Valores de normalidade: <150mmHg (BROWN *et al.*, 2006)

PAS: pressão arterial sistólica

A avaliação da PA demanda a repetição da técnica, uma vez que este é um exame sensível, em que o estado de agitação do animal interfere no resultado final, podendo fornecer um valor acima do real. Vicent & Michell (1996) afirmaram através de um estudo realizado em canídeos da raça “Labrador Retriever” que a medição da PA, pode ser utilizada para determinar estados de stress, pois ela tende a ser mais elevada em animais com estados de ansiedade.

Os animais idosos apresentaram com alta prevalência de HAS (Tabela 1), o que já era esperado, levando em conta o estado fisiológico do organismo dos mesmos. Brown *et al.*, (2007) relataram que as doenças associadas a HAS ocorrem com maior frequência em animais geriátricos, sendo dessa forma, necessário um acompanhamento da pressão em animais com idade igual ou superior a 10 anos de idade.

Dos animais examinados, 16 cães apresentaram valores maiores que 150mmHg, classificado assim como hipertensos (Tabela 1). Brown *et al.*, (2007) classificaram a PA de cães em quatro categorias, e afirma que pressão arterial sistólica acima de 150 mmHg é de risco, podendo desenvolver lesão hipertensiva aos órgãos-alvo, estabelecendo, dessa forma, parâmetros para avaliação clínica.

Ao se avaliar a ocorrência de HAS entre machos e fêmeas, observou-se que 50% dos machos eram hipertensos, ao passo que 78,57% das fêmeas presentes no estudo apresentaram valores de PAS superiores a 150mmHg (Tabela 1). Bodey e Michel (1996), constataram que a PA é influenciada pela idade, raça, sexo, temperamento, entre outros, sendo que a idade e a raça exercem maior influência na PAS.

O valor médio de PAS nas fêmeas foi de 168,87mmHg, enquanto nos machos foi de 159,24mmHg, o que difere da literatura, onde fêmeas possuem valores inferiores de PA com cerca de 10 mmHg menos quando comparadas aos machos (BROWN *et al.*, 2007).

5.2 ELETROCARDIOGRAFIA

Na análise eletrocardiográfica 2 de 24 animais apresentaram arritmia sinusal, uma característica típica de variação do ritmo cardíaco (Tabela 2). Goldman *et al.*, (2012) afirmaram que a arritmia é caracterizada pela orientação normal e mantida da onda P, no entanto o ritmo cardíaco é irregular embora ocorra certa variabilidade fisiológica do intervalo R-R, e a arritmia sinusal é quando a variabilidade é maior que 20%, que é mais bem evidenciada quando o ritmo é bradicárdico e pode causar doença do nó sinusal. A arritmia sinusal diminui com o aumento da frequência cardíaca (HANTON & RABEMAMPIANINA, 2006).

Tabela 2: Frequência cardíaca, ritmo e eixo cardíaco dos animais avaliados.

Animal	FC (bpm)	Eixo	Ritmo
1	109	60°	sinusal
2	140	68°	sinusal
3	110	33°	sinusal
4	175	33°	sinusal
5	122	33°	arritmia sinusal
6	131	82°	arritmia sinusal
7	124	83°	sinusal
8	94	30°	sinusal
9	231	40°	sinusal
10	109	68°	sinusal
11	128	80°	sinusal
12	92	79°	sinusal
13	114	52°	sinusal
14	130	68°	sinusal
15	126	79°	sinusal
16	109	90°	sinusal
17	100	55°	sinusal
18	176	62°	sinusal
19	234	83°	sinusal
20	115	45°	sinusal
21	121	74°	sinusal
22	222	60°	sinusal
23	92	79°	sinusal
24	125	90°	sinusal

Valores de normalidade FC: 70-160bpm; Eixo: +40° a +100°;
Ritmo: sinusal, arritmia sinusal (TILLEY & GOODWIN; 2002)

Quanto a FC, 20,8% dos animais apresentaram valores maiores que 160bpm, e cinco se mostraram taquicárdicos, o que pode ser explicado pelo aumento da excitabilidade que influencia durante a inspiração (Tabela 2). Tilley e Goodwin, (2002) comprovaram que a frequência cardíaca aumenta durante a inspiração e diminui na expiração, devido a alteração na tonicidade vagal, e o valor dos batimentos cardíacos varia de acordo com o grau de estresse do animal.

Outras causas para o aumento da FC podem incluir redução do débito cardíaco e hipovolemia de origem cardiogênica ou não, e portanto deve ser investigada. A alta FC pode gerar hipoxia do miocárdio e consequente comprometimento da perfusão tecidual, chegando a causar áreas de isquemia e infarto (NUNES, 2002).

Todos os animais avaliados apresentaram ritmo cardíaco dentro dos valores de normalidade. As alterações do ritmo cardíaco normalmente são secundária a uma cardiopatia primária em que a arritmia aumenta a gravidade dos sinais clínicos dessa afecção. Em alguns casos, a arritmia é responsável pelas primeiras manifestações

clínicas em um animal com doença cardíaca latente ou subclínica. Se a arritmia não for secundária a uma cardiopatia primária, pode ser a primeira manifestação clínica de alterações sistêmicas (ETTINGER *et al.*, 2004).

Quanto ao eixo cardíaco, 20,8% dos animais apresentaram valor igual ou inferior a 40°, indicando desvio para o lado esquerdo (DECE) e conseqüentemente aumento do átrio direito, demonstrando maior ocorrência do que os valores encontrados por Damasceno *et al.*, (2014) e por Cardoso *et al.*, (2013). Isto pode ser devido à idade dos animais selecionados para o estudo.

Já na avaliação na duração das ondas P e QRS o índice de animais que apresentaram aumento das mesmas em relação ao valor de referência foram maiores, como demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3: Valores individuais de duração de ondas P, segmento PR, complexo QRS e segmento QT de 24 cães idosos.

Animal	FC (bpm)	Eixo	Ritmo
1	109	60°	sinusal
2	140	68°	sinusal
3	110	33°	sinusal
4	175	33°	sinusal
5	122	33°	arritmia sinusal
6	131	82°	arritmia sinusal
7	124	83°	sinusal
8	94	30°	sinusal
9	231	40°	sinusal
10	109	68°	sinusal
11	128	80°	sinusal
12	92	79°	sinusal
13	114	52°	sinusal
14	130	68°	sinusal
15	126	79°	sinusal
16	109	90°	sinusal
17	100	55°	sinusal
18	176	62°	sinusal
19	234	83°	sinusal
20	115	45°	sinusal
21	121	74°	sinusal
22	222	60°	sinusal
23	92	79°	sinusal
24	125	90°	sinusal

Valores de normalidade FC: 70-160bpm; Eixo: +40° a +100°;
Ritmo: sinusal, arritmia sinusal (TILLEY & GOODWIN; 2002)

Pode-se observar que 79,16% dos animais apresentaram aumento de duração de onda P, e 75% dos cães demonstraram aumento na largura de QRS, isso devido à idade avançada que interfere principalmente no ritmo dessas ondas. Tilley (1992) relatou que o aumento na duração da onda P e do complexo QRS são sugestivos de

sobrecarga atrial e ventricular esquerda. Benedicto e Bombonato, (2003) complementam a afirmação de Tilley, comprovando que essa alteração é devido ao avanço da idade, que pode ocorrer apoptose e deposição de tecido fibrose no tecido cardíaco, e aumento progressivo na quantidade de tecido conjuntivo no interstício do coração.

Na avaliação do comprimento do segmento QT, 6 animais (25%) apresentaram valores inferiores que 0,15 segundos, isso pode ser justificado pelo aumento da excitabilidade do animal no momento da avaliação eletrocardiográfica. Tilley e Goodwin, (2002) afirmaram que o intervalo QT aumenta em casos de baixa frequência cardíaca e diminui nas taquicardias, e pode ocorrer prolongamento em casos de distúrbios de condução interventricular associado ao prolongamento do complexo QRS.

Ao se avaliar a amplitude das ondas P (Tabela 4), observou-se que 16,6% dos animais apresentaram aumento. Segundo Tilley e Goodwin, (2002), o alongamento da onda P pode sugerir aumento atrial direito ou doença pulmonar crônica, mesmo na ausência de doença cardíaca. Coelho *et al.*, (2017) relataram um índice de 57,14% da mesma alteração, sugerindo que o aumento na amplitude de P esteja relacionado a sobrecarga elétrica atrial direita.

Não foi observada alteração quanto a amplitude de complexo QRS e de onda R, entretanto, 37,5% dos indivíduos apresentaram a amplitude de onda T maior do que 25% da amplitude da onda R presente no mesmo complexo. Segundo Tilley (1992), este aumento está ligado ao desequilíbrio eletrolítico, principalmente de potássio (K), é responsável por diversas alterações eletrocardiográficas, como anormalidades em onda T e arritmias (Tilley, 1992). Outra alteração que pode estar ligada a este aumento é a existências de áreas de hipóxia ou infarto segmentar miocárdico (COELHO *et al.*, 2017)

Tabela 4: Valores individuais de amplitude em milivolts (mV) de ondas P, onda R e onda T de 24 cães idosos.

Animal	P (mV)	R(mV)	T(mV)
1	0,19	0,59	0,30
2	0,24	0,76	0,30
3	0,26	1,92	0,47
4	0,53	1,03	-0,33
5	0,22	1,23	0,58
6	0,16	0,83	0,08
7	0,10	0,83	0,23
8	0,15	1,80	-0,39
9	0,06	1,63	0,04
10	0,14	1,76	0,18
11	0,37	2,29	1,00
12	0,92	1,17	-0,35
13	0,06	0,50	0,12
14	0,39	0,84	0,12
15	0,29	1,07	0,09
16	0,16	1,25	0,14
17	0,26	1,47	0,08
18	0,15	1,18	0,07
19	0,17	0,79	0,20
20	0,20	0,59	0,23
21	0,31	0,76	0,52
22	0,04	1,15	0,02
23	0,92	1,17	-0,35
24	0,91	0,26	0,09

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

É necessária a integração da avaliação cardiovascular como exame de rotina, principalmente dos animais idosos, sendo que 16 animais de 24 apresentaram hipertensão arterial sistêmica e 37,5% apresentaram alterações cardíacas na avaliação eletrocardiográfica. Isso pode ser devido a sua função fisiológica, e as patologias que podem vir a desenvolver com maior frequência em relação aos animais jovens. Novos estudos são necessários, para comparação do mesmo em relação a variação e alteração dos exames cardiovasculares aos animais jovens.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, S.F. ; APEL, T. L. Hipertensão arterial primária em um cão da raça pastor alemão – relato de caso. **Clinica Veterinária**, São Paulo, ano 9, n. 51, p.52-56, julho, 2004.

BENEDICTO, H.G. e BOMBONATO P.P. Quantificação de tecido conjuntivo do músculo cardíaco de cães. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, p.108-116, 2003

BODEY, A.R.; MICHELL, A.R. Epidemiological study of blood pressure in domestic dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 37, p.116-125, 1996.

BROWN, S.A.; HENIK, R.A. Hipertensão sistêmica. In: TILLEY, L. P.; GOODWIN, J.K. **Manual de cardiologia para cães e gatos**. 3 ed. São Paulo, Rocca, p. 313-319, 2002.

BROWN, S.; BROWN, C.; SURDYK, K. Diagnosis and Treatment of Systemic Hypertension. **World Small Animal Veterinary Congress/ WSAVA/FECAVA/CSAVA**. Prague, Czech Republic: 2006

BROWN, S. et al. Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 21 p. 542 – 558, 2007.

CABRAL, R.R.; CIASCA, B.D.; OLIVEIRA, V.M.C.; VAZ-CURADO, A.P.; LARSSON, M.H.M.A. Valores da pressão arterial em cães pelos métodos oscilométrico e Doppler vascular. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 1, p. 64-71, 2010.

CARDOSO, M.J.L. et al. Eletrocardiografia computadorizada em cães da raça American pit bull terrier. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 5, p. 2341-2348, 2013.

CARR, A.P.; TILLEY, L.P.; MILLER, M.S. Tratamento de arritmias cardíacas e distúrbios de condução. In: TILLEY, L.P.; GOODWIN, J.K. **Manual de Cardiologia para Cães e Gatos**. 3. Ed. São Paulo. P. 347 – 376; 2002.

CARVALHO, C.F.; TUNDURY, E.A.; NEVES, I.V.; FERNANDES, T.H.T.; GONÇALVES, L.P.; SALVADOR, R.R.C.L. Eletrocardiografia pré-operatória em 474 cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 3, p. 590 - 597, 2009.

CASTELLANOS A, INTERIAN A, MYERBURG RJ. The resting electrocardiogram. In: Hurst JW (ed). **The Heart**. 10th Ed. New York: McGraw Hill; 28, 2001.

COELHO, M. M. P.; PEDROSA, C. de S.; SOUZA, T. M.; ABREU, D. M.; DOURADO, D. F.; ARAÚJO, A. V. C. Alterações eletrocardiográficas em cães atendidos no Hospital Veterinário Universitário “Francisco Edilberto Uchoa Lopes” da Universidade Estadual do Maranhão”. In: **Anais do 38º CBA, Recife**. Anais... Recife: 2017.

DAMASCENO, A. K. T.; ANDRADE, ELIANE DE NAZARÉ LIMA SOUZA, N. F. de; MENESES, A. M. C.; FIGUEIREDO, M. J. de F. M.; CORRÊA, F. da C.; ALMEIDA, J.

C. F.; SILVA, A. K. M. da; SANTOS, B. J. S. dos; PINHEIRO, A. C. O. Levantamento eletrocardiográfico de cães e gatos atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural da Amazonia, Belém-Pará. In: **Anais 35º ANCLIVEPA, Belo Horizonte**. Anais... Belo Horizonte: 2014.

DESPOPOULOS, A.; SILBERNAGL, S. **Color Atlas of Physiology**. [S .I.]: Thieme, 2003.

ETTINGER, S.J., LE BOBINNEC, G. & CÔTÉ, E. Eletrocardiografia. In: ETTINGER, S.J. ; FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5ª ed., pp. 846-884). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.

FERREIRA, F.S.; VALE, D.F.; RAMOS, R.M.; CARVALHO, C.B. Eletrocardiograma na monitoração anestésico – cirúrgica de cães. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, Goiânia, v. 1, n. 2 , p.121 - 134, 2008.

GALVÃO A.L.B.; BORGES J.C.; VIEIRA M.C.; FERREIRA G.S.. LÉGA E.; PINTO M.L. Hipertensão arterial na doença renal crônica em pequenos animais – Revisão de literatura. **Nucleus Animalium**. 2:9-20, 2010.

GOLDMAN, L.; SCHAFER, A.I. **Goldman's Cecil Medicine**. 24. Ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2012.

GOLDSTON, R.T.; HOSKINS, J.D. **Geriatría e gerontologia cão e gato**. 2º ed. São Paulo: Roca, 1999.

GOLDWASSER GP. **Eletrocardiograma orientado para o clínico**. 2º ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2002.

HANTON G.; RABEMAMPIANINA Y. the electrocardiogram of the Beagle dog: reference values and effect of sex, genetic strain, body position and hear rate. **Laboratoy Animal Sciences, Londres**, 400:123-136, 2006

JEPSON, R.E.; HARTLEY, V.; MENDEL, M. et al. A comparison of CAT Doppler and oscillometric memoprint machines for noninvasive blood pressure measurement in conscious cats. **J. Feline Med. Surg.**, v. 7, p.147 – 152, 2005.

JOHNSON, M. Eletrocardiografia em cães. **Veterinary Focus**, 18, 47 – 48 ; 2008.

MIRVIS D.M.; GOLDBERGER A.L. Electrocardiography. In: Braunwald E (ed). Heart Disease: **A Textbook of Cardiovascular Medicine**. 6th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 82 ; 2001.

NUNES, N. Monitoração da anestesia.In: FONTONI, D.T.; CORTOPASSI, S.R. **Anestesia em cães e gatos**. Ed. 1º ,p. 64 - 81, 2002.

PEREIRA, G.G., Cardiologia Veterinária a service do paciente idoso. **Revista Cães e Gatos, Ed. Cururuca, ano 28**, n. 157, p. 22-28. 2012.

PODELL, M. Use of blood pressure monitors. In: BONAGUARA, JD. Kirk's current veterinary therapy XI: small animal practice. **Philadelphia: W.B. Saunders**. P. 834 – 837, 1992.

REZENDE, M.L.; FARIAS, A.; BOLZAN, A.A.; FERREIRA, W.L.; LÉGA, E.; NUNES, N. Levomepromazina e acepromazina no bloqueio da arritmia induzida pela adrenalina em cães anestesiados pelo halotano. **Ciência Rural**. v. 32, n. 2, p. 433 - 438, 2002.

SCHROPE, D.P. & KELCH, W.J. Signalment, clinical signs, and prognostic indicators associated with high – grade second - or third - degree atrioventricularblock in dogs: 124 cases (January 1, 1997 - December 31, 1997). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 228 (11), 1710 -1717; 2006.

TILLEY, L.P. **Essentials of Canine and Feline Electrocardiography: Interpretation and Treatment**. 3 ed, Lea & Febiger 470p, 1992.

TILLEY, L.P.; GOODWIN, J.K. **Manual of canine and feline cardiology**. 3 ed. Philadelphia: W.B. Saunders. P. 337 – 344, 2002.

TILLEY, L.P.,& SMITH, F.W. **The Five – minute veterinary consult: canine and feline** 3^a ed. Iowa: Blackwell ; 2004.

TRANCHESI, J. **Eletrocardiograma normal e patológico: Noções de Vetocardiografia**. São Paulo: Roca; 2001.

VICENT, I.C. & MICHELL, A.R. Relationship between blood pressure and stress-prone temperament in dogs. **Physiology & Behaviour**, v. 60, n.1, p.135-138, 1996.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA ÁGUA DE PRATA COLOIDAL

Acadêmicos: Neimara Daniele da Silva e Sayonara de Andrade Borel

Orientador: Leandro Silva de Araújo

RESUMO: A prata é utilizada como antimicrobiano há muitos anos, mas com a descoberta da penicilina seu uso foi reduzido. Com o aparecimento da resistência bacteriana retomou-se o interesse por ela e por novos métodos de controle microbiano. Na medicina veterinária seu uso já foi eficaz contra algumas bactérias e parasitas de animais domésticos. Alvos de vários testes antimicrobianos, *Salmonella* spp. (bacilos gram negativos) e *Staphylococcus aureus* (cocos gram positivos) são dois agentes comumente associados a vários tipos de infecções nos animais. Neste trabalho, objetivou-se testar a eficácia antimicrobiana da água de prata coloidal contra *Staphylococcus coagulase positivo* e *Salmonella* spp., isoladas no Hospital Veterinário Gardingo. Após isolamento, as cepas foram estriadas em ágar Muller Hinton e num furo central na placa foram depositados 40 microlitros da água de prata coloidal a 18 ppm. Os resultados obtidos revelaram atividade antimicrobiana para ambas as cepas testadas, aumentando assim, a importância da água de prata como método alternativo para tratamento de infecções na medicina veterinária.

PALAVRAS-CHAVE: Água de prata; Controle microbiano; Inibição *in vitro*

1. INTRODUÇÃO

Em 1910 foi descrito pelo Dr. Henry Crooks que alguns metais em seu estado coloidal tinham ação altamente germicida e era inócuos ao homem, levando os organismos patogênicos a morte em questão de minutos (SALVO, 2002). Após sua descrição em 1919, a água de prata vem sendo utilizada como antimicrobiano, porém, com utilização restrita em face da descoberta de novos antimicrobianos. Com o aparecimento da resistência bacteriana, retomou-se o interesse por ela e dos estudos para a formulação de novos agentes antimicrobianos. (ANTUNES *et al.*, 2013).

A prata coloidal não causa reação contra os tecidos do corpo, apresentando-se atóxica para organismos vivos, exceto os unicelulares, atuando contra o metabolismo enzimático de oxigênio dos mesmos (BECKER, 2010). Ainda há controvérsias sobre a utilização da água de prata coloidal, o ADRAAC (Adverse Drug Reactions Advisory Committee) na Austrália, recebeu relatos de casos de toxicidade causados pela prata após ingestão crônica de água de prata produzida por um gerador. A maioria dos relatos era sobre argyria (coloração cinza-azulada da pele), além de relatos de outras toxicidades. (PORTAL ANVISA, 2007).

No entanto, a água de prata coloidal tem revelado potencial para eliminação de várias classes de bactérias, o que aumenta o interesse na sua utilização. Na veterinária, seu uso foi eficaz no tratamento de algumas bactérias e parasitas de animais domésticos. Considera-se difícil o desenvolvimento de micro-organismos resistentes à água de prata coloidal, uma vez que o tempo necessário para o desenvolvimento de mecanismos de resistência, em geral, é maior que o tempo necessário para que a prata os elimine (BECKER, 2010). Desta forma o objetivo desse trabalho foi testar a eficácia antimicrobiana da água de prata coloidal contra *Staphylococcus coagulase positivo* e *Salmonella* spp.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. ANTIMICROBIANOS E RESISTÊNCIA BACTERIANA

Os antimicrobianos representam uma ampla classe medicamentosa, que atuam de forma específica contra fungos, bactérias, parasitos ou vírus, portanto, é necessário cautela em sua escolha, pois a administração incorreta pode desencadear toxicidade aos organismos vivos e desenvolvimento de resistência bacteriana. (BARROS, MACHADO, & SPRINZ, 2013).

Antigamente, análises acidentais resultavam na descoberta de novos medicamentos, a partir do uso de plantas e substâncias fornecidas ao homem e animais (BRUNTON, CHABNER, & KNOLLMANN, 2012). Em 1928, Alexander Fleming dava início a uma jornada promissora na área médica, a descoberta da penicilina (PEREIRA, & PITA, 2005). Já nos dias atuais, tem-se encontrado dificuldade no desenvolvimento de novos medicamentos, visto que o valor econômico investido na pesquisa e produção é elevado, sem contar que todo o processo do desenvolvimento leva tempo, em média doze anos, e mesmo assim não se tem garantia de triunfo (NASCIUTTI, 2012). Portanto, a alternativa adotada pelas indústrias de medicamentos tem sido uma reformulação feita na composição dos medicamentos que já estão no mercado, o que não pode ser considerado inovador. (BRUNTON, CHABNER, & KNOLLMANN, 2012).

O uso indiscriminado de medicamentos tem contribuído para que os micro-organismos desenvolvam mecanismos de resistência, aumentando assim a necessidade de se desenvolver novos agentes antimicrobianos. (SILVEIRA *et al.*, 2006).

As bactérias têm alta capacidade de multiplicação e mutação, que são mudanças estruturais dos genes que ocorrem durante a replicação, podendo ser espontânea ou induzida (BAPTISTA, 2013). Por esse motivo o uso exacerbado de medicamentos faz com que elas desenvolvam uma resposta fisiológica conhecida como mecanismo de resistência; o desenvolvimento dessa resistência leva anos para acontecer (em média 7-8 anos), mas mesmo assim esse tempo ainda é inferior ao tempo levado para produção de novos medicamentos. (GUIMARÃES, MOMESSO, & PUPO, 2010).

Os primeiros casos de resistência foram descobertos em meados de 1960 contra a penicilina, já no ano de 2002 foi relatado nos Estados Unidos resistência por *Staphylococcus aureus* contra vancomicina, o que fez com que os gestores da saúde passassem a considerar a resistência bacteriana como uma preocupação mundial. (OLIVEIRA, & SILVA, 2008).

Os mecanismos de resistência que os micro-organismos desenvolvem frente aos antimicrobianos podem ser classificados de duas formas: resistência natural (característica própria do micro-organismo, sem necessidade de ter sido exposto ao medicamento) e resistência adquirida, sendo essa apresentada de quatro formas: alteração da permeabilidade da membrana celular, alteração do local de ação (medicamento perde a afinidade pelo local de ligação), bomba de fluxo (medicamento é deposto para fora da célula) e mecanismo enzimático (enzimas que inativam as propriedades dos medicamentos). (BAPTISTA, 2013).

Em decorrência do desenvolvimento de cepas resistentes, na última década, pesquisadores têm optado por explorar o meio ambiente em busca de alternativas naturais que possam vir a serem usadas como métodos antimicrobianos eficientes. (GUIMARÃES, MOMESSO, & PUPO, 2010).

2.2. MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA TRATAMENTO ANTIMICROBIANO

2.2.1. HOMEOPATIA

No século XVIII, Samuel Hahnemann deu início à descoberta da homeopatia, que é uma alternativa totalmente natural que visa tratar os doentes e não a patologia em si (SANTANA *et al.*, 2008). Os medicamentos homeopáticos são formulados a partir de matéria animal, vegetal e mineral, ou seja, componentes que são considerados

inócuos ao organismo, o que tem gerado resultados positivos no ramo da medicina. (ARENALLES, 2002).

Após alguns anos sendo utilizada na medicina humana com eficiência comprovada, a homeopatia foram introduzida também na medicina veterinária, médicos veterinários homeopatas vem obtendo grande êxito em seus tratamentos, uma vez que diferentes espécies tem respondido positivamente a utilização da homeopatia (SOUZA, 2002). Em bovinos, sua eficácia foi comprovada no tratamento de mastite subclínica, uma vez que foram realizados trabalhos que geraram resultados significantes, onde a cura foi observada em 72% dos tetos que foram tratados com bases homeopáticas (ALMEIDA *et al.*, 2005).

2.2.2. FITOTERAPIA

A fitoterapia é uma terapêutica realizada através de plantas medicinais, considerada uma herança cultural deixada por nossos antepassados (TOMAZZONI, NEGRELLE, & CENTA, 2006). Um produto para ser considerado fitoterápico deve ser originado exclusivamente de elementos vegetais, devendo ser ingerido com cautela uma vez que mesmo tendo grandes benefícios, não se descarta a possibilidade de reações adversas. (ROSSATO *et al.*, 2012).

Já reconhecida na medicina humana, a fitoterapia vem ganhando espaço na medicina veterinária, baseando-se na literatura humana, alguns autores relatam que na dosagem correta os produtos fitoterápicos desenvolvem respostas positivas nos animais domésticos, assim como em humanos, podendo ser utilizada em tratamentos que vão desde uma simples infecção gastrointestinal até algumas afecções que acometem o sistema nervoso. (OZAKI, & DUARTE, 2006).

No Brasil, a prática do uso da fitoterapia vem sendo impulsionada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), principalmente nas regiões mais carentes, onde talvez a única terapêutica acessível seja a natural, enquanto na Europa os compostos originados e extraídos das plantas, são considerados medicamentos, sendo até mesmo prescrito em receituários. (SILVA, SILVA, & ANDRADE, 2007).

2.2.3. PRATA COLOIDAL

O interesse pelas propriedades das nano partículas de metais pesados vem aumentando com o passar dos anos, uma vez que chama atenção a facilidade de

preparação e seus efeitos resultantes (MELO JUNIOR *et al.*, 2012). Muito utilizada antes da era dos antibióticos, a prata coloidal teve sua eficácia antimicrobiana comprovada, se destacando entre os demais por causar um baixo índice de reações adversas (BERNI NETO, RIBEIRO, & ZUCOLOTTO, 2008).

A utilização da prata como tratamento medicamentoso já vem sendo prática na medicina veterinária, como seu uso na Sulfadiazina de Prata. A Sulfadiazina de prata 1% é um fármaco constituído de nitrato de prata e sulfadiazina de sódio, com uma ampla ação antimicrobiana, seu uso na maioria das vezes é feito topicamente (FERREIRA *et al.*, 2003).

Muito indicada em casos de feridas cutâneas, seu mecanismo de ação engloba uma desnaturação de proteínas, agindo conseqüentemente na membrana citoplasmática da bactéria e impedindo a replicação na síntese de DNA, realizando ação bactericida e bacteriostática imediata, isso ocorre devido aos pequenos números de prata iônica liberada. (FRANCO, & GONÇALVES, 2008).

A prata coloidal é obtida através do método “eletro – coloidal/ não químico”, que consiste em uma combinação onde partículas de prata e água se dispersam e ficam mantidas em suspensão por uma corrente elétrica (COURTENAY, 1999). Sua ação bactericida é dependente do tamanho e da forma de suas nano partículas, estabilidade e estado de aglomeração, sendo esses os fatores que reagem com as bactérias (SANTANA, GOMES, & MARCONE, 2015).

A prata coloidal indicada é aquela que não contenha elementos e estabilizadores em sua formulação, que em concentrações indicadas eliminam uma ampla classe de bactérias gram positivas e negativas, o que torna surpreendente, visto que ainda não foi descoberto nenhum outro antimicrobiano com essa capacidade (BECKER, 2010). Quanto a sua dosagem, recomenda-se em média 100 µg por dia, esse valor pode variar de pessoa para pessoa, para crianças deve utilizar metade da dose indicada para adultos, já para bebês utilizar somente ¼ da dose. Outra dosagem também recomendada é a de 75 µg por dia como forma preventiva, o dobro durante algum tipo de epidemia e a de 200 – 300 µg durante o tratamento de alguma enfermidade. A forma mais indicada dessa água penetrar na corrente sanguínea é através da ingestão, absorção sublingual ou inalação através de um nebulizador segundo Manual do usuário da prata coloidal [s.d.]. Fazer o uso da prata coloidal nas doses seguras é fundamental uma vez que de acordo com a Organização Mundial da

Saúde (OMS), a prata se ingerida em excesso pode causar alterações neurológicas, renais, indigestão, dores de cabeça, argyria (coloração azulada da pele), entre outros.

Na medicina veterinária, alguns tratamentos obtiveram êxito com o uso da água de prata coloidal, sendo eles: *Parvovirus perruno*, diarreia, brucelose em bovinos, barriga inchada em algumas espécies de peixes, além de bactérias e parasitas (BECKER, 2010). A Medicina tem demonstrado que a prata aniquila mais de 650 agentes patogênicos e não cria resistência. (PETICA *et al.*, 2008).

2.3. AVALIAÇÕES DE EFICÁCIA ANTIMICROBIANA

O antibiograma é um viável teste de triagem, apresentando uma facilidade em sua execução e um custo acessível, além de fornecer confiáveis resultados (GEORGES *et al.*, 2014). Ele consiste em um método de sensibilidade que avalia a capacidade antimicrobiana frente aos micro-organismos, sendo por disco-difusão o mais utilizado nos laboratórios internacionais e nacionais. (COSTA, 2016).

Descrito por Bauer no ano de 1966, o antibiograma por disco-difusão é um método quantitativo que consiste na difusão de um antimicrobiano embebido em um disco de papel-filtro, realizado em ágar, onde a diluição do antimicrobiano resulta na formação de um halo de inibição, cujo valor é inversamente proporcional a concentração inibitória mínima. (SEJAS *et al.*, 2003).

2.4. AGENTES MICROBIANOS

Vários agentes microbianos são causadores de enfermidades na medicina veterinária, entre eles *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positivo, são alvos de muitos testes de eficácia antimicrobiana devido à sua alta prevalência associado a infecções. *Salmonella* spp. se caracteriza sendo bastonetes gram negativo não esporulado de alta patogenicidade (ARRUDA, 2011). A mesma é uma das principais bactérias causadoras de infecções transmitidas por alimentos, destacando-se entre elas a salmonellose (SANTOS, 2004). Entre as bactérias *Staphylococcus* coagulase positivo, *Staphylococcus aureus* é considerada a mais patogênica, com arranjo microscópico de estafilococos gram positivos, anaeróbios facultativos não esporulados (PRADO, 2014). As infecções causadas pelas mesmas podem ir desde uma simples espinha ou furúnculo desde as infecções mais graves como meningite, pneumonia, endocardite, entre outras. (SANTOS *et al.*, 2007).

A resistência antimicrobiana tem aumentado consideravelmente, uma vez que as bactérias exibem grande facilidade em desenvolverem mecanismos de resistência, por esse motivo a busca por novos métodos antimicrobianos tem se tornado fundamental (LOGUERCIO *et al.*, 2005).

3. METODOLOGIA

3.1. PRODUÇÃO DA ÁGUA

A água de prata foi produzida a partir da passagem de uma corrente elétrica, através de eletrodos ligados a duas placas de prata suspensas, onde foram liberados íons de prata que se dispersaram na água destilada autoclavada. Após o processamento, essa água foi armazenada em um frasco de vidro emeticamente fechado autoclavado e transportada para o laboratório de microbiologia do Hospital Veterinário Gardingo.

Foi realizada a quantificação de partículas de prata na água pelo aparelho TDS-3 (HM Digital), segundo recomendação do fabricante.

3.2. ISOLAMENTO BACTERIANO

Foram isolados dois gêneros bacterianos provenientes de amostras de animais atendidos no Hospital Veterinário Gardingo, sendo elas: *Staphylococcus* coagulase positivo, proveniente de um suab superficial de pele e *Salmonella* spp., proveniente de um sub retal. As duas amostras foram identificadas com base em testes bioquímicos e morfologia de colônia em ágar seletivo; Os testes realizados foram Catalase, Coagulase e DNase para *Staphylococcus* e os testes de Indol, Vermelho de metila, Vogus Proskauer, Citrato e inoculação em ágar TSI para *Salmonella*.

Para isolamento do *Staphylococcus* foi utilizado o ágar Manitol Salgado, cujas colônias características são amareladas, já o isolamento da *Salmonella* foi realizado a partir do enriquecimento seletivo em caldo Rappaport Vassiliadis, a temperatura de 41°C por 24 horas, seguida da inoculação em ágar MLBC por 24 horas a 36°C, onde o aparecimento de colônias de centro preto indica bactéria do gênero *Salmonella*.

3.3. AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os testes foram realizados em ágar Mueller Hinton, em placas de Petri, onde foram inoculadas as amostras previamente isoladas pelo método “Spread Plate” e



posteriormente em um furo no centro do ágar de 0,6 milímetros foi adicionado 40 microlitros da água de prata coloidal.

As placas foram incubadas a 36°C e observadas após 18 horas. A formação de halos de inibição ao redor do ponto de inoculação da água de prata coloidal foi considerada efeito antimicrobiano.

3.4 ANÁLISE E PROCESSAMENTO DOS DADOS

A avaliação dos halos de inibição foi realizada de acordo com Pollini *et al.*, (2011), em que a formação de halos (zonas de inibição) com diâmetros superiores a 1 mm é considerada boa para efeitos de inibição bacteriana decorridos da ação da nano prata. Deste modo, foi estabelecida e adotada uma tabela de avaliação do diâmetro dos halos formados nos testes de susceptibilidade (TABELA 1).

Tabela 1. Avaliação da atividade antimicrobiana (Adaptada de POLLINI *et al.*, 2011)

Zona de inibição no disco	Aspecto visual	Resultado de inibição
Presença (> 1 mm)		Bom
Presença (< 1 mm)		Consideravelmente bom

Para efeitos de comparação e caracterização do grau de susceptibilidade das cepas utilizadas foi avaliado a ação de antimicrobianos comerciais sobre as mesmas bactérias, sendo as bases utilizadas: amoxicilina, clindamicina, clorafenicol, enrofloxacina, eritromicina e gentamicina. Os valores dos halos de inibição foram comparados aos valores de referência internacional (CLSI, 2005).

Após a produção da água, a quantificação de partículas de prata revelou uma concentração de 18 ppm. A concentração utilizada neste estudo foi idêntica a uma das concentrações utilizadas no trabalho de Antunes *et al.*, (2013), que testou as concentrações de 18 e 1000 ppm contra bactérias do gênero *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, utilizando o antibiograma qualitativo como método avaliativo da atividade antimicrobiana da prata contra as respectivas cepas.

A partir das amostras clínicas obtidas no Hospital Veterinário Gardingo, foram isoladas uma amostra de *Staphylococcus* e uma amostra de *Salmonella* (FIGURA 1). A confirmação dos dois gêneros foi feito inicialmente a partir da coloração de gram, posteriormente foram realizados os testes para identificação de *Staphylococcus*, sendo

eles: teste da Catalase, Coagulase e DNase, nos quais obteve-se resultado positivo (FIGURA 2). Já para a identificação de *Salmonella*, os testes realizados foram: Indol, Vermelho de Metila, Voges Proskauer e Citrato, cujos resultados deram-se na seguinte ordem: negativo, positivo, negativo e positivo; por último realizou-se a inoculação em ágar TSI, onde a formação de halo preto indica a formação de sulfeto de hidrogênio, característico de bactérias do gênero *Salmonella* (FIGURA 3).

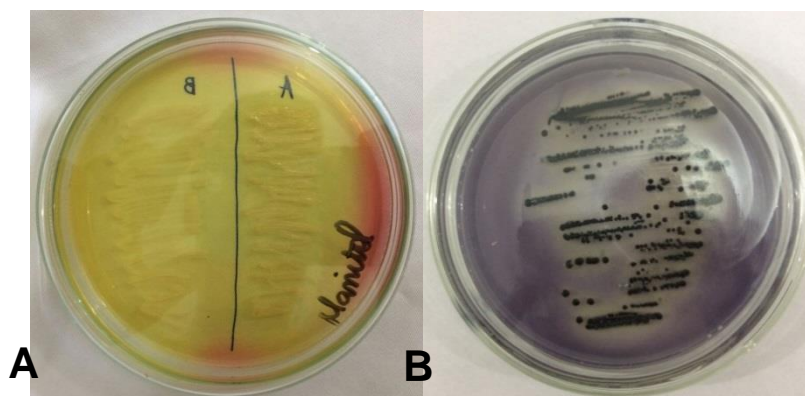


Figura 1. Bactérias isoladas. A) *Staphylococcus* em ágar Manitol salgado; B) *Salmonella* em ágar MLCB.

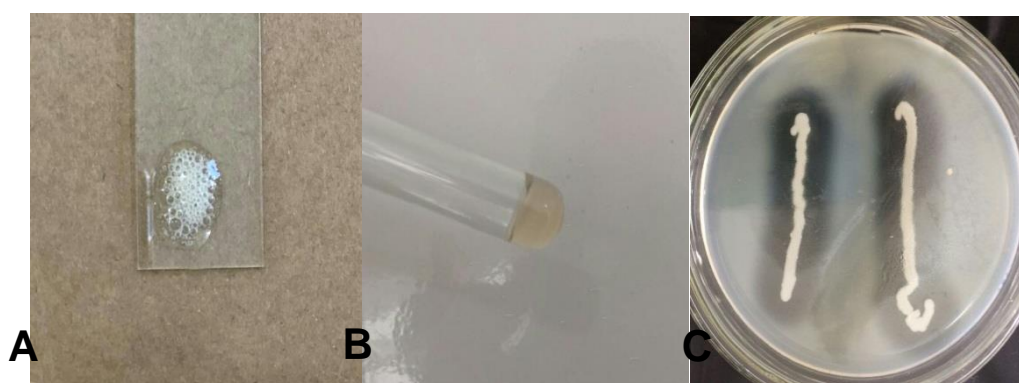


Figura 2. Testes complementares para confirmação de *Staphylococcus*. A) Catalase; B) Coagulase; C) DNase.

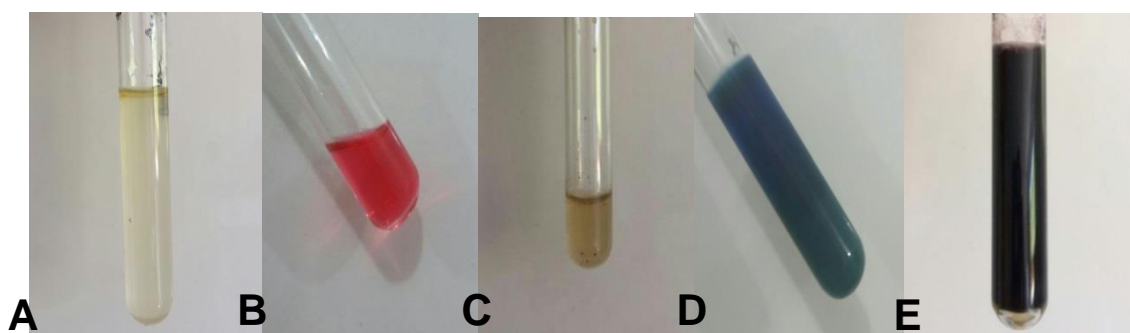


Figura 3. Testes bioquímicos para identificação de *Salmonella*. A) Indol; B) Vermelho de Metila; C) Voges Proskauer; D) Citrato; E) Inocuação em ágar TSI.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ao teste de atividade antimicrobiana foi possível identificar a formação de halo nas placas teste tanto para *Staphylococcus* quanto para *Salmonella* (FIGURA 4), cujos valores de tamanho de halo são mostrados na Tabela 2, juntamente com os resultados dos halos identificados nos testes com os antimicrobianos comerciais.

Tabela 2. Diâmetro dos halos de inibição observados, juntamente com os valores encontrados nos testes com os antimicrobianos comerciais.

Antimicrobianos	<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	<i>Salmonella</i> spp	Valor de referência para sensibilidade	
			<i>Staphy.</i>	<i>Salm.</i>
Água de prata	2,0 mm	2,5 mm	>1	>1
Amoxicilina	41,0 mm	25,0 mm	>29	>17
Clindamicina	18,0 mm	0 mm	>19	-
Clorafenicol	26,0 mm	21,0 mm	>21	>18
Enrofloxacina	27,0 mm	15,0 mm	>23	>23
Eritromicina	21,0 mm	0 mm	>23	-
Gentamicina	21,0 mm	22,0 mm	>15	>15

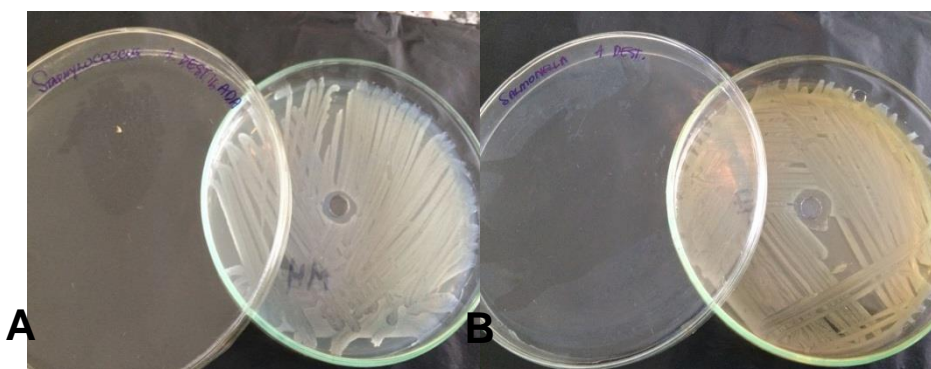


Figura 4. Presença de halo de inibição. A) Placa teste de *Staphylococcus*; B) Placa teste de *Salmonella*.

Foi possível observar a formação de halo de tamanho superior ao padronizado por Pollini *et al.*, (2011) para nano partículas de prata contra as duas bactérias testadas, sugerindo assim boa ação antimicrobiana sobre estes agentes.

De acordo com os valores de referência observados nas Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana: 15º Suplemento Informativo, a partir das avaliações, é possível notar que as duas cepas isoladas no presente trabalho, de *Staphylococcus* (*gram positiva*) e de *Salmonella* (*gram negativa*) apresentaram resistência aos antimicrobianos Clindamicina e Eritromicina, dois antimicrobianos não indicados para controle de bactérias negativas (CLSI, 2005). A identificação de resistência nas cepas testadas aumenta o potencial para uso da água

de prata uma vez que a mesma apresentou-se efetiva perante agentes que demonstram mecanismos de resistência a antimicrobianos convencionais.

Segundo Barbosa *et al.*, (2001), a Clindamicina faz parte do grupo de antibióticos que inibem a síntese de proteínas. Possuindo uma capacidade de se unir ao ribossomo 50S, com sua ação bacteriostática ela inibe a formação das ligações peptídicas. Oliveira *et al.*, (2011) descreve que a Eritromicina também é um antibiótico de ação bacteriostática, que atua impedindo a formação da síntese de proteínas, dificultando a tradução do material genético.

Antunes *et al.*, (2013) realizaram teste de atividade antimicrobiana contra cepas isoladas de *S. aureus* e *Escherichia coli*, com uso da água de prata em duas concentrações, 18 e 1000 ppm. Como resultado, em seu trabalho ele relata atividade sobre *S. aureus*, assim como obtido neste trabalho, entretanto vai em desacordo quando se trata da concentração utilizada da água de prata coloidal, onde em seu trabalho, Antunes *et al.*, (2013) encontraram atividade (formação de halo) apenas na concentração de 1000 pmm, enquanto neste estudo identificamos inibição na concentração de 18 ppm.

Corroborando com esse trabalho, Santana, Gomes, & Marcone (2015), obtiveram em seu estudo halo de inibição com tamanho de 1 mm contra *S. aureus*, enquanto observou-se neste trabalho halo de 2,0 mm. O valor de 1 mm encontrado para resultado de halo no trabalho citado pode ter sido influenciado pela adição dos estabilizantes álcool polivinílico (PVA) e carboximetilcelulose (CMC) na preparação da solução contendo prata, uma vez que Santana, Gomes, & Marcone (2015) descreveram que a ação bactericida da prata é dependente de alguns fatores como: tamanho e forma das nanopartículas, estabilidade e estado de aglomeração. Becker (2010) descreve que a prata coloidal indicada é aquela que não contenha estabilizadores em sua fórmula, indo de acordo com o presente trabalho, onde não foi utilizado nenhum tipo de estabilizante durante a produção da água de prata.

Em outro estudo realizado por Carreira *et al.*, (2009), utilizando uma solução com partículas de prata na concentração de 47 ppm, obteve-se morte de 99,9% das cepas isoladas de *S. aureus*, o que mais uma vez vai de acordo com os resultados obtidos nesse trabalho, reafirmando a eficácia das nanopartículas de prata contra bactérias do gênero *Staphylococcus*.

Almeida (2017) testou a eficácia antimicrobiana das nanopartículas de prata contra quatro bactérias, sendo duas gram negativas e duas gram positivas, entre as bactérias testadas estão o *S. aureus* e a *Salmonella entérica*. Seus resultados foram satisfatórios uma vez que houve formação de halo de inibição em todas as placas testes, com medições de 23,2 mm para *S. aureus* e 19,7 mm para *Salmonella entérica*, isso pode ser explicado pela capacidade das nanopartículas de prata de se aderirem à parede celular bacteriana, penetrando e mudando as estruturas da membrana, levando assim a célula a morte em questão de minutos.

Além disso, as nanopartículas de prata também já apresentaram resultados satisfatórios não somente contra bactérias mais também contra fungos, como mostra Vasconcellos (2012), que testou nanopartículas de prata contra *Candida albicans* e *Candida glabrata*, obtendo resultados satisfatórios, onde se demonstrou inibição do crescimento de ambos os fungos em todas as concentrações utilizadas (1x, 2x e 5x 107,9 µg/ml).

Desta forma, identificou-se a atividade antimicrobiana da água de prata frente aos dois gêneros bacterianos testados, o que justifica próximos estudos bem como sua utilização na prática clínica.

5. CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho indicam potencial para o uso da água de prata a concentração de 18 ppm no controle microbiano de *Staphylococcus coagulase positivo* e *Salmonella spp.*, sendo necessário mais estudos para identificação da Concentração Inibitória Mínima e testes de toxicidade para estabelecer forma de aplicação prática na Medicina.

6. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. C.; SOARES, T. M. P.; SILVA, D. B.; SILVEIRA, A. L.; FIORINI, J. E.; FONSECA, Y. M. Eficácia de tratamento homeopático no controle da mastite subclínica em bovinos. **Veterinária notícias**. v. 11, n. 2, p. 53-59, 2005.

ALMEIDA, E. S. **Biossíntese e caracterização de nanopartículas de prata por *fusarium oxysporum***. Dissertação de Mestrado. Florianópolis-SC, 2017.

ANTUNES, F. S.; ACQUA, N. D.; BERGMANN, C. P.; GIOVANELA, M. Síntese, caracterização e aplicação de nanopartículas de prata como agentes antimicrobianos. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 9, n. 1, p. 20-26, 2013.

ARENALES, M. C. Homeopatia em gado de corte. In: **I conferencia virtual global sobre produção orgânica de bovinos de corte**. Vol. 2. 2002.

ARRUDA, M. L. T. **Salmonella spp: Aspectos Moleculares Gerais e Fatores de Virulência Específicos**. 2011. 33f. Seminários aplicados- Universidade Federal De Goiás Escola De Veterinária e Zootecnia Programa De Pós-Graduação em Ciência Animal, Goiânia, 2011.

BAPTISTA, M. G. F. M. **Mecanismos de resistência aos antibióticos**. Lisboa 2013. Dissertação de Mestrado.

BARBOSA, F. H. F.; SILVA, A. M.; DUARTE, R.; NICOLI, J. R. Perfil de Susceptibilidade Antimicrobiana de *Bifidobacterium bifidum* Bb12 e *Bifidobacterium longum* Bb46. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 1, n. 2, 2001.

BARROS, E.; MACHADO, A.; SPRINZ, E. **Antimicrobianos: Consulta Rápida**. 5. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

BECKER, R. O. Prata Coloidal. **Movimento d'Amore San Juan Diego Mono- Divisão Buscas científicas e Humanísticas**. Itália, 2010. Disponível em:http://www.conchiglia.us/PORTUGAL/PT_monos/PT_MONOS_2010set29_Argent_o_Colloidale.pdf. Acesso em: 27 out. 2017.

BERNI NETO, E. A.; RIBEIRO, C.; ZUCOLOTTO, V. Síntese de nanopartículas de prata para aplicação na sanitização de embalagens. **Embrapa Instrumentação Agropecuária-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2008.

BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman e Gilman**. 12. Ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.

CARREIRA, C. M.; PEREIRA, C. A.; BOMBANA, A. C.; JORGE, A. O. C. Eficácia antimicrobiana das nanopartículas de prata sobre esporos, leveduras e bactérias. **Artigo apresentado no XIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IX Encontro Latino Americano de Pós-Graduação–Universidade do Vale do Paraíba**. São José dos Campos, 2009.

CLSI. **Normas de desempenho para testes de sensibilidade antimicrobiana: 15º suplemento informativo**. 2005. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi_OPASM100S15.pdf. Acesso em: 28/05/2018.

COSTA, L. F. R. Sistema de automatização do antibiograma por disco-difusão em aplicação clínica e ambiental. **Dissertação de Mestrado em Engenharia Biomédica**. Faculdade Gama. Universidade de Brasília, DF. Nº p.82. Publicação 053A/2016.

COURTENAY, K. **Prata Coloidal: As verdades ocultas**. 2. Ed. Montville, Austrália: Oráculo, 1999. Disponível em:<<https://pt.slideshare.net/guestb3a763/prata-coloidal>. Acesso em: 27 out. 2017.

FERREIRA, E.; LUCAS, R.; ROSSI, L. A.; ANDRADE, D. Curativo do paciente queimado: uma revisão de literatura. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 37, n. 1, p. 44-51, 2003.

FRANCO, D.; GONÇALVES, L. F. Feridas cutâneas: a escolha do curativo adequado. **Rev Col Bras Cir**, v. 35, n. 3, p. 203-6, 2008.

GEORGES, S. O.; BERNARDO, L. G.; ANDRÉ, M. C. D. P. B.; BORGES, L. J. Utilização do Antibiograma Como Ferramenta de Tipagem Fenotípica de Escherichia Coli Isolada de Linguiça Frescal. **Blucher Food Science Proceedings**, v. 1, n. 1, p. 11-12, 2014.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Quím. Nova** vol.33 no. 3 São Paulo 2010.

LOGUERCIO, A. P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A.C.; HENZEL, A.; WITT, N. M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.

MANUAL DO USUÁRIO DA PRATA COLOIDAL. [S.1. : s. n]. [19--?]. 15 p.

MEDEIROS, R. A.; PEREIRA, P. G.; MEDEIROS, S. M. Vigilância em saúde na enfermagem: o caso das medicações sem prescrição em crianças. **Escola Anna Nery Revista de Enfermagem**, vol. 15, núm. 2, abril-junho, 2011.

MELO JR, M. A.; SANTOS, L. S. S.; GONÇALVES, M. C.; NOGUEIRA, A. F. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Química Nova**, 2012.

NASCIUTTI, P. R. **Desenvolvimento de Novos Fármacos**. Goiânia, 2012. Disponível em:<
http://ppgca.evz.ufg.br/up/67/o/1%C2%B0_Semin%C3%A1rio_PRISCILLA_NASCIUTI.pdf?1350665635>. Acesso em 27 out. 2017.

OLIVEIRA, A. C.; SILVA, R. S. Desafios do cuidar em saúde frente à resistência bacteriana: uma revisão. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 10, n. 1, 2008.

OLIVEIRA, I. L. M.; FERREIRA, A. C. A.; MANGUEIRA, D. F. B.; MANGUEIRA, L. F. B.; FARIAS, I. A. P. Antimicrobianos de uso odontológico: informação para uma boa prática. **Odontologia Clínico-Científica (Online)**, v. 10, n. 3, p. 217-220, 2011.

OZAKI, A. T.; DUARTE, P. C. Fitoterápicos utilizados na medicina veterinária, em cães e gatos. **Revista Pharmacia Brasileira**, v. 12, n. 2, p. 14-21, 2006.

PEREIRA, A. L.; PITA, J. R. Alexander Fleming (1881-1955), Da descoberta da penicilina (1928) ao Prêmio Nobel (1945). **Revista da Faculdade de Letras: História Porto**, v. 6, p. 129-151, 2005.

PETICA, A.; GAVRILIU, S.; LUNGU, M.; BURUNTEA, N.; PANZARU, C. Colloidal silver solutions with antimicrobial properties. **Materials Science and Engineering B**, 152:22-27. 2008

POLLINI, M.; PALADINI, F.; CALATANO, M.; TAURINO, A.; LICCIULLI, A.; MAFFEZZOLI, A.; SANNINO, A. Antibacterial coatings on haemodialysis catheters by photochemical deposition of silver nanoparticles. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 22, n. 9, p. 2005-2012, 2011.

PORTAL ANVISA. **Boletim informativo das OMS sobre produtos farmacêuticos**. 2007. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33868/399603/boletim_OMS_05_07.pdf/41910757-4a99-4f62-9200-dd4a78e2d258>. Acesso em: 27 out. 2017.

PRADO, J. C. S. **Nanopartículas de prata: biossíntese, investigação das atividades antibacteriana, antifúngica e citotoxicidade**. Dissertação de mestrado. Campinas-SP, 2014.

ROSSATO, A. E.; PIERINI, M. M.; AMARAL, P. A.; SANTOS, R. R.; ZANETTE, V. C. Fitoterapia racional: aspectos taxonômicos, agroecológicos, etnobotânicos e terapêuticos. Vol. 1. 211 p. 2012.

SALVO, S.; GRUBERGER, M. **Gerador de Prata Coloidal**. 2002. 25 f. Disponível em: <https://mattron.com.br/aceso_admin/logado/modulos/produtos/produtos_download//995926118ad04f845390791Manual1.pdf>. Acesso em: 27 out. 2017.

SANTANA, J. L. P.; MATEUS, H. F. V.; MARTINS, R. **Trabalho de Metodologia Científica Homeopatia e Ciência**. Universidade Federal de Lavras – UFLA. 2008.

SANTANA, M. C.; GOMES, D. R. L.; MARCONE, G. P. S. Avaliação da atividade antimicrobiana de nanopartículas de prata. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v.7, n. 1, (2015).

SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto & Contexto Enfermagem**, v. 13,(n.esp):64-70, 2004.

SEJAS, L. M.; SILBERT, S.; REIS, A. O.; SADER, H. S. Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. **J Bras Patol e Med Labor**, v. 39, p. 27-35, 2003.

SILVA, C. G. R.; SILVA, J. L. L.; ANDRADE, M. Fitoterapia como terapêutica alternativa e promoção da saúde. **Informe-se em promoção da saúde**, v. 3, n. 2, p. 15-17, 2007.

SILVEIRA, G. P.; NOME, F.; JESSER, J. C.; SÁ, M. M.; TEREZI, H. Recent achievements to combat bacterial resistance. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 844-855, 2006.

SOUZA, M. F. A. Homeopatia veterinária. In: **CONFERÊNCIA VIRTUAL GLOBAL SOBRE PRODUÇÃO ORGÂNICA DE BOVINOS DE CORTE**. p. 1-4, 2002.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto & Contexto Enfermagem**, v. 15, n. 1, p. 115-121, 2006.

VASCONCELLOS, L. K. **Ação de nanopartículas de prata sobre *Candida albicans* e *Candida glabrata*: análise da mínima concentração inibitória**. Trabalho de conclusão de curso. 59 f. Araçatuba-SP, 2012.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *in vitro* DO EXTRATO DE *Punica granatum* CONTRA *Salmonella* spp.

Acadêmicos: Joana Begati Lacerda e Lucas Lacerda Begati

Orientador: Leandro Silva de Araújo

RESUMO

A salmonelose é uma patologia que acomete tanto as aves quanto os humanos. Causada por bactérias do gênero *Salmonella* spp., pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, bastonetes móveis, gram-negativo, não esporulados e anaeróbicos facultativos. Nas aves a bactéria gera grandes prejuízos, pois é de difícil controle e de fácil disseminação, e pode causar morte de plantéis. Além disso traz diversos riscos à saúde humana pois pode causar infecção através da ingestão de alimentos de origem animal contaminados. Devido aos limites estabelecidos para uso de fármacos, no controle e prevenção da salmonelose aviária, bem como o risco de resíduos destas drogas nos produtos, pesquisas buscam alternativas no controle do agente. E um dos métodos promissores são fitoterápicos. Conhecida como romã, a *Punica granatum* produz fruto arredondado, com inúmeras sementes. Sua eficiência comprova-se no tratamento de *Staphylococcus aureus*, em enfermidades da cavidade oral em humanos e ainda justifica os estudos de eficiência em outros agentes. Nesse estudo foi testada a eficiência antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da casca de *P. granatum* contra *Salmonella* spp. isolada de granjas avícolas. Foram testadas quatro diluições do extrato nos quais observou-se atividade antimicrobiana em três, provando-se assim o potencial de uso da casca da romã como agente antimicrobiano.

PALAVRAS-CHAVE: Salmonelose, *Punica granatum*, Fitoterápicos

1. INTRODUÇÃO

A salmonelose é uma zoonose causada por bactérias do gênero *Salmonella*, de grande importância na indústria avícola. As aves são consideradas um ponto chave para disseminação da doença, neste cenário, destacam-se os produtos destes animais como potenciais fontes de toxinfecção alimentar em humanos (CARDOSO e TESSARI, 2015).

Salmonella spp. pertence à família *Enterobacteriaceae*, são bastonetes móveis, não esporulados, gram-negativos, anaeróbios facultativos e parasitas intracelulares facultativos (KOWALSKI *et al.*, 2011). Nas aves, a enfermidade causada por esse agente gera grandes prejuízos relacionados ao ganho de peso e produtividade, além do risco à saúde pública, o que levou à implementação do Programa Nacional de Sanidade Avícola, estabelecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) em 1994. (BRASIL, 1994).

Devido às restrições do uso de antibióticos na avicultura, há uma necessidade de se introduzirem novas opções para controle de doenças infecciosas e promoção do crescimento. Neste sentido, têm-se utilizado na medicina veterinária os chamados fitoterápicos (óleos essenciais), que podem ser muitas vezes utilizados como aditivos, configurando uma alternativa aos tratamentos quimioterápicos tradicionais. (TOLEDO e COSTA, 2007).

Punica granatum, denominada popularmente romã, é um fruto do tipo baga, globoides medindo até 12 cm, com numerosas sementes envolvidas por um arilo róseo, cheio de líquido adocicado (DEGÁSPARI, 2011). Diversos trabalhos demonstraram a eficácia antimicrobiana de extratos de romã sobre *Staphylococcus aureus* (SANTOS *et al.*, 2014).

Por este motivo, o presente trabalho tem como objetivo testar a eficiência *in vitro* do extrato de *Punica granatum* como antimicrobiano no controle de cepas de *Salmonella* spp. isoladas de granjas avícolas.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. AVICULTURA NO BRASIL

Atualmente a produção de carne de frango brasileira destaca-se no mercado da avicultura mundial, levando assim o Brasil desde 2011, à primeira colocação mundial em exportação de carne e em terceiro lugar na produção desta, alcançando uma produção de 12,6 milhões de toneladas (RODRIGUES *et al.*, 2014).

Muitas patologias podem acometer as aves comerciais, sendo estas enfermidades classificadas em cinco classes sendo elas: doenças respiratórias, doenças bacterianas, doenças tumorais, doenças parasitárias e doenças imunodepressoras. O grupo de importância nesse estudo é o grupo de doenças bacterianas, que abrange as salmoneloses, as infecções por *Escherichia coli* e Micoplasmoses (SALLE e MORAES, 2009).

2.2. *Salmonella* spp. e SALMONELOSE

Salmonelose engloba um grupo de doenças causadas pelo gênero *Salmonella* (ANDREATTI FILHO, 2012), que é uma bactéria pertencente à família *Enterobacteriaceae*. São bacilos Gram-negativos não formadores de esporos, podendo ser aeróbios ou anaeróbios facultativos. Dentre todos os sorotipos existentes

apenas a *Salmonella Gallinarum* e *Salmonella Pullorum* são imóveis; todos os outros são móveis apresentando flagelos peritríquios. Essas bactérias crescem em uma ampla faixa de temperatura que vai de 5 a 45°C, mas a melhor faixa de crescimento encontram-se de 37 a 40°C (MOTA, 2013).

Essa enfermidade apresenta alta morbidade devido à dificuldade de controle. E a facilidade de infecção, o que é influenciada também pelo sorotipo causador. Desta forma é considerada uma das principais zoonoses em todo o mundo. (FERREIRA *et al.*, 2013)

Dentre as formas de apresentação nas aves a pulorose, causada pela *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo *Pullorum* e o tifo aviário causado pela *Salmonella enterica* sorovar *Gallinarum*, são doenças bacterianas septicêmicas. Todas as aves são susceptíveis sendo acometidas principalmente as galinhas e perus (MOTA, 2013). O paratifo é outra forma de apresentação da salmonelose aviária, é uma infecção causada pelos sorovares não adaptados às aves, sendo elas *S. Pullorum*, *S. Gallinarum* e de *S. enterica* subespécie *arizone*. (CARDOSO *et al.*, 2015)

A pulorose se manifesta de forma aguda em lotes de aves adultas, podendo demorar um longo período de tempo para que se manifeste em um lote por inteiro. Seus sinais clínicos geralmente levam tempo até começarem a aparecer. Doença sistêmica que causa lesões no fígado, baço, pulmão, coração, traqueia e outros órgãos. Em aves de postura pode ser constatada uma grave queda na postura, dificuldades na reprodução, não sendo uma forma de comprovar a doença, pois não é sempre uma regra em todos os casos. (ARGOLLO, 2006)

O tifo aviário é uma enfermidade que, em sua maioria, atinge aves adultas, sem que selecione um grupo específico; todas estão susceptíveis, sendo elas, aves de corte, reprodutoras ou poedeiras. Quando infectada, a ave deixa de se alimentar, demonstra sonolência, diarreia esverdeada a amarelada e mortalidade de quatro a dez dias após o contato com o agente. Sua forma de transmissão é horizontal e tem altas taxas de mortalidade. (ESTUPIÑAN, 2016)

O paratifo aviário é uma patogenia que não acomete apenas uma fase da vida das aves, atinge desde as jovens às mais velhas; em aves adultas podem ou não causar sinais clínicos (AVILA, 2005). Sua transmissão se dá de forma horizontal e vertical, os sinais são basicamente parecidos ao do tifo aviário e da pulorose. As aves apresentam um estado de sonolência comprovada pela permanência da cabeça baixa,

diarreia aquosa, deixando as penas ao redor da cloaca sujas. Elas tem a necessidade de se manter ao redor de locais mais quentes. Em aves de postura o animal diminuirá a produção de ovos. (PRAZERES, 2004)

A principal forma de transmissão é horizontal que ocorre logo após a postura do ovo, com penetração da bactéria pelos poros presentes na casca do ovo; pode ocorrer pela via oral e respiratória e em alguns sorovares específicos pode ocorrer por transmissão vertical. (SANTOS *et al.*, 2009)

O diagnóstico é baseado nos sinais clínicos com a evolução do quadro clínico, exames laboratoriais e anatomopatológicos. A presença de anticorpos pode ser usada como confirmação de diagnóstico, mas sempre levando em conta os sinais clínicos devido às reações cruzadas com as diversas salmonelas (BACK, 2010). O diagnóstico definitivo é feito através do isolamento para a identificação do agente. (BERCHIERI *et al.*, 2012)

O tratamento é feito para reduzir os índices de mortalidade e morbidade dos animais, pois os tratamentos não são capazes de eliminar efetivamente as bactérias, tornando os animais portadores, que disseminam a bactéria (BACK, 2010). O tratamento antimicrobiano tem um período longo, portanto deve sempre prevenir a intoxicação, e a melhor forma para obter melhores resultados é a eliminação correta das aves mortas evitando uma disseminação da bactéria associado à higiene adequada ao tipo de produção. (LANA, 2000)

2.3. DROGAS ANTIMICROBIANAS NA AVICULTURA

Os antimicrobianos são substâncias químicas usados tradicionalmente para combate de doenças infecciosas e na avicultura principalmente para promoção de crescimento (LINZMEIER *et al.*, 2009). Os antibióticos promotores de crescimento são geralmente prescritos para controlar ou equilibrar a proliferação de bactérias gram-positivas que liberam metabólitos tóxicos os quais comprometem o ganho de peso (como os *Bifidobacterium sp.*, *Clostridium perfringens*, *Lactobacillus sp.* e *Bacteroides fragilis*) ou outras formas de agressão geradas pela super proliferação bacteriana, que causam competição por nutrientes com o hospedeiro e estímulo excessivo do sistema imune local. (ITO *et al.*, 2005)

Para escolher qual antibiótico será utilizado, deve-se conhecer suas propriedades de ação e qual patógeno precisa ser combatido, na intenção de matar o

micro-organismo causador e não apenas inibir seu crescimento. Avalia-se seu espectro de ação, índice terapêutico e influência sobre as defesas do organismo, de modo a evitar prejuízos com sua ação nas aves. A administração desses medicamentos deve ser fornecidas preferencialmente na água de bebida, pois as aves acometidas por qualquer doença tendem a parar de comer, mas não param de consumir água. (SANTANA *et al.*, 2011)

O uso desses antibióticos indiscriminado é proibido por criar bactérias resistentes a diversos fármacos e pelas restrições que o mercado vem criando para diminuir o consumo de carnes de aves, que são submetidas ao fornecimento de antibióticos na ração. (LINZMEIER, *et al.*, 2009)

2.4. SALMONELOSE NA SAÚDE PÚBLICA

A salmonelose representa risco à saúde pública, uma vez que é considerada uma toxinfecção alimentar, doença caracterizada pela ingestão de alimentos contaminados por patógenos e toxinas. As toxinfecções por *Salmonella spp.* são consideradas uma das principais causas de doenças transmitidas por alimentos. (CARDOSO E CARVALHO, 2006)

As doenças transmitidas por alimentos (DTA's) vêm aumentando em nível mundial devido a alguns fatores emergências dessas doenças, como: o crescente aumento das populações, a existência de grupos populacionais vulneráveis ou mais expostos, o processo de urbanização desordenado e a necessidade de produção de alimentos em grande escala. A maioria das doenças de origem microbiana tem características semelhantes como curto período de incubação, náuseas, vômitos, diarreia, febre ou não, dor abdominal. (CARSTENS, 2006)

Em seres humanos a contaminação por *Salmonella spp.* ocorre principalmente através da ingestão de carnes de aves, principalmente galinhas e perus (CARDOSO *et al.*, 2015). Através de carnes mal cozidas e ovos crus, contaminados (STERZO *et al.*, 2008). A infecção por tal patógeno ocupa hoje uma das primeiras colocações em incidências de enfermidades, que atingem a saúde pública, mesmo adotando medidas de sanidade obrigatórias (PENHA *et al.*, 2008). A apresentação clínica da salmonelose em humanos ocorre principalmente por distúrbios gastrointestinais como diarreia, vômito, náuseas acompanhados de febre ou não. (CARSTENS, 2006)

A via de transmissão é a feco-oral. Transmite-se, na maioria das vezes, através de comida contaminada por portadores, durante o processo de preparação e manipulação dos alimentos. A água também pode ser um veículo de transmissão. As manifestações gerais devem ser avaliadas e tratadas, se necessário. Recomendam-se repouso e dieta conforme a aceitação do paciente, devendo-se evitar alimento hipercalóricos ou hiperlipídicos. (MELLO *et al.*, 2013)

2.5. FITOTERÁPICOS

Os fitoterápicos constituem uma opção de tratamento medicinal que vem crescendo de maneira notável nos últimos tempos. As vantagens com o uso desses medicamentos são significativas em diversas áreas, despertando assim interesse por parte das indústrias farmacêuticas, propondo um tratamento de menor custo e com uma maior facilidade de acesso pela população. (OZAKI *et al.*, 2006).

A utilização de fitoterápicos no tratamento de enfermidades causadas por micro-organismos tem sido de grande importância na Medicina Veterinária. Pois representa uma alternativa natural para tratamento dessas patologias, que pode auxiliar na redução da resistência aos fármacos disponíveis e amenizar custos gerados pelo tratamento com fármacos comerciais. (DEGÁSPARI, 2011)

Pelo fato de alguns fármacos apresentarem resíduos em produtos de origem animal, prejudiciais à saúde humana, faz-se necessário respeitar o período estipulado de carência dos antibióticos, para que as concentrações de resíduos medicamentosos sejam reduzidas ao permitido ou até mesmo completamente livre. A detecção desses resíduos é realizada por diversos testes que asseguram a qualidade do produto a ser consumido. (LIMA, 2016).

Por esse motivo existe um impulso às pesquisas voltadas para os tratamentos fitoterápicos. Tomando por base que uma média de 80% da população brasileira necessita da utilização de fármacos de custo menos elevado, a Organização Mundial da Saúde (OMS) tem enxergado a essencial função de pesquisas, com plantas ditas medicinais, como alternativa economicamente viável para tratamento. (SILVA *et al.*, 2013)

Muitos vegetais têm sido foco de pesquisas, com o intuito de utilizá-los como antimicrobianos e de maneira profilática na prevenção de infecções. (MICHELIN *et al.*, 2005)

A atividade antimicrobiana das plantas pode ser atribuída à combinação de princípios ativos presentes nelas. Deixando claro que toda essa eficácia depende de diversos fatores, dentre eles o local onde a planta é colhida, lugar de armazenamento e solvente utilizado no preparo. (SANTOS *et al.*, 2014)

2.6. *Punica granatum*

A romã (*Punica granatum*) é um fruto do tipo baga, globoides medindo até 12 cm, com numerosas sementes envolvidas por um arilo róseo, cheio de líquido adocicado (DEGÁSPARI, 2011). É usada popularmente no tratamento de várias enfermidades, com predominância em doenças gastrointestinais. Na saúde humana, o suco é utilizado em tratamento de úlceras na boca e gengivas, queixas de dores de ouvido, tratamentos de disenterias, dentre outros. As flores têm utilização em problemas dentários, evitando a perda dos dentes em alguns casos. (SANTOS *et al.*, 2014)

Essa planta tem eficácia comprovada e ação antimicrobiana já testada em alguns agentes, é de fácil acesso pela população, pois é encontrada em todas as regiões do país. A romã tem como principal constituinte os alcaloides (peletierina, isopeletierina, metilpeletierina), compostos fenólicos (antocianinas, quercertina), taninos e ácidos flavonoides, substâncias que estão diretamente relacionadas às propriedades terapêuticas. (MOREIRA *et al.*, 2014)

Diversos estudos comprovaram a eficácia do extrato *in vitro* da *P. granatum* no tratamento de *Staphylococcus aureus* (SILVA *et al.*, 2013). Na medicina veterinária já foi testada com sucesso no tratamento de mastite bovina, onde apresentou atividade antimicrobiana e anti-inflamatória. (SANTOS *et al.*, 2014)

Na maior parte dos trabalhos analisados, ela apresenta eficácia em tratamentos de diversas enfermidades, tendo como principal atividade antimicrobiana. O estudo da planta hoje é dado como promissor na área de desenvolvimento de fitoterápicos, para um tratamento de custo menos elevado, diminuindo assim a resistência a alguns fármacos. Dentre as diversas áreas, em que se interessam pelo estudo da planta, as que demonstram maior interesse são Medicina Veterinária e a Odontologia, uma vez que o extrato da planta tem eficácia comprovada em tratamentos de infecções de boca e da mastite bovina. (WERKMAN *et al.*, 2008)

3. METODOLOGIA

3.1. PREPARO DO EXTRATO

Os frutos de *P. granatum* foram coletados em Granada, distrito de Abre Campo. O extrato da casca do fruto foi obtido utilizando-se, como agente extrator, álcool etílico a 70%. As romãs foram abertas e seu conteúdo interno retirado; foram pesados 400g da casca do fruto e colocados em 1600 ml de álcool a 70%. Essa mistura foi armazenada à temperatura ambiente por 5 dias. Após esse período, a solução foi filtrada em gaze e incubada em banho-maria (45°C) até a evaporação do etanol. Em seguida estoca em recipientes adequados até seu uso.

3.2. AMOSTRAS

Salmonella spp. previamente isolada de granjas avícolas da região de Santa Bárbara do Leste – MG, foi repicado sobre a superfície sólida de placas com meio MLCB (Mannitol Lysine Crystal Violet Brilliant) estriado de forma a se obter colônias isoladas. Incubadas todas as placas, invertidas, a 36°C por 18 horas. Foram selecionadas de 3 a 10 colônias típicas suspeitas por amostra: negras, convexas, lisas e brilhantes, com bordas regulares.

3.3 ENSAIO *in-vitro*

A atividade antimicrobiana em placas foi determinada pelo método de difusão em meio sólido. A cepa cultivada foi diluída em NaCl 0,85% até que se obtivesse uma turbidez equivalente ao número 5 da escala MacFarland e a diluição passada sobre as superfícies de uma placa com ágar Muller Hinton. Utilizaram-se orifícios de 6 mm de diâmetro os quais foram preenchidos com 40µL da solução dos extratos diluídos em água destilada autoclavada, com a solução estoque diluída às concentrações de 10, 50, 100 e 500 mg/ml. Utilizou-se água destilada como controle negativo. O ensaio foi realizado em duplicata e a média do diâmetro dos halos de inibição, formados ao redor do orifício de depósito do extrato foi utilizada para avaliação da atividade antimicrobiana em cada diluição. Para comparação do efeito obtido pelo extrato foi realizado teste de sensibilidade aos antimicrobianos comerciais: Penicilina, Amoxicilina+Clavulanato, Amoxicilina, Gentamicina, Enrofloxarcina, Eritromicina, Estreptomicina, Doxiciclina, Tetraciclina pelo método de disco de difusão e o diâmetro

do halo avaliado, segundo referência internacional. Foram incubadas em estufas à 36°C por 18 horas. (CLSI, 2005)

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A avaliação *in vitro* demonstrou formação de halos de inibição em todas as quatro diluições de *P. granatum* testadas (FIGURA 1). Entretanto, as diluições, como esperado, apresentaram variações no diâmetro do halo de acordo com a concentração do extrato (TABELA 1).

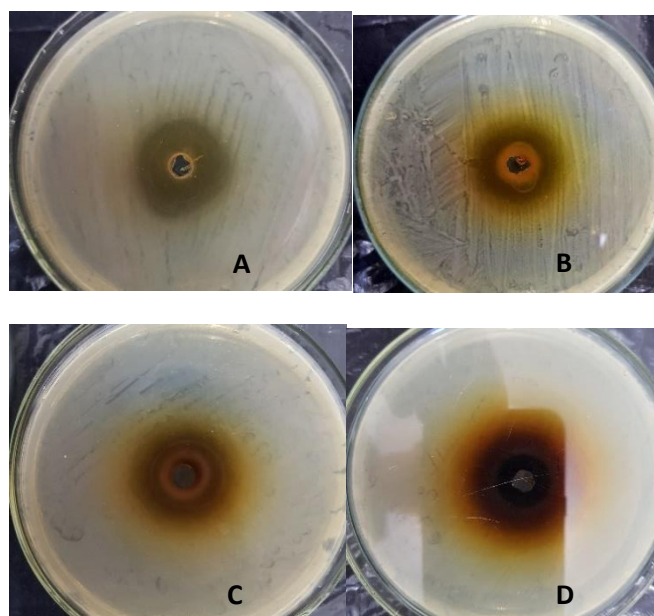


Figura 1: Placas teste com extrato de *P. granatum*. Concentrações: A) 10 mg/ml B) 50mg/ml; C) 100mg/ml; D) 500mg/ml

As placas controle, antes mesmo da avaliação dos diâmetros do halo, já revelaram que a cepa utilizada é uma cepa de grande resistência, uma vez que não apresentou halo algum ao redor de cinco das nove bases comerciais testadas (FIGURA 2).

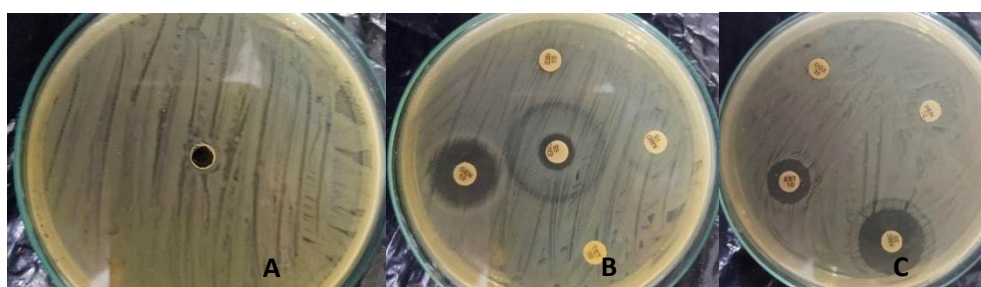


Figura 2: Placas Controle. A) Controle negativo (água); B e C) Controle com antimicrobianos comerciais: GEN (gentamicina); TET (tetraciclina); AMO (amoxicilina); ERI (eritromicina); ENO (enrofloxacina); EST (estreptomicina); AMC (amoxicilina+clavulanato); PEN (penicilina); DOX (doxiciclina).

Pela avaliação dos diâmetros dos halos de inibição, apresentados na Tabela 1, observa-se que a cepa demonstrou resistência a sete das nove bases de controle avaliadas. Destas apenas duas apresentaram eficácia, amoxicilina associada ao clavulanato e gentamicina. As demais bases apresentaram ausência de halo ou halos menores que o valor de referência para cepas sensíveis. Para os extratos de *P. granatum*, foram identificados nas concentrações de 10, 50 e 100 mg/ml, halos de inibição maiores que os obtidos pelas bases comerciais. O maior halo observado foi na concentração de 100 mg/ml; á na concentração de 500 mg/ml, o menor halo.

Tabela 1: Diâmetro dos halos obtidos na avaliação de atividade antimicrobiana com extratos de *P. granatum* e antimicrobianos comerciais.

Base	Diâmetro (mm)	Valor de referência para sensibilidade
Extrato <i>P. granatum</i> 10 mg/ml	21,5	-
Extrato <i>P. granatum</i> 50 mg/ml	21,0	-
Extrato <i>P. granatum</i> 100 mg/ml	23,5	-
Extrato <i>P. granatum</i> 500mg/ml	18,0	-
Amoxicilina	-	≥17
Amoxicilina + Clavulanato	20,0	≥18
Doxiciclina	-	≥16
Enrofloxacina	10,0	≥23
Eritromicina	-	≥23
Estreptomicina	14,0	≥15
Gentamicina	16,0	≥15
Penicilina	-	≥17
Tetraciclina	-	≥19

A identificação de grande resistência na cepa avaliada engrandece o desempenho obtido pelo extrato, uma vez que mostrou-se eficaz quando vários fármacos, disponíveis comercialmente, não apresentaram efeito satisfatório.

O efeito antimicrobiano da romã pode ser explicados por três mecanismos: i) inibição das enzimas de bactérias e fungos e/ou a complexação dos substratos (as

enzimas); ii) a ação dos taninos presentes na planta sobre as membranas celulares dos micro-organismos, modificando o seu metabolismo; iii) a complexação dos taninos com íons metálicos, diminuindo a disponibilidade destes elementos essenciais para o metabolismo dos micro-organismos. (SANTOS *et al.*, 2014)

Prashanth, Asha&Amit (2001) relatam atividade antimicrobiana de diferentes concentrações do extrato de *P. granatum*, testando *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella Typhi*. Neste estudo identificaram maior atividade do extrato metanólico contra *P. vulgaris*, o que justificaria a avaliação de diferentes extratos de acordo com a bacteria avaliada.

Al-Zoreky (2009) observaram atividade antimicrobiana do extrato metanólico da casca de romã, a 10 mg/ml, contra *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*. A concentração inibitória mínima (MIC) identificada contra *Salmonella enteritidis* foi na concentração (4 mg/ml) dentre os valores de MIC obtidos para nove bactérias diferentes. Esse resultado indica que pode haver atividade inibitória em concentrações ainda menores que as testadas.

Vários trabalhos já testaram e provaram a eficiência da romã, contra *S. aureus*; a atividade antimicrobiana foi comprovada com o aparecimento de halos de inibição de crescimento (SILVA *et al.*, 2008; SILVA, *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2014).

Baseando-se nos estudos realizados por Calixto (2012), acredita-se que as resistências demonstradas neste estudo podem ser explicadas pela composição, classe e mecanismo de ação desses fármacos. A penicilina é um dos mais antigos antimicrobianos existentes no mercado, tem eficiência comprovada em diversos antimicrobianos Gram-positivo e alguns Gram-negativos, com um índice alto de resistência bacteriana. Seu mecanismo de ação atua inibindo a síntese da parede celular da bactéria, através do bloqueio da síntese da camada de peptidoglicano da parede celular, Por consequência da inibição dessa síntese as bactérias fazem lise osmótica e depois morrem. Calixto (2012) ainda diz que a perda de sua ação se dá através de enzimas que realizam a catálise hidrolítica do fármaco, as beta-lactamases, pois elas atuam na degradação do anel beta-lactâmico presente. Essa ação é observada por bactérias, que são capazes de hidrolisar o antibiótico antes que ele atinja seu sítio de ação.

Souza (2016) relata que no uso da amoxicilina, também não teve sucesso pelo mesmo motivo da penicilina, mas a associação da amoxicilina ao clavulanato potencializa a ação dos dois. A amoxicilina age interrompendo a síntese de peptídeoglicano da parede celular e o clavulanato interrompe a ação enzimática da beta-lactamase que é produzida por bactérias resistentes a antibióticos beta-lactâmicos, o que poderia explicar a eficácia obtida pela associação neste estudo.

Corroborando também com este trabalho Almenara *et al.*, (2008) relatam que a gentamicina e a estreptomicina são aminoglicosídeos que agem potencialmente e preferencialmente em bactérias Gram-negativas. Esses dois fármacos apresentam atividade contra a bactéria testada, apesar de apenas a gentamicina ter alcançado diâmetro de halo suficiente para considerar a cepa sensível. O mecanismo de ação é semelhante nos dois antibióticos e se dá através de sua ligação irreversível em proteínas receptoras do ribossomo bacteriano. Interferindo em vários mecanismos, provocando assim a incorporação de um aminoácido incorreto no produto proteico. Por esse motivo eles são considerados bactericidas.

Como citado por Ximenes (1999), a eritromicina pertence ao grupo dos macrolídeos, que podem ser bactericidas ou bacteriostáticos, dependendo do micro-organismo. Sua ação é maior em bactérias Gram-positivas devido às diferenças estruturais da parede bacteriana, sendo esse um provável motivo da ausência de eficácia sobre *Salmonella* spp. utilizada nesse estudo.

A enrofloxacin de acordo com Barcellos *et al.*, (2006) pertence à família das fluorquinolona, bactericida que age inibindo a DNA-girase da bactéria. Antibiótico de amplo espectro é eficaz contra bactérias Gram-negativas e algumas Gram-positivas. Utilizado na rotina contra enterobactérias, o que corrobora com a apresentação de halo observado neste estudo, embora também não seja incluído como base para qual a cepa seja sensível.

Considerando também o estudo de Moreira (2012), que acredita-se que a resistência da *Salmonella* aos antimicrobianos se dá por suas mutações pontuais no seu QRDR (Região Determinante de Resistência a Quinolonas). Sendo também considerado um processo de resistência à aquisição de genes transportados por bactérias que são resistentes, sendo característica a evolução ou transferência horizontal. Esse mecanismo um dos principais em bactérias do gênero Gram-negativo, no qual afetam antimicrobianos do tipo penicilinas, cefalosporinas e também os que

compartilham uma estrutura denominada beta-lactâmicos, que é o alvo das beta-lactamases, enzimas produzidas por bactérias resistentes aos beta-lactâmicos.

Todas as observações deste estudo revelam grande potencial da utilização do extrato da romã no controle da salmonelose e configura-se como alternativa viável no controle do agente, mesmo frente à cepas resistentes. Sendo considerado um estudo promissor.

5. CONCLUSÃO

Foi comprovada neste estudo a eficiência *in vitro* do extrato de *P. granatum*, no controle de *Salmonella* spp. Os resultados indicam potencial para uso no controle e prevenção da salmonelose. Este trabalho fornece base para outros estudos para determinação da concentração inibitória mínima para o agente, bem como estudos de diferentes métodos de obtenção do extrato e avaliação de sua toxicidade *in vivo*.

6. REFERÊNCIAS

ALMENARA, F. S., RIBEIRO. L., MATSUNO. R. M. S., LOPES. R. M. G., OLIVEIRA. T. S., PEREIRA. D. M.- Ototoxicidade do aminoglicosídeo. **REVISTA CIENTÍFICA ELETÔNICA DE MEDICINA VETERINÁRIA** – ISSN: 1679-7353. Ano VI – Número 11 – Julho de 2008 – Periódicos Semestral.

ANDREATTI FILHO, R. L. **Salmonelose Aviária**. Memórias, 5º reunion AECACEM. Querétaro, Março, 2012. 124-160 p.

Al-Zoreky, N.S. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. **International Journal of Food Microbiology** v.134, p.244–248, 2009.

ARGOLLO, L. A. T; Ocorrência de Anticorpos Contra *Salmonella Pullorum* e *Salmonella Gallinarum* em Galinhas de Quintal no Município Simões Filho- Bahia- **UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA- ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA, DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E CLÍNICA-** 2006.

AVILA, L. A. F; Redução do nível de contaminação por *Salmonella* Enteritidis em frangos de corte – **Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul- Faculdade de Veterinária, Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária-** 2005.

BACK, A. **Manual de doenças de aves**. 2º.ed. Editora Integração: Cascavel, PR. 2010. 311p.

BARCELLOS, H.H.A., OLIVEIRA, S. T., ALVES, L. P., MOTTA, A. C., ROCHA, F. R., BRUN, M. V., Intoxicação por enrofloxacin em um cão da raça Pinscher Miniatura: relato de caso.- Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – UPF. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58, n.1, p.39-43, 2006.

BARRETTO, J.R.; SILVA L.R. Intoxicações alimentares. Divisão de doenças micóticas e bacterianas. 2013.

BRASIL, MINISTERIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, PORTARIA Nº 193, DE SETEMBRO DE 1994.

CALIXTO, C.M. F. Penicilina: Efeito do Acaso e Momento Histórico. **QUÍMICA NOVA NA ESCOLA**. Vol. 34, Nº 3, p. 118-123, AGOSTO 2012

CARDOSO, T. G.; SILVA, V. M. Toxinfecção Alimentar por *Salmonella* spp. **Rev.InstCiênc Saúde** ,2006.

CARDOSO, P.S.L.A.; TESSARI, C.N.E; **Salmoneloses aviárias: revisão**. ELETRÔNICA NUTRITIME – ISSN 1983-9006 www.nutritime.com.br Artigo 304 Volume 12 - Número 03– p. 4049 - 4069 Maio/Junho 2015

CARSTENS, T. L. Doenças Transmitidas Por Alimentos (D.T.A.). **Universidade Tuiuti Do Paraná** , 2006.

CLSI. **Normas de desempenho para testes de sensibilidade antimicrobiana: 15º suplemento informativo**. 2005. Disponível em:

http://www.anvisa.gov.br/servicos/saude/manuais/clsi/clsi_OPASM100S15.pdf

Acesso em: 28/05/2018.

DEGÁSPARI, C. H; DUTRA. A. P.C; **Propriedades Fitoterápicas Da Romã (*Punica granatum L.*)**. Visão Acadêmica, Curitiba, v.12, n.1, Jan. - Jun./2011

ESTUPIÑAN, A. L. C; Ressurgência do tifo aviário na avicultura industrial brasileira: novos estudos epidemiológicos de uma enfermidade antiga. **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP CÂMPUS DE JABOTICABAL**- 2016

FERREIRA, L. L.; MENDES, F. R.; SANTOS, B. M.; ANDRADE, M. A.; CAFÉ, M. B. **Salmonelose em sanidade avícola e saúde pública**. **REVISTA ELETRÔNICA NUTRITIME**. Artigo 213 - Volume 10 - Número 05 – p. 2716 – 2751 – Setembro-Outubro/2013

ITO, N. M. K.; MIYAJI, C. I.; LIMA, E. A.; OKABAYASHI, S. **Flora bacteriana: patologia do parasitismo bacteriano**. Editora Elanco, p. 61-88, 2005.

JÚNIOR. B. A.; Controle de Salmoneloses mostra resultados no combate ao tifo aviário. **Informativo Técnico Avícola Biovet**, ano 11, n.2, 2012.

KOWALSKI, L.H; FERNANDES, R. S; SILVA, A. P; BRETD, C. R; CRUZ, A. T; SILVA, M. G. B; Salmoneloses emergentes de origem aviária. **PUBVET**, Londrina, V.5, N. 34, Ed. 181, Art. 1221, 2011

LANA, G.R.Q; **Avicultura**. Campinas: Rural, 2000, p.193-196.

LIMA, A. P. Pesquisa de resíduos de anticoccidianos por I_c-ms/ms em frangos de corte submetidos a tratamento farmacológico-**Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG**- Belo Horizonte, 2016.

LINZMEIER, L. G.;BAZAN, C. T.;ENDO, R. M.;LINO, R. S.;MENINO, B. B.;PUGLIESE, P.;SHAFRANSKI, E.;SILVA, L. C. Uso de antibióticos em aves de produção. **REVISTACIENTÍFICA ELETRÔNICA DE MEDICINA VETERINÁRIA**, Ano VII – Número 12 – Janeiro de 2009

MELLO, M.L.R.; EDUARDO, M. B. P.;MORAES, I. R.;FERNANDES, S. A.; GUARNIERI, C. E. SalmonellaTyphi/Febre Tifóide- Manual de Doenças Transmitidas por Alimentos. **INFORMENET DTA** ,2013.

MICHELIN, D. C; MORESCHI, P. E; LIMA, A. C; NASCIMENTO, G. G. F; PAGANELLI, M. O; CHAUD, M. V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Rev. Bras. Farmacogn. Braz J. Pharmacogn.** 15(4):out/dez. 2005

MOREIRA, G. M. B; MATSUMOTO, L. S; SILVA. R. M. G; DOMINGUES, P. F; PEIXOTO, E. C. T. M; Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de Punica granatumLinn. sobreStaphylococcus spp. isolados de leite bovino. **Pesq.Vet. Bras.** 34(7):626-632, julho 2014.

MOREIRA, N. M. Estudo sobre Salmonella spp. e seus mecanismos de resistência a antibióticos. **UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL** Disciplina: SEMINÁRIOS APLICADOS- Goiânia-2012.

MOTA, P. B; *Salmonella* adaptadas às aves. **UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS- Goiânia-2013.**

OZAKI, A. T; DUARTE, C. P. FITOTERÁPICOS UTILIZADOS NA MEDICINA VETERINÁRIA, EM CÃES E GATOS- **Infarma**, v.18, nº 11/12, 2006.

PENHA. G. A; SUZUKI, E. Y; UEDA, F. S; PERES, P. R. E; Diagnóstico da salmonelose e sua importância para a avicultura: revisão de literatura. **REVISTA CIENTÍFICA ELETÔNICA DE MEDICINA VETERINÁRIA** – Ano VI – Número 10 – Janeiro de 2008 – Periódicos Semestral.

PRASHANTH, D; ASHA,M.K; AMIT, A. Antibacterialactivityof Punica granatum. **Fitoterapia** v.72, p.171-173. 2001.

PRAZERES, E. C. Salmonelose aviária. **Monografia apresentada ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade Tuiuti do Paraná- Curitiba 2004.**

RODRIGUES, P. O. W., GARCIA. G. R; NAAS, A. I; ROSA. O. C; CALDARELLI. E. C; Evolução da avicultura de corte no Brasil. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.10, n.18; p. 2014.

ALLE, C.T.P; MORAES, H.L.S. Doenças das Aves: Prevenção de doenças/Manejo profilático/Monitoria. 2. ed. Campinas: **Facta-fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas**, 2009. 17 p.

SANTANA, R. C. Penicilinas, **Curso Básico de Antimicrobianos-** Divisão de MI – CM – FMRP-USP.

SANTANA, E.S.; OLIVEIRA, F.H.; BARNABÉ, A.C.S.; MENDES, F. R.; ANDRADE, M. A. Uso De Antibióticos E Quimioterápicos Na Avicultura. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia-GO, 2011.

SANTOS, B.M; MOREIRA, M.A.S; DIAS, C.C.A. Doenças de etiologia bacterina. In: Manual de **Doenças Avícolas**. ed.UFV. 2009. cap.3, p. 107-116.

SANTOS, L. A; MENEZES, J. S; RUFINO, L. R. A; OLIVEIRA, N. M. S; FIORINE, E. J; Avaliação da atividade de punica granatulinnaeus contra Staphylococcus aureus isolados de mastite bovina e ação anti-inflamatória "in vivo". **Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações**, v. 12, n. 1, p. 775-784, jan./jul. 2014.

SILVA, M.A.R; HIGINO, J.S; PEREIRA, J.V; SIQUEIRA, J.P; PEREIRA, M.S.V. **Antibiotic activity of the extract of Punica granatum Linn. Over bovine strains of Staphylococcus aureus**. Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy. v.18(2): 209-212, Abr./Jun. 2008

SILVA, B. T; ANJOS, C; NOVO. S. M. F; MATSUMOTO, L. S; PEIXOTO, E. C. T. M; SILVA, L. P; SILVA. R. M. G; Atividade antimicrobiana in vitro de extrato de Punica granatum L. SOBRE Staphylococcus aureus isolado em leite bovino. **Biosci. J., Uberlândia**, v. 29, n. 4, p. 974-984, July/Aug. 2013.

SOUZA, A. Avaliação citotóxica de Amoxicilina e Clavulanato de Potássio em mexilhões Perna perna. **INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**- Autarquia associada à Universidade de São Paulo-2016

STERZO, V. E; VARZONE, M. R, J; FERRARI, R; Salmoneloses Aviárias. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde** Vol. XII, Nº. 2, Ano 2008.

WERKMAN, C; GRANATO. D.C; KERBAUY. W.D; SAMPAIO.F.C., BRANDÃO. A.A.H., RODE, S.M. Aplicações terapêuticas da Punica granatum L. (romã). **Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu**, v.10, n.3, p.104-111, 2008.

XIMENES, J. A. A. Avaliação do estearato de eritromicina sobre o esvaziamento da vesícula biliar em pacientes chagásicos - **REVISTA DE PATOLOGIA TROPICAL**. Vol. 28 (2): 61-83 jul-dez. 1999.

AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DA SILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR UTILIZANDO DIFERENTES ADITIVOS

Acadêmicos: Felipe Oliveira Angelo e Caio José Herculano Silveira Oliveira

Orientador: Paulo César Amorim e Amorim

RESUMO

A ensilagem da cana-de-açúcar apresenta uma série de benefícios quando há necessidade de utilização desta forragem na alimentação animal. O uso de aditivos em silagens no Brasil vem aumentando nos últimos anos, embora ainda necessite de muita pesquisa quanto a efetividade e escolha de cada inoculante. No presente trabalho avaliou-se o efeito do uso de aditivos químicos e microbianos em silagens de cana-de-açúcar. Os seguintes aditivos foram utilizados na confecção das silagens: controle (sem aditivos), ureia na dose de 0,5% diluída em água, inoculante *Lactobacillus buchneri*, seguindo as recomendações do fabricante e por fim a associação de 0,5% de ureia e *Lactobacillus buchneri*. As variáveis avaliadas foram: matéria seca, fibra em detergente ácido, nutrientes digestíveis totais e proteína bruta. Observou-se um aumento na proteína bruta quando adicionamos ureia a 0,5% e conseqüentemente um aumento nos nutrientes digestíveis totais, assim como na silagem onde foi feita a associação de ureia 0,5% e inoculante *Lactobacillus buchneri*.

PALAVRAS-CHAVE: Cana-de-açúcar; aditivos; silagem.

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é uma alternativa cujo custo benefício é bastante atraente, principalmente quando utilizada na forma de silagem. Alternativa que contorna os problemas de moagem diária (JUNQUEIRA, 2006). De forma geral o consumo da silagem é menor que a cana-de-açúcar *in natura*, porém em períodos de escassez de forragens se torna uma boa alternativa (CHARMLY, 2001).

A cana-de-açúcar é atualmente uma das principais culturas do agronegócio brasileiro, sendo utilizada principalmente para fabricação de açúcar e etanol. Contudo, estima-se, informalmente, que 10% da produção nacional desta forragem é destinada à alimentação animal (NUSSIO *et al.*, 2004).

A utilização da cana-de-açúcar como recurso forrageiro vem crescendo ano a ano em função de diversas vantagens, como elevada produtividade, tolerância a restrição hídrica e o menor custo de produção em comparação ao milho e sorgo forrageiros (NAUFEL *et al.*, 1969; NOGUEIRA FILHO *et al.*, 1977).

A silagem de cana-de-açúcar é uma forragem conservada em meio ácido em ambiente anaeróbico, restringindo a respiração celular. Neste processo os ácidos produzidos reduzem o pH da massa ensilada inibindo ação de microorganismos que promovem a deterioração da mesma (EMBRAPA, 2003).

A evolução no uso de aditivos durante o processo de ensilagem, contendo bactérias heterofermentativas, produtoras de ácido acético ou propiônico, contribuiu para melhorar a estabilidade aeróbia e o perfil fermentativo das silagens (PEDROSO *et al.*,2007). Aditivos químicos e microbianos são recomendados para ensilagem da cana-de-açúcar. Entre os aditivos microbianos destaca-se o *Lactobacillusbuchneri* que é capaz de reduzir a população de leveduras e aumentar a estabilidade aeróbica (RANJIT, 2000; TAYLOR, 2002).

A ureia é classificada como aditivo químico e quando utilizada durante a ensilagem, é hidrolisada a amônia, que apresenta efeito inibidor sobre a população de leveduras e mofos e tem se mostrado um bom aditivo capaz de reduzir a produção de etanol (ALLI *et al.*,1983).

Portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar e comparar a composição bromatológica de silagens de cana-de-açúcar utilizando-se diferentes aditivos durante a ensilagem.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Nesse trabalho foram destacadas as principais características da cana-de-açúcar desde o plantio até o processo de silagem, considerando os custos e benefícios, assim como o uso de aditivos na ensilagem de cana-de-açúcar, sejam os biológicos ou químicos.

2.1. Principais características da cana de açúcar

A cana-de-açúcar *Saccharumssp* é uma planta da família *Poaceae*. Suas principais características são inflorescência em forma de espiga, o crescimento do caule em colmos, as folhas com lâminas sílicas e a bainha aberta. Em razão da falta de resistência a baixas temperaturas, a cultura se adapta melhor em clima tropical (RODRIGUES, 1995).

Esta cultura gera uma grande quantidade de empregos diretos e indiretos. Segundo a Conab na safra 2016/2017 a produção foi de 657 milhões de toneladas,

sendo a principal matéria prima para fabricação do açúcar, álcool, aguardente e alimentação animal (RODRIGUES, 1995).

Depois de escolhida a variedade, deve-se atentar para a época do plantio, cujo principal período é de setembro a início de dezembro, em função da boa disponibilidade hídrica. No entanto, o número de plantios ao longo de todo ano vem aumentando gradativamente, contando assim com os sistemas de irrigação (SANTOS *et al.*, 2013).

O adequado espaçamento no plantio permite o aumento da produção através do melhor aproveitamento do espaço e recursos como luz, água e temperatura. A renovação do canavial deve ser realizada a cada 5 (cinco) ou 7 (sete) anos, o que torna muito importante a qualidade da muda, que é o fator de produção de mais baixo custo e de maior retorno econômico ao agricultor.

O plantio demanda muita mão de obra. Após a abertura dos sulcos, geralmente mecanizada, realiza-se a distribuição das mudas, que deve ser cortada em toletes de 3 (três) gemas. Em seguida deve-se cobrir o mais rápido possível, para reduzir a perda de água e principalmente evitar o ressecamento dos toletes (SANTOS *et al.*, 2013).

A grande adoção da cana-de-açúcar como volumoso suplementar para a seca, baseia-se na facilidade e tradição de cultivo e, sobretudo, por constituir-se em opção competitiva, quando comparada a outras forragens (NUSSIO *et al.*, 2003).

As variedades de cana-de-açúcar utilizadas na alimentação animal apresentam a seguinte composição média: 30,1% matéria seca (MS), 2,7% proteína bruta (PB), 1,4% extrato etéreo (EE), 53,6% de fibra em detergente neutro (FDN) e 62,8% de nutrientes digestíveis totais (NDT) (Cqbal 3.0).

Os ruminantes são capazes de transformar compostos nitrogenados, não protéicos em proteína verdadeira (PINTO *et al.*, 2009). Desta forma a associação de cana-de-açúcar com ureia é altamente recomendada em função do baixo valor proteico dessa forragem e do bom valor energético.

O elevado teor de sacarose é fundamental para o fornecimento de energia a microbiota ruminal otimizando a síntese de proteínas a partir da ureia disponibilizada. A associação da cana-de-açúcar com 1% de ureia pode elevar o teor protéico da cana-de-açúcar em cerca de 7% (SILVA; LEÃO, 1979).

Quando a cana-de-açúcar é utilizada associada com a ureia, é indicada a proporção de 1 (uma) parte de sulfato de amônia para 9 (nove) partes de ureia, sendo

que na primeira semana (período de adaptação), devem ser utilizados 0,5% da mistura ureia pecuária + fonte de enxofre na cana-de-açúcar. Já na segunda semana (período de rotina) é indicado usar 1% da mistura de ureia pecuária + fonte de enxofre na cana-de-açúcar (ANDRIGUETTO, 1999).

O uso da cana-de-açúcar *in natura* é tradicional e de amplo conhecimento dos produtores, entretanto, demanda mão-de-obra diária para o corte, despalhamento, picagem e transporte. Logo, estabelece limitação logística/operacional quando se pretende suplementar rebanhos de maior porte.

Dessa forma, a possibilidade de conservação desse material para fornecimento posterior aos animais permite melhor logística para sua utilização e, conseqüentemente redução dos custos associados ao corte diário (NUSSIO *et al.*, 2003).

A ensilagem da cana-de-açúcar foi proposta a fim de, ao mesmo tempo, contornar as dificuldades operacionais na condução do corte diário e promover uma concentração de atividades que propiciem o aumento da eficiência do uso de mão de obra e maquinários, aliado à redução do risco de incêndios acidentais.

Outras questões como rebrota uniforme do talhão e a realização de práticas agrônômicas podem ser consideradas vantagens da ensilagem em comparação ao corte diário. No entanto, durante o processo fermentativo ocorre intensa atividade de leveduras epífitas, que convertem açúcar a CO₂, água e etanol reduzindo o valor nutricional da forragem ensilada (BERNARDES *et al.*, 2007).

2.2. Silagem

A conservação de alimentos através da ensilagem é uma técnica bastante antiga, utilizada há séculos. Têm se constituído numa prática alternativa para alimentação do rebanho durante o período seco, em que os fatores climáticos não são favoráveis para a manutenção da produção e da qualidade das pastagens, em condições satisfatórias (EVANGELISTA, 2002).

A silagem é o produto resultante da fermentação anaeróbica da planta forrageira, picada e armazenada, rapidamente em estruturas denominados silos (SILVA 2003).

Devido às perdas inerentes ao processo de ensilagem provenientes da ação de leveduras, tem sido constante a indicação do uso de aditivos para reduzir essas perdas (SIQUEIRA *et al.*, 2007; PEDROSO *et al.*, 2007; ROTH *et al.*, 2010).

As forragens destinadas à ensilagem devem apresentar elevado teor de carboidratos solúveis, boa digestibilidade e baixo poder tampão. O milho é considerado a planta ideal para ensilagem, pois apresenta várias características desejáveis que favorecem um bom processo fermentativo aliado a elevada produtividade e aceitação dos animais (LEMPP *et al.*, 2000).

Já a cana-de-açúcar apresenta alta produtividade, bom teor de matéria seca no ponto de ensilagem e elevado teor de carboidratos solúveis. Entretanto, o elevado teor de sacarose e a grande população de leveduras favorecem a fermentação alcoólica, produção de etanol e baixa estabilidade aeróbica (CARVALHO *et al.*, 2015).

A conservação do material ensilado é realizada em silos horizontais, do tipo trincheira ou de superfície. Há também silos cilíndricos verticais, do tipo cisterna ou aéreo, mas estão em desuso em função do difícil manejo (PEIXOTO, 1993).

Quanto ao enchimento do silo, este deve ser rápido para evitar que o material ensilado fique muito tempo em contato com o ar, sendo o período ideal de enchimento de três a quatro dias.

A compactação é um ponto crítico durante o processo de ensilagem. O oxigênio, decorrente da presença de ar após o fechamento do silo, favorece o crescimento de microrganismos indesejáveis, que influenciam diretamente no processo fermentativo, causando perda de nutrientes e redução do valor nutricional. A compactação geralmente é realizada através de compressão mecânica do material ensilado com tratores. Esta deve ser enérgica e contínua, com a finalidade de eliminar o ar presente entre as partículas (MUCK *et al.*, 2003).

Outro fator fundamental é a vedação eficiente do silo, evitando assim a entrada do ar e da água. O tempo decorrido do enchimento até a abertura do silo deve ser no mínimo de 30 dias para estabilização do processo fermentativo (VILELA, 1985).

Vários aditivos têm sido utilizados com o objetivo de reduzir perdas no processo fermentativo e aumentar a estabilidade aeróbica da silagem. Os aditivos podem ser classificados em químicos ou biológicos e a escolha dependerá da silagem produzida e do objetivo a ser alcançado (NUSSIO & SCHMIDT, 2004).

2.3. Uso de aditivos na ensilagem de cana-de-açúcar

As perdas durante o processo fermentativo da cana-de-açúcar podem ser elevadas decorrentes da ação de leveduras que em condições de anaerobiose

fermentam a sacarose em gás carbônico e etanol gerando perdas que podem chegar a 48,9% da MS (SIQUEIRA *et al.*,2007).

Com intuito de reduzir essas perdas tem-se recomendado aditivos químicos e bacterianos que inibem a população de leveduras e bloqueiam a via fermentativa da produção de alcoóis. (ANDRIGUETTO, 2002).

Muitos produtos comerciais são utilizados como aditivos sem serem devidamente testados. Esta falta de informações técnicas confiáveis leva o produtor a substituir boas técnicas de manejo do silo por aditivos, que podem não apresentar o efeito desejado (MORAES, 1995).

Dentre os aditivos químicos destaca-se a ureia que está recomendada para silagens que apresentam baixos teores de proteína bruta. A ureia é quimicamente classificada como amida e, por isso, é considerada, um composto nitrogenado não protéico (MAYNARD, 1984). Além de elevar os níveis de proteína bruta ao fornecer nitrogênio para multiplicação de microrganismos desejáveis observa-se também uma melhora na estabilidade aeróbica da silagem (EVANGELISTA e LIMA, 1999,KUNG JR.,2003).

Recomenda-se a utilização da ureia em concentrações variando 0,5% a 1,5% diluída em água e aplicada durante o enchimento do silo. Em relação à composição bromatológica tem-se observado aumentos variáveis nos níveis de proteína bruta assim como menores níveis de fibra em detergente ácido, quando se utiliza este aditivo. (LIMA *et al.*,2002).

Outras fontes de nitrogênio também podem ser utilizadas como os farelos de oleaginosas. Apesar de serem ótimos suplementos proteicos possuem a desvantagem de terem custo mais elevado por unidade de nitrogênio que as fontes de nitrogênio não proteico (NNP), como a ureia (SWINGLE *et al.*, 1997).

Aditivos bacterianos são compostos por microrganismos específicos que apresentam uma série de benefícios tais como: acelerar o processo fermentativo e a redução do PH do material ensilado, inibir a proliferação de microrganismos indesejáveis e reduzir a deterioração aeróbica após a abertura (HENDERSON, 1993).

O *Lactobacillusbuchneri* (Silomax Cana[®]) tem como características elevar a produção de ácido acético e com isso é capaz de inibir a proliferação de leveduras que estão associadas à deterioração aeróbica e fermentação alcoólica. Na silagem da

cana-de-açúcar são os principais microrganismos responsáveis pelas perdas durante o processo fermentativo.

Este inoculante é específico para cana-de-açúcar. Atua no controle de atividade de fungos e leveduras indesejáveis, diminuindo o teor alcoólico em até 50% e maior estabilidade aeróbica após abertura. Hidrodispersível, *Lactobacillusbucheneri* NCIMB 40788: 2,5 x 10¹⁰ UFC/g - Veículo (sacarose) qsp 100g. Dose de utilização: Aplicar silomax cana na proporção de 2 gramas por tonelada de cana fresca picada. A água deve ser limpa e sem cloro (MATSUDA,2017).

3. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido na Fazenda Estância Primos, localizada no município de Caratinga, Minas Gerais, no período de junho de 2017 a maio de 2018. A propriedade possui uma área de 25(vinte e cinco) hectares, sendo que 2(dois) hectares são destinados exclusivamente a produção de cana-de-açúcar.

O corte e ensilagem da cana-de-açúcar foram realizados no dia 20(vinte) de outubro de 2017, utilizando-se no experimento a variedade RB867515 com 4 (quatro) anos de idade e aproximadamente 365 dias desde sua última colheita.

A cana foi colhida manualmente, sem a retirada da palha e transportada até o local da moagem. Foi utilizada uma ensiladeira convencional (Nogueira 6.400) regulada para produzir partículas de 8(oito) mm e tracionada por um motor elétrico de 12 cv (cavalos) de potência.

Para o armazenamento da silagem foram utilizados 4 (quatro) tambores plásticos de 40(quarenta) litros. No fundo de cada tambor foi adicionado uma pequena quantidade de terra para simular um silo convencional e absorver a eventual presença de chorume. O peso final dos tambores com a terra foi de 3,5 kg.

Quatro silagens foram obtidas com variações no uso de aditivos entre elas. Em todas as amostras o período de enchimento, compactação e vedação foram semelhantes.

SilagemI: Ensilagem de 25,1 kg de cana-de-açúcar sem aditivos.

SilagemII: Ensilagem de 25,1 kg de cana-de-açúcar moída, acrescida de 0,5% de ureia. Para realização da mistura 125 gramas de ureia foram diluídos em 250 mL de água e distribuída de forma homogênea durante o enchimento.

Silagem III: Ensilagem de 24,1 kg de cana-de-açúcar moída acrescida do aditivo bacteriano *Lactobacillus buchneri*(Silomax cana®) conforme orientação do fabricante. Para realização da mistura 1 g do aditivo foi diluído em 500 mL de água e uma alíquota de 24 ml foi retirada e distribuída de forma homogênea durante o enchimento do silo.

Silagem IV:Ensilagem de 25 kg de cana-de-açúcar moída acrescida de 0,5 % de ureia e do aditivo bacteriano *Lactobacillus buchneri* (Silomax cana®), conforme orientação do fabricante. Para realização da mistura 125 gramas de ureia foram diluídos em 250 ml de água. Um grama do aditivo bacteriano foi diluído em 500 ml de água e alíquota de 25 ml retirada e distribuída de forma homogênea durante o enchimento do silo juntamente com a ureia.

No dia 16/04/2018, aproximando-se do sexto mês as quatro silagens foram abertas e uma amostra de 300 g de cada tambor foi retirada, em cima, no meio e em baixo; acondicionadas em sacos plásticos e enviadas ao laboratório 3R lab, localizado na rua Fabio Modesto 158, bairro Joaquim Sales em Larvas – MG. Foi avaliado o teor de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente ácido (FDA) e nutrientes digestíveis totais (NDT).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através dos experimentos feitos observou-se uma pequena variação nos níveis de matéria seca conforme descrito na (TABELA 1).

O teor de matéria seca, mais elevado, foi encontrado na silagem de cana-de-açúcar com 0,5% de uréia (29,51%), enquanto o teor mais baixo foi observado na silagem com *Lactobacillusbuchneri* (26,71%).

Já a silagem controle e a silagem de cana-de-açúcar com 0,5% de uréia e *Lactobacillusbuchneri* apresentaram respectivamente 28,86% e 28,55% de matéria seca.

Tabela 1- Composição da silagem de cana-de-açúcar

	SILAGEM I	SILAGEM II	SILAGEM III	SILAGEM IV
MS%	28,86%	29,51%	26,71%	28,58%
FDA%	41,74%	37,99%	41,96%	38,32%
NDT%	57,97%	60,42%	57,83%	60,21%

PB%	3,13%	5,40%	3,24%	4,87%
------------	-------	-------	-------	-------

MS=matéria seca **FDA**=fibra em detergente ácido **NDT**=nutriente digestíveis totais

PB=proteína bruta

De acordo com Pedroso *et al.*,(2007) a inoculação da silagem com *Lactobacillusbuchneri* não causou diminuição na concentração de etanol, mas reduziu em 56% a perda total de MS da silagem, embora a produção de efluentes tenha sido 51% maior em relação à da silagem sem aditivos.Segundo SIQUEIRA *etal.*,(2010) foi possível reduzir a queda nos teores de matéria seca de silagens de cana-de-açúcar sobre efeito de *Lactobacillusbuchneri*.

Em relação à avaliação de proteína bruta (PB), o melhor resultado foi observado na silagem com 0,5% de ureia (5,40%) seguido pela silagem com 0,5% de ureia e *Lactobacillusbuchneri* (4,87%) Figura 1. A silagem controle e a silagem com aditivo bacteriano apresentaram respectivamente, 3,13% e 3,24% de PB. O teor médio de proteína bruta das silagens sem ureia foi semelhante aos níveis encontrados na forragem fresca, mostrando que no processo de ensilagem não houve perda ou redução nos níveis proteicos.

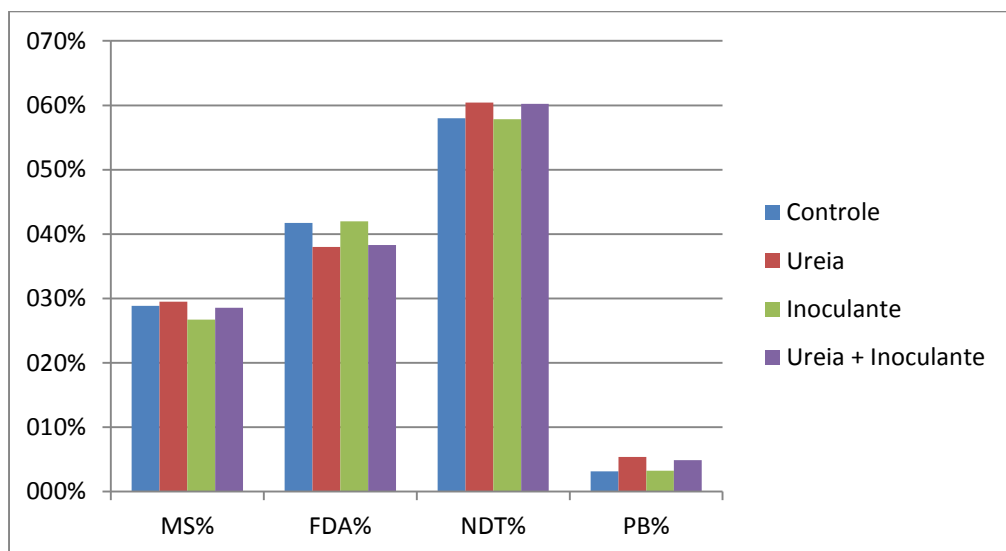


Figura 1: Composição da silagem de cana-de-açúcar.

O aumento da proteína bruta nas silagens que receberam ureia deve-se ao elevado teor de nitrogênio deste aditivo, em torno de 45%, que é computado durante a determinação da proteína (ROTZ & MUCK, 1994). Pedroso *et al.*, (2006) encontrou

7,4% de PB em silagens de cana-de-açúcar com 1% de ureia, semelhante aos níveis identificados nesta forragem fresca, após a adição da mesma quantidade ureia. Observa-se que os níveis proteicos foram mais elevados quando se utilizou 1% de ureia em função da maior quantidade de nitrogênio no material ensilado (CARDOSO, 2013).

Recomenda-se, a utilização de ureia em concentrações variando de 0,5% e 1,5% de matéria natural da forragem. No entanto segundo GENTIL *et al.*, (2007) níveis maiores de uréia exercem efeito tampão, o que é indesejável ao processo de fermentação, além de onerar o custo de produção da silagem.

Além de elevar os níveis protéicos da silagem, a uréia também reduz a proliferação de leveduras e mofos diminuindo a produção de etanol, as perdas em matéria seca e de carboidratos (SANTOS *et al.*, 2008).

Os níveis de fibra em detergente ácido (FDA) também apresentaram variações nas silagens avaliadas. Teores mais elevados de FDA foram encontrados na silagem sem aditivos e na silagem com *Lactobacillusbuchneri* que apresentaram respectivamente 41,74% e 41,96%.

As silagens que receberam ureia apresentaram redução nos níveis de FDA, sendo a silagem que recebeu apenas ureia como aditivo a que apresentou o melhor resultado com 37,99% de FDA em comparação a silagem com 0,5% de ureia e *Lactobacillusbuchneri* que apresentou 38,32% de FDA.

Quanto menor o teor de fibra em detergente ácido melhor a qualidade da silagem, pois este componente da parede celular é inversamente correlacionado a digestibilidade da matéria seca (MERTENS, 1982). Utilizando diferentes níveis de ureia (GOBBI *et al.*, 2005), observou-se redução no teor de FDA registrando valor médio de 5% no nível mais elevado em relação ao grupo controle. No presente experimento, a diferença foi de aproximadamente 4%, quando utilizado a 0,5% de ureia.

Nas silagens avaliadas também foram observados diferenças nos níveis de nutrientes digestíveis totais. As silagens que receberam ureia apresentaram valores maiores de NDT em comparação às silagens que não receberam este aditivo químico, como pode ser observado na (TABELA 1).

Quanto maior os níveis de NDT melhor a qualidade da forragem, sugerindo que a adição de ureia também contribuiu para melhorar este parâmetro. Como a PB é utilizada para o cálculo de nutrientes digestíveis totais, provavelmente os valores mais

altos de proteína bruta nas silagens que receberam ureia justificam o NDT mais elevado.

5. CONCLUSÃO

Conclui-se que a ensilagem de cana-de-açúcar apresenta um ótimo custo benefício em sistemas de produção que permitem a adoção desta forragem. A utilização de aditivos químicos e bacterianos está recomendado para reduzir a fermentação alcoólica e elevar o teor proteico da silagem. Entre os aditivos avaliados no presente trabalho, a silagem com ureia a 0,5% foi a que apresentou a melhor composição bromatológica .

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

ALLI, I.; FAIRBAIRN, R.; BAKER, B.E. The effect of ammonia on fermentation of chopped sugarcane. **Animal Feed Science and Technology**, v.9, n.4, p.291-299, 1983

ANDRIGUETTO, J. M. **Nutrição Animal**. 6ª ed. São Paulo: Nobel, p. 395, 1999.

ANDRIGUETTO, J. M. **Nutrição Animal**. 6ª ed. São Paulo: Nobel, v.1, p. 395, 2002.

BERNARDES, T.F.; REIS, R.A.; SIQUEIRA, G.R.; Berchielli, T.T.; COAN, R.M. Avaliação da queima e da adição de milho desintegrado com palha e sabugo na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.2, p.269-275, 2007.

CARVALHO, B.F., Ávila, C.L.S., Miguel, M.G.C.P., Pinto, J.C., Santos, M.C., Schwan, R.F. Aerobic stability of sugar-cane silage inoculated with tropical strains of lactic acid bacteria. **Grass Forage Sci**. 70, 308–323, 2015.

CARDOSO, L.L. Silagem de cana-de-açúcar tratada com aditivos químicos e microbianos: composição química e desempenho de vacas em lactação. **Dissertação de Pós-Graduação em Zootecnia**. Viçosa-MG. 2013.

CHARMLEY, E. Towards improve silage quality: A review Canadian. **Journal of Animal Science**, 81:157, 2001.

EMBRAPA- **Características Químicas para Avaliação do Processo Fermentativo de Silagens: uma Proposta para Qualificação da Fermentação**. Corumbá-MS: Embrapa Pantanal, 2003.

EVANGELISTA, A.R.; LIMA, J.A. Aditivos para silagem. Lavras: Editora UFLA, 17p. (UFLA. **Boletim de extensão**, 88). 1999.

EVANGELISTA, A. R.;LIMA,J.A. **Silagens: do Cultivo ao silo.**2º ed. Lavras: Editora UFLA, 2002.

GENTIL, R. S.; PIRES, A.V.; SUSIN, I. et al. Digestibilidade aparente de dietascontendo silagem de cana-de-açúcar tratada com aditivo químico ou microbiano paracordeiros. **Acta Scientiarum.** Animal Sciences, Maringá, v. 29, n. 1, p. 63-69, 2007.

GOBBI, K. F.; GARCIA, R.; GARCEZ NETO, A. F.; PEREIRA, O. G.; BERNARDINO, F. S.; ROCHA, F. S. Composição química e digestibilidade In Vitro do feno de BrachiariadecumbensStapf. tratado com uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v.34, n.3, p.720-725, 2005.

HENDERSON, N. Silageadditives. **Anim. Feed Sci. Technol.,** v.45, p.35-56, 1993.

JUNQUEIRA, M.C. **Aditivos químicos e inoculantes microbianos em silagens de cana-de-açúcar: perdas na conservação, estabilidade aeróbia e o desempenho de animais.** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 98p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2006.

KUNG JR., L.; STOKES, M.R.; LIN, C.J. **Silage additives.** In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) Silage science and technology. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, p.251-304. 2003.

LEMPP, B.; MORAIS, M.G.; SOUZA, L.C.F. Produção de milho em cultivo exclusivo ou consorciado com soja e qualidade de suas silagens. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,** v.52, n.3, p.243-249, 2000.

LIMA, J.A.; EVANGELISTA, AR.; ABREU, J.G et al. Silagem de cana-de-açúcar (*Saccharumofficinarum* L.) enriquecida com uréia ou farelo de soja. In: **REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA,** 39, Recife. CD-ROM... Recife: SBZ, 2002.

MATSUDA, Silomax cana®,2017.

MAYNARD, L. A.; LOOSLI, J.K.; HINTZ, H.F.; WARNER, R. G. ANIMAL nutrition.**3. Ed. Rio de Janeiro:** Freitas Bastos, p. 736, 1984.

MERTENS, D.R. Using neutral detergent fiber to formulate dairy rations. In: NUTRITION CONFERENCE PROCESS GANT CONFERENCE FOR THE FEED INDUSTRY, 1982, **Athens. Proceedings... Athens: UniversityofGeorgia,** p.116-126, 1982.

MORAIS, J. P. G. **Avaliação do efeito do uso de inoculante bacteriano sobre a qualidade da silagem e desempenho animal.** 77p. Dissertação (Mestrado em Agronomia. Ciência Animal e Pastagens)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP. 1995.

MUCK, R.E.; MOSER, L.E.; PITT, R.E. Postharvest factors affecting ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds). **Silage science and technology**. Madison: American Society of Agronomy, p.251-304.2003.

NAUFEL, F.E.F. *et al.* Estudo comparativo entre cana-de-açúcar e silagens de milho, sorgo e capim Napier na alimentação de vacas leiteiras. **Boletim de Indústria animal**, v.26, n. único, p.9-22, 1969.

NOGUEIRA FILHO, J. C. M. *et al.* Substituição parcial da silagem de sorgo por cana-de-açúcar como únicos volumosos para vacas em lactação. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, SP, v.34, n.1, p.75-84, 1977.

NUSSIO, L. G.; RIBEIRO, J. L.; PAZIANI, S.F et AL. Fatores que interferem no consumo de forragens conservadas. In: VOLOMOSO NA PRODUÇÃO DE RUMINANTES: VALOR ALIMENTÍCIO DE FORRAGENS, Joboticabal. **Anais...** Jaboticabal: Funep, p. 27-50, 2003.

NUSSIO, L.G.; SCHMIDT, P. Tecnologia de produção e valor alimentício de silagens de cana-de-açúcar. In: **SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 2., 2004, Maringá. Anais...** Maringá: UEM/CCA/DZO, p.1-33,2004.

PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; BARIONI JR., W. et al. Performance of holstein heifers fed sugarcane silages treated with urea, sodium benzoate or *Lactobacillus buchneri*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.4, p.649-654, 2006.

PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; LOURES, D.R.S. *et al.* Efeito do tratamento com aditivos químicos e inoculantes bacterianos nas perdas e na qualidade de silagens de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.558-564, 2007.

PEIXOTO, A.M, ed. **Confinamento de bovinos leiteiros**, editado por A. M. Peixoto, J. C. Moura, V. P. Faria. – Piracicaba: FEALQ, 1993.

PINTO, A.P.; PEREIRA, E.S.; MIZUBUTI, I.Y. Características nutricionais e formas de utilização da cana-de-açúcar na alimentação de ruminantes. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 73-84, jan./jun. 2003.

RANJIT, N.K.; KUNG JR., L. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.526-535, 2000.

RODRIGUES, J.D. **Fisiologia da cana-de-açúcar**. Botucatu, p. 101, 1995.

ROTH, A.P.T.P.; REIS, R.A.; SIQUEIRA, G.R.; ROTH, M.T.P.; RESENDE, F.D.; MONTEIRO, R.R. Sugarcane silage production treated with additives at different times post burning. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.1, p.88-96, 2010.

ROTZ, C.A.; MUCK, R.E. Changes in forage quality during harvest and storage. In: **Forage quality, evaluation and utilization**. Madison: ASA; CSSA; SSSA, p.828-868, 1994.

SANTOS, F; BORÉM,A.**Cana-de-açúcar do plantio à colheita**, p. 27, 2013.

SANTOS, M.C., NUSSIO, L.G., MOURÃO, G.B., SCHMIDT, P., MARI, L.J. ERIBEIRO, J.L. Influência da utilização de aditivos químicos no perfil da fermentação, no valor nutritivo e nas perdas de silagens de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 37: p. 1555-1563, 2008.

SILVA, J. F.C.; LEÃO, M.I. Fundamentos de Nutrição dos Ruminantes. **LIVRO CERES**, p. 123-130, 1979.

SILVA, SEBASTIÃO, Conservação de forragens: silagem & feno; perguntas & respostas – **Guaíba: Agropecuária**, 2003.

SIQUEIRA, G.R.; REIS, R.A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; BERNARDES, T.F.; PIRES, A.J.V.; ROTH, M.T.P.; ROTH, A.P.T.P. Associação entre aditivos químicos e bacterianos na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.789-798, 2007.

SIQUEIRA, G.R.; REIS, R.A.; SCHOCKENITURRINO, R.P. et al. Queima e aditivos químicos e bacterianos na ensilagem da cana de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.1, p.103-112, 2010.

SCHMIDT, P. **Aditivos químicos e biológicos no tratamento de cana-de-açúcar para alimentação de bovinos**. In: JOBIM, C.C.; CECATO, U.; CANTO, M.W.(Eds) Produção e utilização de forragens conservadas. Maringá: Masson, 2008.p.117-152
SWINGLE, R. S.; ARAIZA, A.; URIAS, A. R. Nitrogen utilization by lambs fed wheat straw alone or with supplements containing dried poultry waste, cottonseed meal or urea. **Journal Animal Science**, v. 45, n. 6, p. 1435-41, 1977.

TAYLOR, C.C.; KUNG JR., L. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation and aerobic stability of high moisture corn in laboratory silos. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.1526-1532, 2002.

VILELA, D. Sistemas de conservação de forragem. 1) Silagem. Coronel Pacheco: **EMBRAPACNPGL**. 1985.

AValiação DA EFicácia DE MEDICAMENTO HOMEOPÁTICO NO TRATAMENTO DE MASTITE BOVINA SUBCLÍNICA

Acadêmicos: Gustavo de Freitas Teixeira e Raphael Terra da Rocha

Orientador: Leandro Silva de Araújo

RESUMO

A pecuária de leite é um dos setores em expansão no Brasil, apesar das condições que reduzem a produtividade e qualidade do leite, como a mastite. A enfermidade gera grande prejuízo aos produtores, sendo a manifestação subclínica responsável pelas maiores perdas devido à sua apresentação silenciosa. Alternativas de terapias medicamentosas têm sido testadas para o tratamento desta afecção, visando o bem-estar animal, melhoria na qualidade do produto, bem como ganho em produtividade. Neste trabalho foi avaliada a eficácia do tratamento homeopático em vacas com mastite subclínica, testadas em dois métodos de diagnóstico, CMT e Detector eletrônico. Os resultados demonstraram eficácia somente pelo CMT, onde $p=0,035$, e no Detector eletrônico não foi demonstrado eficácia, pois apresentou $p=0,748$. Assim, concluímos que os testes devem ser elaborados para comprovação da eficácia do tratamento.

PALAVRAS-CHAVE: homeopatia; CMT; células somáticas.

1. INTRODUÇÃO

A produção de leite no Brasil gira em torno de 35,3 bilhões de litros/ano, sendo o estado de Minas Gerais o maior produtor responsável por 26% desta produção (SILVA *et al.*, 2016). As glândulas mamárias dos bovinos são alvo de processos inflamatórios conhecidos como mastite, que afeta a produção leiteira tanto em quantidade quanto em qualidade. No Brasil, a alta prevalência da mastite bovina representa danos de 12 a 15% na produção leiteira (ASSIS *et al.*, 2017), acarretando um prejuízo equivalente a US\$ 126/fêmea por lactação ao ano (PEIXOTO *et al.*, 2009).

Esta afecção altera características físico-químicas e microbiológicas do leite, além de provocar alterações patológicas no tecido glandular causadas por lesões mecânicas e químicas (MANGIÉRI JÚNIOR *et al.*, 2007). Em 90% dos casos, a mastite é causada por bactérias, podendo ser ocasionada em menor ocorrência por fungos, algas e vírus. (TOZZETTI, BATAIER & ALMEIDA, 2008).

A condição clínica do animal afetado pode ser dividida em dois grupos conforme suas apresentações: em mastite clínica quando ocorre aparecimento de sinais e alteração no leite ou subclínica quando não há manifestações clínicas. A identificação da mastite subclínica exige utilização de métodos complementares como Contagem de

Células Somáticas, *California Mastitis Test*, *Wisconsin Mastitis Test* (TOZZETTI, BATAIER & ALMEIDA, 2008).

O uso de antibióticos para o tratamento da mastite é uma preocupação importante para a indústria e para a saúde pública (TOZZETTI, BATAIER & ALMEIDA, 2008), pois confere altos custos e consequente diminuição do lucro do produtor, além de um período de carência na qual não se pode utilizar o leite. Outro fator importante é a aplicabilidade do tratamento antimicrobiano em casos de mastite subclínica, pois é considerado muitas vezes antieconômico, uma vez que a taxa de cura bacteriológica não costuma ser superior a 50% (MANGIÉRI JÚNIOR *et al.*, 2007).

Diante da preocupação em relação à saúde pública há um aumento nas buscas de métodos que excluem o uso de antibióticos, hormônios e aditivos químicos (PEIXOTO *et al.*, 2009). Neste sentido, a homeopatia, sistema médico complexo de caráter holístico, baseada no princípio vitalista e no uso da lei dos semelhantes, surge como importante opção para o tratamento profilático e curativo da enfermidade (COSTA, ARAÚJO, & FREITAS, 2011).

Além disso, a homeopatia é relevante ao se tratar da resistência microbiana aos medicamentos convencionais, minimizando o impacto ambiental dos defensivos e favorecendo a produção de alimentos saudáveis. Estes medicamentos são utilizados em doses pequenas, não deixando resíduos nos animais, adequando-se às necessidades da produção orgânica, além de seu baixo custo (PEIXOTO *et al.*, 2009).

De acordo com Mangiéri Júnior *et al.* (2007), os medicamentos homeopáticos têm um incontestável efeito sobre o sistema imunológico, mediante alterações hormonais, emocionais, eletrolíticas e metabólicas. Várias observações clínicas demonstraram a capacidade de cura e a possibilidade de terapêutica utilizando medicamento homeopático.

Desta forma, no presente trabalho objetiva-se avaliar a eficácia do tratamento homeopático em casos de mastite subclínica bovina.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 PECUÁRIA ORGÂNICA

Devido ao crescimento da pecuária orgânica, a homeopatia tem sido cada vez mais utilizada, o que a insere em um setor de grande importância econômica para o país. Ela representa o tratamento de escolha em mais da metade das propriedades com

produção orgânica e sustentável. Representativa na produção do leite orgânico e também do leite convencional, pode ser considerada um caminho na busca da redução de custos de tratamento de doenças, reduzindo também os perigos à saúde pública.

O preço pago pelo leite orgânico é geralmente maior e mais estável. Sendo assim, pequenos produtores podem considerar a conversão para o status orgânico como uma forma de manter a lucratividade. No entanto, fatores que não são específicos da produção orgânica, como idade, nível de produção, genética, condições ambientais, nutrição e habitação podem influenciar a saúde animal e conseqüentemente sua produtividade (JESUS & COUTINHO, 2017).

2.2 MASTITE

O termo mastite, derivado do grego "mastos", glândula mamária e do sufixo "ite", inflamação, caracteriza-se por ser um processo inflamatório da glândula mamária. Além da causa infecciosa, a mastite pode ser traumática, metabólica, fisiológica (nos primeiros dias de lactação e na interrupção da lactação) alérgica e até mesmo psicológica (COSTA, 1998) e sua evolução pode ser crônica ou aguda.

Dentre as enfermidades que geram grandes perdas econômicas na produção animal destaca-se a mastite bovina, em virtude da alta incidência da doença. As perdas associadas à mastite subclínica alcançam de 10 a 26% do total da produção, variando com o agente e grau de intensidade do processo inflamatório (ALMEIDA *et al.*, 2005). Mastite é a síndrome patológica mais isolada em vacas leiteiras adultas, respondendo por 38% de morbidade. Destes, 7% dos bovinos afetados são descartados e 1% morre em consequência da afecção (TOZZETTI, BATAIER & ALMEIDA, 2008).

Com base em sua origem, os micro-organismos que comumente causam mastite podem ser divididos em dois grupos: patógenos contagiosos e patógenos ambientais. Os patógenos contagiosos são aqueles adaptados à sobrevivência no interior da glândula mamária. Em contraste, os patógenos ambientais são melhores descritos como invasores oportunistas do úbere, não adaptados a sobreviver no seu interior. Dentre os patógenos contagiosos mais importantes da mastite bovina estão *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*. Já entre os patógenos ambientais, destacam-se a *Escherichia coli* e o *Streptococcus uberis* (MARTINS *et al.*, 2010).

O processo inflamatório das glândulas mamárias pode ser classificado em dois grupos: subclínica e clínica. Nas mastites subclínicas são observadas reações sem

alterações macroscópicas detectáveis, porém, com alterações químicas e microbiológicas do leite. Já as mastites clínicas são marcadas por respostas inflamatórias mais severas, que resultam em mudanças no aspecto da secreção láctea, mudanças visíveis no tecido mamário e, em alguns casos, efeitos sistêmicos como hipertermia, prostração e tremores musculares (MARTINS *et al.*, 2010).

Barbalho & Mota (2005), relatam que a mastite subclínica apresenta uma maior importância epidemiológica por alastrar-se silenciosamente pelo rebanho sem que sejam percebidas alterações macroscópicas à inspeção do úbere ou de sua secreção. Para cada caso clínico de mastite devem existir entre 15 a 40 casos subclínicos (TOZZETTI, BATAIER & ALMEIDA, 2008).

Por fim, este quadro, causa redução da produção de leite devido às alterações nas células epiteliais secretoras e na permeabilidade vascular no alvéolo secretor durante a infecção (CUNHA *et al.*, 2008).

O resultado final de uma invasão da glândula mamária por um micro-organismo pode ser o aumento da celularidade no leite e nos tecidos, involução, fibrose, necrose ou gangrena. Consequentemente, a produção do leite cai como resultado do tecido secretor da glândula mamária ter sido prejudicado (MANGIÉRI JÚNIOR *et al.*, 2007).

Para Cunha *et al.* (2008), a extensão da perda é influenciada por diversos fatores como gravidade da infecção, tipo de micro-organismo causador, duração, idade do animal, época do ano, estado nutricional e potencial genético. À medida que a ordem e o estágio de lactação avançam, são observados aumentos na contagem de células somáticas (CCS) em razão da maior resposta celular de vacas adultas à ocorrência de mastite subclínica.

2.3 DIAGNÓSTICO DA MASTITE

Os níveis de células somáticas no leite bovino podem ser determinados utilizando-se várias técnicas de diagnóstico, que são divididas em métodos diretos e indiretos. Como exemplo dos métodos indiretos podem ser citados o *California Mastitis Test* (CMT), o *Wisconsin Mastitis Test* (WMT) e a medida da condutividade elétrica. Como exemplo dos métodos diretos tem-se a contagem de células somáticas por microscopia direta (DMSCC) e os analisadores eletrônicos (SILVEIRA *et al.*, 2005).

2.3.1 CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS)

Brito *et al* (2014) conceitua as células somáticas como todas as células presentes no leite, que incluem as células originárias da corrente sanguínea como leucócitos e células de descamação do epitélio glandular secretor.

A contagem de células somáticas (CCS) de vacas tem sido usada como ferramenta para monitorar os níveis de mastite em rebanhos leiteiros. O estado de infecção é o principal fator responsável pela variação da CCS. Em 98% das CCS encontradas são decorrentes das células sanguíneas brancas que entram no leite em resposta à invasão bacteriana no úbere. Uma alta CCS está associada às perdas na produção de leite (SOUZA *et al.*, 2009).

2.3.2 CALIFORNIA MASTITIS TEST (CMT)

O CMT desenvolvido por Schalm, Noorlander em 1957, constitui-se num método indireto de avaliação da quantidade de células somáticas do leite, o qual baseia-se na atuação de um detergente aniônico sobre a membrana celular, causando a ruptura da mesma e a formação de um gel na interação dos ácidos nucleicos com o detergente (BARBALHO & MOTA 2005).

A análise é realizada em raquete plástica própria, com quatro compartimentos iguais de 1,5 cm de altura. Coleta-se 2 cm³ de leite de cada quarto mamário em cada compartimento separadamente. Após, adiciona-se, em igual volume, o reagente laurel sulfato de sódio à 3%, detergente aniônico corado com bromocresol púrpura. Por meio de movimentos circulares realiza-se a mistura por 20 segundos e o resultado positivo é avaliado de acordo com a formação de gel (uma cruz), formação mais espessa com mamilo central (duas cruces) e formação de gel muito espesso aderente ao fundo da raquete (três cruces). O quarto mamário é considerado positivo para mastite subclínica quando apresenta uma ou mais cruces, e negativo na ausência de reação. O teste pode ser realizado em qualquer fase da lactação sem nenhuma limitação (PEIXOTO *et al.*, 2009).

2.3.3 DETECTOR ELETRÔNICO DRAMINSKI ® DE MASTITE 4X4QMAST

O detector mede a resistência elétrica do leite para detectar mastite subclínica, sendo sua detecção com base na condutividade elétrica do leite, considerada mais

fácil, mais rápida que outros testes de campo e não requer nenhum reagente (SIDDIQUEE *et al.*, 2014).

Quando um animal é acometido pela doença, a concentração de potássio no leite diminui, enquanto as concentrações dos íons sódio e cloreto elevam-se devido ao aumento da permeabilidade dos capilares sanguíneos e à destruição dos sistemas de bombeamento iônico, conduzindo ao aumento da condutividade láctea. Ao ser utilizada a condutividade para diagnosticar a mastite, a fração de leite em que é realizado o exame é fundamental. Uma maior sensibilidade diagnóstica pode ser alcançada se coletados para análise os primeiros jatos de leite, pois após as primeiras frações de leite, a condutividade elétrica diminui (ZAFALON *et al.*, 2005).

O aumento da CE do leite é diretamente proporcional ao aumento da inflamação do úbere e da contagem de células somáticas. O aumento dos íons sódio e cloro e a diminuição do cálcio e outros constituintes do leite são características do leite de vacas com mastite clínica. A CE é obtida de maneira fácil, rápida e com baixo custo, se tornando uma importante ferramenta no controle da mastite, principalmente se comparado a informações de presença de células somáticas, onde se faz necessário o envio de amostras a um laboratório (FILHO, ZADRA & BOAS, 2013).

2.4 PREVENÇÃO E TRATAMENTO

Para a realização de um programa de prevenção eficiente deve-se observar alguns critérios como utilizar método adequado de manejo na ordenha, higienização dos equipamentos e do úbere, boa nutrição para manter a habilidade da vaca de combater infecções, alimentar as vacas imediatamente após a ordenha para que elas fiquem de pé por pelo menos uma hora antes de deitar, ordenhar as vacas infectadas por último, descarte de vacas com infecção crônica, manutenção de um ambiente apropriado para bovinocultura leiteira, monitoração do estado de saúde do úbere. Além destes, outro importante fator que influi no nível de infecção do rebanho é a duração das infecções nas vacas, quanto mais rápido elas forem eliminadas, maior o sucesso do programa de controle (TOZZETTI, BATAIER & ALMEIDA, 2008).

Aproximadamente, 20 a 30% das infecções da glândula mamária são eliminadas espontaneamente pelo sistema de defesa do animal. A eficácia clínica de um antimicrobiano é de quantificação muito difícil, porque há grandes variações na resposta individual e do rebanho, por causa do tipo de micro-organismo envolvido,

localização dos sítios infectados, grau de endurecimento da glândula mamária e duração da infecção (TOZZETTI, BATAIER & ALMEIDA, 2008).

Assim, Peixoto et al. (2009) assevera que é primordial a realização de testes diagnósticos e quanto mais precoces melhores prognósticos serão obtidos no que tange ao comprometimento interno do úbere.

O elevado custo dos tratamentos tradicionais da mastite, associado à redução de produção e descarte de leite, bem como a exigência, cada vez mais rigorosa, da ausência de resíduos de antimicrobianos, por parte de instituições nacionais e internacionais, impulsiona o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas que visem minimizar o impacto das medidas tradicionais. A homeopatia surge como importante alternativa, sendo aceita nacional e internacionalmente (MANGIÉRI JÚNIOR *et al.*, 2007).

2.5 HOMEOPATIA

A homeopatia é importante no controle da resistência aos medicamentos convencionais, minimiza o impacto ambiental dos defensivos e favorece a produção de alimentos saudáveis (PEIXOTO *et al.*, 2009). Foi inicialmente utilizada na Alemanha em 1796, pelo médico Christian Friedrich Samuel Hahnemann e ganhou popularidade no tratamento de doenças humanas, sendo notificado seu uso na medicina veterinária apenas em 1833 com o profissional Johann Joseph Wilhelm Lux. Os princípios e as leis da homeopatia veterinária são os mesmos da homeopatia humana e sua utilização é parecida. O tratamento é baseado no princípio ou "lei dos semelhantes", o qual envolve o tratamento da doença ou do sintoma com pequena quantidade de compostos que causam sintomas semelhantes aos da doença quando administrado em altas concentrações. Prescreve-se um medicamento homeopático a um animal doente em função de suas características e sintomas individuais (JESUS & COUTINHO, 2017).

Têm sido propostas inúmeras teorias sobre o mecanismo de ação dos tratamentos homeopáticos, mas o modo como a homeopatia induz o efeito terapêutico ainda é desconhecido, e o foco da maioria das pesquisas é identificar os efeitos dos tratamentos. O tratamento baseia-se na resposta do organismo contra um estímulo externo, produzindo reações e sabe-se que o processo de cura de um medicamento homeopático é diferente do convencional (chamado também de alopático), e está vinculado à imunologia, pois pode causar imunização indireta e inespecífica. Vale ressaltar que não existem problemas de resíduo, sem período de retirada do produto

e sem poluição ambiental. Além disso, os remédios são relativamente baratos (JESUS & COUTINHO, 2017).

Para Lima *et al.* (2012), a homeopatia é uma ciência baseada na lei “dos semelhantes”, que utiliza substâncias extremamente diluídas, em que ocorre a liberação de uma energia terapêutica latente nas substâncias brutas. O ponto de partida é a tintura-mãe, um extrato alcoólico da substância original. As substâncias insolúveis, em água ou álcool, são inicialmente trituradas em presença de lactose antes de serem suspensas no solvente alcoólico. Esta solução passa por um processo denominado potenciação que consiste em diluições alternadas.

Os medicamentos homeopáticos são preparados nas escalas centesimal, decimal e cinquenta milésima. Quando se dilui o volume de insumo inerte na proporção de 1 para 99 de solvente, agitando 100 vezes, obtém-se 1CH (um centesimal). Retirando-se uma parte deste frasco, transferindo-a para um segundo frasco e acrescentando 99 partes de solvente, obtém-se 2CH, e assim por diante. Portanto, ao término do preparo, é possível utilizar o próprio agente causador da doença, sem, entretanto, ser capaz de causar qualquer malefício ao paciente (PEIXOTO *et al.*, 2009).

No experimento realizado por Martins *et al.*, (2007) observou-se a redução na frequência de mastite subclínica desde o primeiro mês de tratamento, sendo que a mesma continuou em declínio até o período de 90 dias, que foi o período de experimentação, demonstrando a possibilidade da utilização da homeopatia com resultados rápidos sem perda na produção leiteira.

3. METODOLOGIA

3.1 ANIMAIS

Foram selecionados para o estudo, aleatoriamente, dez bovinos, em meio a um rebanho de trinta animais, com idades entre 4 e 5 anos.

3.2 AVALIAÇÃO DA MASTITE SUBCLÍNICA

Em cada animal, os tetos identificados com a enfermidade foram avaliados individualmente através dos dois métodos, o CMT e o detector eletrônico 4X4QMAST

3.2.1 CALIFORNIA MASTITIS TEST

A coleta das amostras de leite foi realizada após a higiene dos úberes das fêmeas com água corrente. De cada animal foram coletadas quatro amostras, sendo uma de cada quarto mamário, ejetado na raquete devidamente higienizada, posteriormente sendo adicionado 2 ml do reagente (Solução CMT TADABRAS®) em cada poço (FIGURA 1). A reação inflamatória foi caracterizada com base na interpretação da reação do leite, frente ao reagente (TABELA 1), considerando-se o teste negativo quando não houver formação de gel; suspeito, com ligeira precipitação; e positivo, com formação de gel em diferentes escalas.



Figura 1: Imagem dos testes para detecção da mastite subclínica. A – California Mastitis Test B – Avaliação com o aparelho 4X4QMAST

Tabela 1. Interpretação do Califonia Mastitis Test.

Interpretação	Reação
Sem formação de gel	Negativa (-)
Ligeira precipitação	Traços
Formação de gel	Positiva fraca (+)
Gel mais espesso com mamilo central	Positiva (++)
Gel muito espesso aderido ao fundo da placa	Forte positiva (+++)

3.2.2 DETECTOR ELETRÔNICO DRAMINSKI® DE MASTITE 4X4QMAST

As vacas foram submetidas ao teste com o aparelho DRAMINSKI® DE MASTITE 4X4QMAST (FIGURA 2) para detectar mastite subclínica nos 4 tetos do úbere. O teste foi realizado de acordo com as instruções do fabricante (DRAMINSKI®). Foi utilizado 15 ml do primeiro jato de leite, ejetado diretamente para cada copo de medição do

aparelho, até cobrir todos eletrodos presentes no copo, sendo pressionado o botão para a leitura do resultado de cada teto individualmente. O resultado é estabelecido em números que correspondem à condutividade elétrica do leite e relacionado ao número de CCS (TABELA 2). Diante disso, o resultado foi registrado e o aparelho devidamente higienizado para a próxima leitura. Os copos com eletrodos precisavam ser limpos com água corrente e secos com toalhas descartáveis antes de cada avaliação.

Tabela 2 – Relação indireta entre CCS e o aparelho 4x4QMAST.

Referências DRAMINSKI®	Nº células somáticas
250 e abaixo	(Mastite clínica)
250-275	1.000,00 – 600.000
275-300	600.00 – 300.000
300-325	300.00 – 200.00
325-350	200.00 – 100.00
350-375	100.00 – 70.00
375-400	70.00 – 40.00
400 e acima	40.00 e abaixo

3.3 TRATAMENTO

Os animais foram divididos em dois grupos com 5 animais cada: grupo controle e grupo tratado. O grupo controle não recebeu nenhum tipo de tratamento, e o grupo tratado, recebeu o medicamento homeopático.

Foi utilizado um medicamento homeopático comercial que apresenta a seguinte fórmula: *Colibacillinum* (10^{-30}), *Pulsatilla* (10^{-60}), *Streptococcus uberis* (10^{-60}), *Ricinus comunis* (10^{-30}), *Streptococcus B hemolítico* (10^{-24}), *Phytolacca* (10^{-60}), *Staphylococcus aureus* (10^{-24}). A dosagem recomendada pelo fabricante foi oferecida na ração de modo assegurado a ingestão de 30g/cabeça/dia.

A eficácia do tratamento foi mensurada a partir da redução e da identificação de animais positivos ou livres para mastite subclínica pelo teste CMT e Detector eletrônico.

3.4 ANÁLISE E PROCESSAMENTO DE DADOS

As coletas de dados foram realizadas, em todos os animais, no tempo zero, antes do início do tratamento e ao final do tratamento, após trinta e oito dias.

Os resultados foram organizados em planilha Microsoft Office Excel® 2013. A diferença estatística entre o grupo controle e o grupo tratamento foi avaliado utilizando o programa GraphPad Prism 7.0. Segundo o teste Mann-Whitney para que ocorra diferença estatística $P < 0,05$.

Os resultados da segunda avaliação obtidos pelo aparelho 4X4QMAST foi subtraído pelo primeiro, avaliando se havia diferença significativa entre os valores obtidos pelo grupo controle e o grupo tratamento.

Para avaliação do teste pelo CMT foi realizada a avaliação estatística considerando 0 o teto, que continuou com mastite na segunda coleta, ou seja, ausência de efeito. E número 1 o animal que apresentou livre na segunda avaliação, ou seja, o animal que apresentou regressão da enfermidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Dos cinco animais selecionados para o grupo controle, 9/20 tetos apresentavam mastite subclínica. Através da avaliação pelo CMT, 8 dos 9 tetos permaneceram com mastite subclínica no segundo exame e um animal apresentou regressão completa (TABELA 3).

Tabela 3 – Valores obtidos na avaliação do grupo controle pelo CMT e Detector Eletrônico Draminski® de Mastite 4X4QMAST.

Grupo Controle				
Antes		Depois		Diferença (T1-T0)
CMT	QMAST	CMT	QMAST	QMAST
+++	280	+	250	-30
+++	240	++	280	40
++	260	++	260	0
++	380	++	350	-30
++	250	L	400	150
++	390	++	310	-80
+	320	+++	280	-40
+	340	++	390	50
+	280	+	410	130

A taxa de cura espontânea foi de 11,11% dos tetos do grupo controle, o que está de acordo com descrito por Almeida *et al.*, (2005). A cura espontânea do animal citado pode ser explicada por uma possibilidade de eliminação das mastites, que ocorre pelo estabelecimento da resposta imunológica no organismo do animal com

ativação da resposta imune celular e humoral, podendo a cura ocorrer em aproximadamente 20% dos casos para a maioria dos agentes causadores de mastite.

Egan (1998) observou taxas de curas espontâneas de aproximadamente 25% de animais com mastites causadas por *Staphylococcus aureus*, em um período de três semanas. O autor cita que as discussões existentes em relação ao papel dos placebos e à extensão do fenômeno de cura do ego são uma constante em medicamentos homeopáticos aplicados em humanos e em veterinária, sendo o ideal que se estruturassem experimentos que permitissem quantificar este fator em tratamentos homeopáticos e convencionais

Entre os demais tetos do grupo controle, observa-se redução do grau de mastite subclínica identificada pelo CMT em dois tetos, manutenção do mesmo nível inflamatório em quatro e agravamento do quadro em dois deles.

Dos 7/20 tetos avaliados no grupo tratamento, pelo teste CMT, na segunda avaliação, 5 se apresentaram livres e dois permaneceram com a infecção (TABELA 4). A permanência da mastite nestes dois tetos do grupo tratamento pode ser explicado pelo fato de que a homeopatia depende dos sintomas serem semelhantes aos da doença, mas superiores em força, de modo a eliminá-los e remover a doença natural de maneira mais correta, radical, rápida e permanente do organismo com ação de apenas um remédio. Mesmo que seja utilizado um complexo composto pelos agentes infecciosos mais comumente envolvidos nas mastites subclínicas, a facilidade com que esses micro-organismos sofrem mudanças, além da variabilidade e diversidade de biótipos, faz com que não haja garantia de fornecer exatamente o mesmo agente envolvido no quadro dos dois tetos que não apresentaram mudanças (ALMEIDA, 2009).

Tabela 4 – Valores obtidos na avaliação dos grupos controle e tratamento pelo Detector Eletrônico Draminski® de Mastite 4X4QMAST.

Grupo Tratamento				
Antes		Depois		Diferença (T1-T0)
CMT	QMAST	CMT	QMAST	QMAST
+++	260	L	470	210
++	260	+++	230	-30
++	320	+++	220	-100
++	340	L	380	40
+	440	L	470	30
+	330	L	400	70

Os resultados do CMT quando avaliados estatisticamente revelam diferença significativa entre os grupos tratamento e controle, ou seja, demonstram eficácia na utilização do homeopático no controle da mastite subclínica.

Almeida *et al.* (2005) observou que as taxas de cura dos medicamentos homeopáticos variavam entre 5 e 80%.

Segundo Telles *et al.* (2006), em experimento realizado em Campo Grande, estado do Mato Grosso do Sul, utilizando-se vacas holandesas com mastite subclínica, com reação positiva de 3 cruces e recebendo fornecimento de homeopático diário via ração, 100 gramas duas em vezes ao dia, durante 12 dias, verificou-se uma redução da CCS.

De acordo com Martins *et al.*, (2007), em estudos realizados no Paraná, utilizando-se 32 animais com quadro infeccioso de mastite subclínica, detectado pelo teste de (CMT), com dosagem de homeopático de 300 gramas/dia por animal, durante 90 dias, constataram-se que na evolução do experimento houve redução das porcentagens de 44,5% para 3,9% de mastite subclínica.

Leal & Costa (2013) observaram que não houve redução no caso de mastite com o tratamento homeopático. Relataram que os resultados poder ser consequências da insuficiência na dosagem utilizada do homeopático, fazendo com que o organismo do animal não respondesse com seu mecanismo de cura. Portanto, torna-se necessário que desenvolva outros experimentos por período maior, como em duas estações diferentes do ano (inverno e verão), com maior número de animais, manejos diferenciados e dosagens diferentes para observar a eficácia dos resultados. (ALMEIDA, 2005)

Neste trabalho observou-se que houve uma taxa de cura de 71,43%, que mediante a literatura é considerado um resultado satisfatório quando realizado o diagnóstico pelo teste CMT.

A literatura apresentada com resultados de CMT ou CCS foram realizadas em períodos de tempo superiores ao deste trabalho, o que não permite o confronto de dados, pois sabe-se que a dinâmica do número de células somáticas é variada com a progressão da lactação e a natureza complexa das mastites.

Os resultados obtidos neste trabalho, tanto em relação à cura microbiológica quanto aos resultados de CMT, deverão ser observados com cautela, tendo em vista que não poderá ser feita uma comparação direta com os obtidos em pesquisas empregando produtos convencionais onde já existem parâmetros reconhecidos cientificamente e nem mesmo com outros trabalhos empregando homeopatia, pois a metodologia adotada não foi a mesma para os trabalhos que mostraram resultados satisfatórios ou insatisfatórios (ALMEIDA, 2005)

Embora a avaliação pelo CMT tenha demonstrado eficácia pelo medicamento homeopático, o mesmo resultado não foi obtido pela avaliação utilizando o 4x4QMAST, uma vez que a avaliação estatística não considerou significativa a diferença entre o tratamento e o grupo controle ($p=0,748$).

Constata-se que 5 dos 7 tetos avaliados apresentaram livres, o que pode ser explicado por variações inerentes à avaliação oferecida pelo aparelho, que é, segundo o fabricante, influenciada pela idade dos animais, raça, característica individual, por exemplo gordura contida no leite, nutrição, estado fisiológico. Além desses, outros fatores como a ovulação, período no qual o resultado não deve ser interpretado, e distúrbios metabólicos também podem influenciar. Somente exames sistemáticos de vacas permitem interpretação segura dos valores obtidos pelo detector de mastite Draminski (DRAMINSKI®).

Considerando que existe uma grande diversidade na etiologia infecciosa da mastite, tal fato faz com que os testes diagnósticos para mastite subclínica possam ter comportamentos diferentes de acordo com o microrganismo responsável pela doença, devido à maneira como cada quarto mamário responde à infecção e é afetado por determinado agente etiológico. Uma amostra de leite com baixa resistência elétrica denota que a mesma tem alta condutividade elétrica.

Porém, não existe um valor exato pelo aparelho que o animal seja considerado afetado, o que existe são associações que devem levar em consideração a população e as variações individuais do animal, podendo, por exemplo, apresentar uma concentração elevada dos sais normalmente, resultando em valores baixos de condutividade mesmo na ausência da mastite. Estas variações que o aparelho apresenta podem estar influenciando o resultado e oferecendo valores que às avaliações estatísticas não apresentam diferença significativa.

Conforme Siddiquee *et al.* (2014), o detector de mastite 4X4QMAST pode ser um potencial candidato para o diagnóstico de mastite subclínica em animais, contudo deve ser utilizado um teste de padrão, como contador de células somáticas ou CMT para padronização inicial dos valores médios dos animais.

Ximenes (2009) afirma que no tratamento homeopático é imprescindível que se esclareça que o processo de cura pelo sistema homeopático é diferente do convencional, portanto, resultados como aumento nos valores indiretos de CCS em vacas de leite, nos primeiros meses de uso dos medicamentos homeopáticos, são comuns e até esperados, em função da agravação (reação do organismo) que antecede a cura.

No entanto, Almeida (2005) alerta que a avaliação de cura específica para agentes deve ser abordada com cautela, pois a homeopatia não atua em agentes microbianos em particular, mas sim em indivíduos como um todo, de forma que os reflexos do desequilíbrio apresentados como doença se processem em todo o organismo, podendo as reações serem variadas com os indivíduos. O tratamento homeopático está vinculado à iconologia pois, além de curar, determina imunização indireta, inespecífica e natural, capacitando o organismo a defender-se contra os agentes patogênicos.

Deste modo, o uso do homeopático produziu um efeito real sobre os animais, de acordo com teste do CMT, uma vez que a maioria dos animais acometidos apresentaram-se livres da doença após o tratamento, o que pode ser explicado pela ação do medicamento homeopático sobre o sistema imunológico mediado por efeitos hormonais, emocionais, eletrolíticos ou metabólicos. Na homeopatia, o ideal é selecionar um medicamento na potência de diluição adequada, assim, regular o sistema imunológico de forma suave e efetiva. Também um importante e possível mecanismo de ação dos medicamentos homeopáticos seria a regulação da expressão genética, que poderia ser alcançada pela ativação de hormônios e enzimas restaurando o funcionamento normal de sistemas biológicos (XIMENES, 2009).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da avaliação dos dados desse estudo é possível identificar o potencial para o uso da homeopatia para tratamento da mastite subclínica bovina quando

tratados por 38 dias, uma vez que a avaliação pelo CMT demonstra regressão dos quadros clínicos nos animais afetados.

A resposta ao tratamento homeopático em animais com mastite subclínica não foi observada pelo método 4x4QMAST. Neste sentido, recomenda-se que novos experimentos com medicamentos homeopáticos sejam realizados em comparação com grupos controle para elucidar a resposta das vacas frente ao medicamento.

6. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. C., SOARES, T. M. P., DA SILVA, D. B., SILVEIRA, A. D. L., FIORINI, J. E., & FONSECA, Y. M. Eficácia de tratamento homeopático no controle da mastite subclínica em bovinos. **Veterinária notícias**, v. 11, n. 2, p. 53-59, 2005.

ALMEIDA, Leslie Ávila do Brasil. **Avaliação de tratamento homeopático com *Phytolacca decandra* 30CH durante a lactação de vacas com mastite subclínica**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2009.

ASSIS, A. A.; FAÉ, C. B.; DONATELE, D. M.; BARIONI, G.; CLIPES, R. C.; ALMEIDA, Í. C.; DENADAI, L. B.; SARMENTO, L. P.; ALMEIDA, S. L. H.; GUERSON Y. B.; Prevalência e etiologia da mastite bovina em municípios da região do Caparaó/ES. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 15, n. Suppl 2, p. 285-286, 2017.

BARBALHO, T. C. F.; A MOTA, R. Isolamento de agentes bacterianos envolvidos em mastite subclínica bovina no Estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 2, n. 2, 2005.

BRITO, M. A. V.; BRITO, J. R. F.; SOUZA, H. M.; VARGAS, O. L.; Avaliação da sensibilidade da cultura de leite do tanque para isolamento de agentes contagiosos da mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 18(1), 39-44, 1998.

BRITO, J. R. F.; CALDEIRA, G. A. V.; SILVA VERNEQUE, R.; PAIVA, M. A. V.; 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, 2014.

COSTA, E. O.; Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 1, n. 1, p. 3-9, 1998.

COSTA, N. C.; ARAÚJO, R. L.; FREITAS, G. B. L.; Homeopatia: Um campo terapêutico fundamental no cuidado veterinário de animais de produção. **Revista Salus**, v. 3, n. 2, p. 73-89, 2011.

CUNHA, R. P. L.; MOLINA, L. R.; CARVALHO, A. U.; FACURY FILHO, E. J.; F ERREIRA, P. M.; & GENTILINI, M. B.; Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite em vacas da raça Holandesa. **Arq. bras. med. vet. zootec**, v. 60, n. 1, p. 19-24, 2008.

EGAN, J. O. H. N. Homeopathic mastitis control: a study on the uptake and efficacy of products in the Republic of Ireland. **Axient institute for Animal health**, p. 22-28, 1998.

JESUS, R. A., & COUTINHO, C. A. Uso de medicamentos homeopáticos para o tratamento da mastite bovina: revisão. **PUBVET**, v. 12, p. 130, 2017.

LIMA, L. F.; ALVES, A. M. C. V.; ROCHA, R. M. P.; CELESTINO, J. J. H.; BRUNO, J. B.; RODRIGUES, A. P. R.; FIGUEIREDO, J. R.; A homeopatia como alternativa no tratamento de distúrbios reprodutivos. **Ciência Animal**, v. 22, n. 2, 2012.

MACHADO, Sandro Charopen. **Fatores que afetam a estabilidade do leite bovino**. Porto Alegre, 2010. 191p. Tese de doutorado em zootecnia. Produção animal. Faculdade de Agronomia da Universidade do Rio Grande do Sul.

MANGIÉRI JUNIOR, R.; SOUTO, L. I. M.; MELVILLE, P. A.; BENITES, N. R.; Avaliação de tratamento homeopático na mastite bovina subclínica. **Veterinária e Zootecnia**, v. 14, n. 1, p. 91-99, 2007.

MARTINS, C. R., VIERIA, E. C., GAZIM, Z. C., & MASSAMBANI, C. Tratamento de mastite subclínica por meio de suplementação mineral homeopática da dieta de vacas leiteiras em lactação-estudo de caso. **Cultura Homeopática**, v. 19, p. 16-19, 2007.

MARTINS, R. P.; SILVA, J. A. G.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V., & ALMEIDA FILHO, E. S. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá-MT. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 181-187, 2010.

PAULA LEAL, L.; COSTA, C. Utilização da homeopatia para redução da contagem de células somáticas (CCS) em vacas Girolando. **PUBVET**, v. 7, p. 1304-1450, 2013.

PEDRINI, S. C. B.; MARGATHO, L. F. F. Sensibilidade de microrganismos patogênicos isolados de casos de mastite clínica em bovinos frente a diferentes tipos de desinfetantes. **Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 4, p. 391-395, 2003.

PEIXOTO, E. C. T. M.; PELANDA, A. G.; RADIS, A. C.; HEINZEN, E. L.; GARCIA, R. C.; VALÉRIO, M. A. Incidência de mastite bovina em animais homeopatizados. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Paraná, v. 64, n. 367, p.66-71, mar. 2009.

SIDDIQUEE, N. U., TRIPURA, T. K., ISLAM, M. T., BHUIYAN, S. A., RAHMAN, A. K. M. A., & BHUIYAN, A. K. F. H. Prevalence of sub-clinical mastitis in high yielding crossbred cows using Draminski Mastitis Detector. **Bangladesh Journal of Veterinary Medicine**, v. 11, n. 1, p. 37-41, 2014.

SILVA, L. M. V; ALBERICO, A. X. C; SOUZA, N; GUEDES, L. L. M; PENA, A. C. S; MAIA, P. H. B. B; LIMA, J. W. G; TEIXEIRA M. G. Multirresistência antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados de rebanhos mestiços leiteiros do norte do estado de Minas Gerais, Brasil. **Revista de Educação**. 85-86, 2016.

SILVEIRA, T. M. L., FONSECA, L. M., LAGO, T. B. N., & VEIGA, D. R. Comparação entre o método de referência e a análise eletrônica na determinação da contagem de células somáticas do leite bovino. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 1, p. 128-132, 2005.

SOUZA, M. F. A. Homeopatia veterinária. In: **Conferência virtual global sobre produção orgânica de bovinos de corte**. 2002. p. 1-4.

SOUZA, G. N., BRITO, J. R. F., MOREIRA, E. C., BRITOALMEIDA, M. A. V. P., & SILVA, M. V. G. B. Somatic cell counts variation in dairy cows according to mastitis pathogens. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 5, p. 1015-1020, 2009.

TELLES, D. Z.; SILVESTRE, L.; GOMES, O. P. Avaliação microbiológica de amostras de leite oriundo de mamites subclínicas antes e após tratamento homeopático. **Campo Grande-MS, Real e Cia Ltd.**, 2006.

TOZZETTI, D. S.; BATAIER, M. B. N.; ALMEIDA, L. R. D.; PICCININ, A. Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas–revisão de literatura. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, v. 6, n. 10, 2008.

XIMENES, Gustavo Naciff. **Terapêutica da mastite utilizando medicamentos homeopáticos**. Trabalho de conclusão de curso de graduação. Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, 2009.

ZAFALON, L. F., NADER FILHO, A., OLIVEIRA, J. V. D., & RESENDE, F. D. D. Comportamento da condutividade elétrica e do conteúdo de cloretos do leite como métodos auxiliares de diagnóstico na mastite subclínica bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, p. 159-163, 2005.

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA PARA CONSUMO ANIMAL NA ZONA RURAL DA CIDADE DE MATIPÓ/MG

Acadêmica: Gisele Costa Magalhães

Orientadora: Mariana de Faria Gardingo Diniz

RESUMO

A água é um recurso natural importante na manutenção da vida, na composição dos seres vivos e do meio ambiente, porém nem sempre é utilizada ou conservada da melhor forma. Sem a devida preservação, se torna importante veículo na transmissão de uma variedade de doenças, tornando sua qualidade microbiológica um fator indispensável para a saúde animal e público. A água potável deve estar em conformidade com padrão microbiológico, disposto pela Portaria 2.914 de 2011 do Ministério da Saúde, que estabelece, para água de consumo humano, a ausência de *Escherichia coli*. O objetivo do estudo foi avaliar a qualidade microbiológica da água utilizada no manejo e na alimentação do gado leiteiro, em propriedades na zona rural do município de Matipó. Para isso, pesquisou-se a presença de bactérias heterotróficas, coliformes totais e termotolerantes, coliformes fecais e *E. coli*, utilizando a técnica dos tubos múltiplos. Os resultados revelaram que todas as amostras de água apresentaram índices de contaminação acima do permitido pela legislação vigente. Conclui-se, portanto, que são necessárias adoção de estratégias de preservação e de cuidado com qualidade da água, minimizando o risco aos animais.

PALAVRAS-CHAVE: potabilidade, portaria, contaminação.

1. INTRODUÇÃO

A água é um nutriente essencial para todos os seres vivos, nos animais ela corresponde a cerca de 50% a 80% do peso vivo. Por ser o constituinte de maior abundância no organismo, a quantidade e qualidade da água fornecida aos animais é de fundamental importância para o seu desempenho produtivo; uma vez que a mesma tem a função de nutrição do tecido celular e de compensar as perdas ocorridas pelo leite, fezes, urina, saliva, evaporação (suor e respiração) e também de manter a homeotermia. Portanto, deve ser limpa, inodora, incolor, insípida e abundante (CAMPOS, 2006).

Existe uma grande preocupação das autoridades no que diz respeito ao meio ambiente, sobretudo no que se refere à qualidade da água. A água, embora essencial à vida, pode oferecer riscos à saúde em face de sua má qualidade, servindo de veículo para vários agentes biológicos e químicos. Assim, é importante atentar aos fatores que podem interferir negativamente na qualidade da água que é oferecida aos animais (SPERLING, 2007).

Na área rural, onde ocorre maior concentração de criação de animais, a água subterrânea, oriunda de poços, e água dos rios, de uma forma geral, constituem importantes fontes de suprimento de água para consumo animal. Tradicionalmente, esses tipos de fontes de abastecimento são consideradas seguras para o consumo "in natura" (PINTO *et al.*, 2010). Contudo, o risco de ocorrência de surtos de doenças de veiculação hídrica no meio rural é alto. Isso se deve, principalmente, em função da possibilidade de contaminação por micro-organismos presentes na água que muitas vezes são captadas em poços velhos, inadequadamente vedados e próximos de fontes de contaminação, como fossas e áreas de pastagem ocupadas por animais, ou rios com grande contaminação. Por isso, faz-se necessário o monitoramento constante da sua qualidade (ROCHA, 2006).

A pecuária leiteira no Brasil assume importância no desempenho econômico e na geração de renda de grande número de produtores e é responsável por elevada absorção de mão-de-obra rural (contratada e familiar) propiciando a fixação do homem no campo (OLIVEIRA *et al.*, 2008). Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo realizar a avaliação microbiológica da qualidade da água utilizada no manejo e na alimentação do gado leiteiro em propriedades na zona rural no município de Matipó/MG.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A água é um recurso natural fundamental para produção animal, devendo estar disponível em quantidade e em qualidade. De tal forma, para se otimizar a produção animal, deve-se dar à água importância semelhante a que se dá a outros fatores de produção, como instalações e manejo (PONTES, 2014).

O termo "qualidade da água", refere-se às suas características químicas, físicas e biológicas, sendo que estas possuem critérios definidos de acordo com a finalidade de utilização da mesma (MERTEN & MINELLA, 2002). Tais características são intrínsecas e próprias, podendo apresentar qualidade variável, dependendo do local e das condições de sua origem. Assim, mesmo a água que não sofre ação antrópica pode ter características sulfurosas, carbonatadas e magnesianas em sua origem (OLIVERIA & TERRA, 2004).

Algumas características que afetam a qualidade da água, tornando-a imprópria para o consumo, são a presença de minerais com traços tóxicos ou o excesso destes,

como flúor, selênio, ferro e molibdênio, o que pode causar distúrbios sérios, principalmente em suínos e aves; e a presença de nitrogênio na água, que indica decomposição de matéria orgânica, contaminação fecal ou nitratos (MERTEN & MINELLA, 2002).

Sperling (2007) assegura que córregos, rios, nascentes e águas subterrâneas, possuem componentes que alteram o seu grau de pureza que podem ser retratados de acordo com suas características físicas, como presença de sólidos, em suspensão, coloidais ou dissolvidos; químicas, como a matéria orgânica ou inorgânica; e biológicas, dadas pelos seres presentes, vivos ou mortos. Tais características são manifestadas na forma de parâmetros de qualidade da água (SPERLING, 2007).

Diante de diversos fatores poluentes que oferecem risco de contaminação à água, foi necessário implantar diferentes métodos para assegurar a sua qualidade, promovendo a saúde e o bem-estar da população (BARCELLOS & RODRIGUES, 2006). Para Bortolli (2016), são os parâmetros físico-químicos e microbiológicos que indicam o nível da qualidade de um corpo hídrico em determinado momento. Assim, várias são as medidas que devem ser tomadas a fim de manter ou melhorar as condições da qualidade da água em relação aos valores referentes à sua classe (BORTOLLI, 2016).

Diante disto, os parâmetros microbiológicos são aqueles que determinam a qualidade bacteriológica da água, sendo capazes de avaliar e quantificar coliformes totais e termotolerantes, além da contagem das bactérias heterotróficas e determinação do coeficiente de desoxigenação (AMARAL *et al.*, 2003; BARCELLOS & RODRIGUES, 2006). Já os principais parâmetros físico-químicos de qualidade são: cor, turbidez, temperatura, sabor, pH, alcalinidade, dureza, cloretos, ferro, manganês, nitrogênio, fósforo, fluoretos, oxigênio dissolvido, matéria orgânica e micro poluentes orgânicos e inorgânicos (ALEMIDA & SCHWARZBOLD, 2003; SPERLING, 2007).

A quantidade de água consumida pelos animais de forma geral é influenciada pela temperatura ambiente, pelo peso, pela idade, pela fase de vida do animal e pelo consumo de matéria seca. A água destinada à dessedentação destes animais deve estar isenta de substâncias químicas e de organismos patogênicos prejudiciais à saúde dos mesmos. O fornecimento inadequado de água, além dos possíveis prejuízos diretos, pode levar a diminuição do consumo alimentar, prejudicando o desempenho

do animal, principalmente a produção de leite quando se trata de vacas leiteiras (BORTOLI, 2016).

Segundo Alves *et al.* (2012) monitorar a qualidade da água por meio de análises físico-químicas e microbiológicas fornece subsídio às políticas de proteção ambiental e decisão nas ações de gestão ambiental.

A água captada de poços ou nascentes no meio rural pode apresentar contaminação por coliformes, isso se deve, aos poços não são vedados adequadamente ou ainda, quando a população não recebe informações sobre os cuidados. Quando isto acontece, os mesmos são construídos próximos a fossas, áreas de pastagens ou outros locais que favorecem a contaminação por micro-organismos, aumentando o risco dos produtores e dos animais desenvolverem doenças decorrentes de consumo de água proveniente de fontes hídricas contaminadas (AMARAL *et al.*, 2003).

A alta carga de contaminação da água consumida pelos animais, por bactérias entéricas como *E. coli* e por bactérias do gênero *Enterococcus*, ocorre principalmente devido à introdução de material fecal no bebedouro, toda vez que os animais ingerem a água. Outro fator agravante para os animais é a presença de nitratos solúveis na água, uma vez que os mesmos têm baixa tolerância a esses compostos (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

A água deve apresentar as seguintes características para ser considerada de boa qualidade: ser incolor, inodora e insípida; e o pH ideal é o próximo da faixa de neutralidade (pH 7,0), uma vez que valores acima de 7,6 indicam alcalinidade, indicando a possibilidade de níveis elevados de cálcio e magnésio, o que tornaria a água imprópria para consumo. A presença de bactérias na água indica matéria orgânica e/ou contaminação fecal (coliformes), havendo a necessidade de tratamento (cloração). Além disso, a presença de parasitos na água, ocorre por contaminação dos próprios animais e também torna a água imprópria para consumo (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Assim, a qualidade da água para abastecer o gado deve ser levada em consideração. As águas altamente salinas ou que contenham elementos tóxicos ou micro-organismos patogênicos representam perigo à saúde animal, afetando a qualidade da carne e do leite e, conseqüentemente, dos seus derivados (AMORIM *et*

al., 2014). Exemplo disto, é o caso em que a água atua como um importante veículo de agentes causadores de diarreias em bezerros (ARAÚJO & OLVEIRA, 2013).

Embora os bovinos possam suportar água de pior qualidade que os humanos, estes são afetados por substâncias presentes na água, que em determinadas concentrações, podem ser fatais. Dependendo da concentração de tais substâncias, os bovinos podem não apresentar sinais cíclicos, mas a conversão alimentar, a lactação e a reprodução podem ser afetados (NETO *et al.*, 2016).

Na ausência de fontes de água em quantidade e de boa qualidade para os animais, algumas alternativas podem ser adotadas no intuito de reduzir o risco à saúde animal, como lavar os bebedouros com frequência, evitando maior concentração de sais pelo processo da evaporação; reduzir perdas por evaporação nos reservatórios; diluir as águas de qualidade inferior; e captar mais água de chuva para permitir a diluição das águas (AYERS & WESTCOT, 1991).

A água está intrinsicamente relacionada com a produção de leite, uma vaca em lactação ingere de quatro a seis litros de água por kg de matéria seca da ração, ou seja, de 40 a 60 litros de água dia (PEREIRA, e *al.*, 2009). Além disto, outro fator importante é a qualidade da água, que pode interferir negativamente em todo o sistema produtivo, caso contenha substâncias químicas indesejáveis e/ou micro-organismos patogênicos. Como a água é um elemento indispensável à vida animal, é necessário que se adotem medidas para garantir, tanto quanto possível, suas características a fim de que seja própria ao consumo (AMORIM, 2014).

A exploração da atividade leiteira no Brasil compõe significativa atividade do setor agrícola e desempenha papel relevante no processo de desenvolvimento econômico e social. O mercado do leite vem sofrendo transformações nos aspectos econômicos, qualidade e higiene, desde sua produção até a comercialização. As especificidades do produto final, em especial a qualidade, se encontram intimamente ligadas a matérias-primas advindas da propriedade rural (BORTOLLI, 2016).

Entre os patógenos disseminados em fontes de água, os entéricos são os mais frequentemente encontrados. O grupo coliforme inclui uma grande diversidade em termos de gênero e espécie, principalmente aquelas pertencentes à família enterobacteriaceae. A maioria das bactérias do grupo coliforme pertence aos gêneros *Escherichia sp*, *Citrobacter sp*, *Klebsiella sp* e *Enterobacter sp*. (CAMPOS, 2009).

Contudo, a água destinada ao consumo animal deve ser isenta de contaminantes biológicos e químicos, além de apresentar certos requisitos de ordem estética. Entre os contaminantes biológicos são citados organismos patogênicos compreendendo bactérias, vírus, protozoários e helmintos, que veiculados pela água podem, através da sua ingestão, parasitar o organismo humano ou animal. As doenças transmissíveis que ocorrem nos animais domésticos, principalmente em bovinos, suínos e aves, representam fatores importantes à Economia e à Saúde Pública, pois podem acarretar prejuízos econômicos, às vezes elevados (RUZANETE & FONSECA, 2001).

Sistemas de desinfecção de água via produtos químicos, via raios ultravioleta, ou adição de ácidos orgânicos devem ser implementados para prevenir a introdução de vários patógenos via água de bebida. Roedores, pássaros silvestres, insetos e mamíferos silvestres e domésticos constituem um importante reservatório de patógenos. Estes animais são um grande risco de entrada de agentes de enfermidades nos rebanhos via eliminação direta do agente no meio ambiente e consequente contaminação lateral (SESTI, 2000).

Com o exacerbado crescimento mundial nas últimas décadas tornou claro e evidente a necessidade de uma maior e mais detalhada atenção no que diz respeito à saúde dos animais. Principalmente porque o crescimento está baseado em um grande aumento no tamanho dos sistemas de produção com um consequente grande aumento na densidade animal em uma determinada área geográfica. Isto se traduz em uma situação ideal para a multiplicação, disseminação e perpetuação de vários patógenos e a ocorrência de surtos de enfermidades que acarretam elevados prejuízos econômicos (SESTI, 2004).

Inúmeras são as impurezas que se encontram nas águas naturais, várias delas inócuas, pouco desejáveis e algumas extremamente perigosas. No caso das águas naturais rurais, diversos fatores podem comprometer sua qualidade, o destino final do esgoto doméstico em fossas e tanques sépticos, a disposição inadequada de resíduos sólidos, criação de animais, lavagem de máquinas usadas na agricultura, representam fontes de contaminação por bactérias e vírus patogênicos, parasitas, substâncias orgânicas e inorgânicas nocivas aos seres vivos (SILVA e ARAUJO, 2003)

Para o controle de qualidade da água são realizados exames bacteriológicos, pois nas águas, o que realmente põe em risco à saúde animal é a ocorrência de poluição fecal (SCHAUMANN *et al.*, 2008).

O corpo de água que recebe matéria fecal passa a ser potencialmente perigoso à saúde humana e animal, pois pode veicular agentes patogênicos intestinais, que são também eliminados habitualmente pelas fezes (SCHAUMANN *et al.*, 2008).

Geralmente, na determinação de coliformes, realiza-se a diferenciação entre os de origem fecal e não fecal. Os coliformes não-fecais como *Serratia sp* e *Aeromonas sp* são encontradas no solo e vegetais, possuindo a capacidade de se multiplicarem na água com relativa facilidade. No entanto os coliformes de origem fecal, não se multiplicam facilmente no ambiente externo e são capazes de sobreviver de modo semelhante às bactérias patogênicas (ZULPO *et al.*, 2006).

Os coliformes são grupos que classificam as bactérias na forma de bastonete gram-negativo, não esporogênicos, aeróbios ou aeróbios facultativos, que são capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. Possuindo cerca de 20 espécies de bactérias originárias do trato intestinal de humanos e outros animais de sangue quente (PONTES, 2014).

Segundo Rocha (2006), o grupo de coliforme é índice de contaminação fecal. Dentre as bactérias de habitat reconhecidamente fecal, dentro do grupo dos coliformes termotolerantes, a *Escherichia coli* que são as conhecidas e mais facilmente identificadas dos membros não termotolerantes, sendo esse microrganismo o melhor indicador de contaminação fecal conhecida até o momento (SILVA *et al.*, 2003).

A portaria 2.914/2011 do Ministério da Saúde estabelece que sejam determinados na água, para aferição de sua potabilidade, a presença de coliformes totais e termotolerantes, de preferência *Escherichia coli* e a contagem de bactérias heterotróficas, as quais a contagem padrão de bactérias não deve exceder a 500 Unidades Formadoras de Colônias por um mililitro de amostra (500 UFC/ml), tal como não tolerar em nenhuma amostra de água tratada a presença de coliformes termotolerantes e admitir a presença de coliformes totais em algumas situações no sistema de distribuição (BRASIL, 2011).

Em relação a qualidade da água, de acordo com a portaria número 2.914/2011 do Ministério da Saúde são adotadas algumas definições: - Contagem de bactérias heterotróficas – determinação da densidade de bactérias que são capazes de produzir

unidades formadoras de colônias (UFC), na presença de compostos orgânicos contidos em meio de cultura apropriada, sob condições pré-estabelecidas de incubação: $35,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 48 horas (BRASIL, 2011).

Coliformes totais (bactérias do grupo coliforme) – bacilos gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, oxidase-negativos, capazes de desenvolver na presença de sais biliares ou agentes tensoativos que fermentam a lactose com produção de ácido, gás e aldeído a $35,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ em 24-48 horas, e que podem apresentar atividade da enzima β -galactosidase e β -glucuronidase (BRASIL, 2011).

Coliformes termotolerantes – subgrupo das bactérias do grupo coliforme que fermentam a lactose a $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ em 24 horas; tendo como principal representante a *Escherichia coli*, de origem exclusivamente fecal (BRASIL, 2011). Coliformes fecais indicam a possibilidade da presença de enteropatógenos, dentre eles a *Escherichia coli* que possui alguns sorotipos responsáveis por provocar doenças gastrointestinais, tendo a diarreia como principal sintoma (FARACHE FILHO; DIAS, 2008).

Escherichia coli – bactéria do grupo coliforme que fermenta a lactose e manitol, com produção de ácido e gás a $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ em 24 horas produz indol a partir do triptofano, oxidase negativa, não hidroliza a uréia e apresenta atividade das enzimas β -galactosidase e β -glucuronidase sendo considerado o mais específico indicador de contaminação fecal recente de eventual presença de organismos patogênicos (BRASIL, 2011).

Mesmo que a maioria das bactérias heterotróficas da água não seja considerada patogênica, é importante que sua densidade seja mantida sob controle, pois densidades muito elevadas dessas bactérias na água podem causar riscos à saúde do consumidor (FARACHE FILHO; DIAS, 2008). Algumas dessas bactérias podem atuar como patógenos oportunistas, deteriorantes da qualidade da água; ocasionando odores e sabores desagradáveis e produzindo limbo e películas, e influência inibidora de alguns micro-organismos; pois quando presentes em número elevado podem impedir a detecção de coliformes (FARACHE FILHO; DIAS, 2008).

3. METODOLOGIA

O estudo foi desenvolvido na zona rural de Matipó, no Córrego do Gambá (“S 20° 17’ 02” “e W 42° 20’ 28”). Este município apresenta o clima tipo quente e

temperado, temperatura média anual de 20°C, precipitação anual normal de 1.205 mm e umidade relativa média de 71% (Climate Data/INMET, 2018). Ainda, a vegetação caracterizada por Mata Atlântica (INMET, 2018).

Para o desenvolvimento da pesquisa foram visitadas cinco propriedades rurais produtoras de leite no período de julho a agosto de 2018.

Para avaliação microbiológica foram coletadas duas amostras de cada propriedade. A primeira amostra dos cochos ou bebedouros de água utilizados pelos animais e a segunda, obtida a partir das fontes de água (lagos, rios ou riachos utilizados para o consumo dos animais), totalizando dez amostras. Estas foram acondicionadas em tubos esterilizados, devidamente etiquetados e transportados em caixa térmica até o Laboratório de Microbiologia do Hospital-Escola Gardingo da Faculdade Vértice. Na análise microbiológica foi realizada a contagem de coliformes totais e termotolerantes.

Para contagem de bactérias aeróbias mesófilas foi realizada a técnica de cultivo em profundidade (*Pour Plate Method*), em duplicata para cada amostra, utilizando o meio Plate Count Ágar (PCA). Em cada uma das placas foi distribuído 1mL da amostra e adicionado o meio PCA fundido a 45°C. As placas foram homogeneizadas e, após completa solidificação do meio, foram incubadas em posição invertida por 48 horas a 35°C. Após esse período foi realizada a leitura do número de colônias e calculada a média das contagens obtidas. O resultado foi expresso em unidades formadoras de colônias por mL (UFC/mL). Para diluição foi utilizado um frasco de vidro graduado contendo 90 ml de água de diluição esterilizada; a este foi adicionado 10 ml da amostra de água a ser examinada (amostra direta), obtendo-se assim a primeira diluição decimal (10^{-1}), após passamos 10 ml para um frasco contendo 90 ml de água de diluição, obtendo-se assim a segunda diluição decimal (10^{-2}), onde 1 ml da mesma corresponde a 0,01 ml da amostra.

Para a contagem de coliformes totais e termotolerantes foi utilizado o método do número mais provável (NMP) ou técnica dos tubos múltiplos. Para isto, foram inoculados 10mL de amostra em cada tubo de uma série de três tubos contendo 10mL de caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) e incubados a 35°C por 24 horas. Após este período foi observado se houve crescimento bacteriano com produção de gás. Quando o resultado do crescimento foi negativo, o tubo foi reincubado novamente por mais 24 horas. De cada tubo de LST com crescimento e produção de gás, foi transferida uma

alçada para tubos contendo Caldo Verde Brilhante Bile (VB). Estes tubos foram incubados a 35°C por 24 horas. Após este período, foi observado se houve crescimento com produção de gás, confirmando a presença de coliformes totais. A partir do número de tubos positivos determinou-se o número mais provável a partir de uma tabela apropriada.

Já para a contagem de coliformes fecais, foram utilizados os tubos positivos para coliforme total para a realização do teste. Então, foi transferida uma alçada de cada cultura dos tubos de LST para tubos de caldo *Escherichia coli* (EC). Estes tubos foram incubados em banho-maria a 44,5°C por 24 horas. Após este período, foi observado a presença de resultados positivos pelo crescimento com produção de gás. A presença de coliformes fecais pelo NMP foi determinada utilizando a tabela para número mais provável, série de 5 tubos.

Por fim, os resultados obtidos foram organizados e expressos de forma descritiva. Os níveis de contaminação foram comparados aos padrões de qualidade de acordo com a legislação vigente, Portaria Ministério da Saúde 2.914, de 12 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No levantamento preliminar de cada propriedade, foi constatado que a água é usada predominantemente para o consumo humano, para o consumo animal e para as atividades domésticas. Em algumas propriedades foi verificado o uso da água para irrigação de hortas para consumo próprio, não tendo caráter de exploração comercial.

Além disto, na região estudada ocorre predominância de pequenas propriedades rurais, com base na agricultura familiar e com criação de gado leiteiro. Tais propriedades, na maioria das vezes, exploram as áreas dos mananciais com finalidade de produção agrícola e para alimentação de animais para subsistência familiar ao máximo possível ao redor das mesmas. Assim, segundo Pigosso *et al.* (2009), o principal problema em relação à ocupação do solo em torno de mananciais, está relacionado ao modo de uso, uma vez que o fator determinante para o elevado percentual de poluição nesses mananciais sobre este aspecto de ocupação é decorrente do tamanho da propriedade.

Ainda, pode-se observar durante a coleta das amostras nos mananciais, que a maioria apresenta alto grau de degradação ambiental e falta de mata ciliar como mostram a Figura 1.



Figura1: Avaliação in loco da região manancial de uma das propriedades avaliadas.

Em relação à avaliação microbiológica das bactérias heterotróficas, todas as amostras excedem o número permitido (TABELA 1), que, de acordo com a Portaria nº 2.914/2011, não deve exceder a 500 UFC/mL (BRASIL, 2011).

Tabela1: Valores obtidos na avaliação microbiológica das bactérias heterotróficas por PCA.

Propriedade	Nº de amostras	Resultado amostra A (bebedouro ou cocho) UFC/ml	Resultado amostra B (córrego ou fonte de abastecimento da propriedade) UFC/ml
01	2	6.300	4.900
02	2	4.300	1.760
03	2	2.200	2.100
04	2	6.000	6.000
05	2	9.600	5.900

A contagem de bactérias heterotróficas em mananciais depende das condições como: correnteza, tipo de captação, distância entre a fonte e fossa sanitária, entre outros (BRASIL, 2011). De acordo com Domingues *et al.* (2007), a contagem de tais bactérias, genericamente definidas como micro-organismos que requerem carbono orgânico como fonte de nutrientes, fornece informações sobre a qualidade bacteriológica da água de uma forma ampla. Apesar da maioria das bactérias heterotróficas não ser patogênica, pode representar riscos à saúde animal e humano, além de deteriorar a qualidade da água, provocando o aparecimento de odores e sabores desagradáveis.

Nas propriedades avaliadas um dos fatores que pode ter contribuído para o alto grau de contaminação, é o acesso facilitado dos animais ao córrego que abastece toda a propriedade. Ou, ainda, mesmo que a água de abastecimento não tenha tido contato dentro da propriedade, a mesma vem de outros acessos que já passaram por contato direto com animais, podendo assim já estar contaminada (FIGURAS 2 a 6).



Figura 2: Propriedade 1: A) água do bebedouro; B) água do córrego.



Figura 3: Propriedade 2: A) água do bebedouro; B) água do córrego.



Figura 4: Propriedade 3: A) água do bebedouro; B) água do córrego.



Figura 5: Propriedade 4: A) água do bebedouro; B) água do córrego.



Figura 6: Propriedade 5: A) água do bebedouro; B) água do córrego.

Segundo Neto (2014), na flora natural da água existem micro-organismos patogênicos que precisam ser mantidos sob controle, pois em quantidades excessivas podem se transformar em agentes oportunistas prejudicando a saúde animal.

Em relação a avaliação microbiológica para a pesquisa de coliformes totais e *E. coli*, todas as amostras foram positivas, estando em desconformidade com a Portaria nº 2.914/2011, que preconiza a ausência destes micro-organismos em 100 ml de amostra (BRASIL, 2011). Todas as amostras após avaliação pela técnica do Número Mais Provável utilizando a séries de 3 tubos, com respectivos intervalos de confiança 95%, obteve resultados de >1100 NMP/ml.

Em um estudo semelhante, Rocha *et al.* (2006) fizeram a avaliação microbiológica da qualidade da água e percepção higiênico-sanitária na área rural de Lavras, onde coletaram amostras no subterrâneo em nascentes e superficial, e encontraram 93% fora do padrão de potabilidade, concordando com o presente trabalho. Outro ponto semelhante entre ambos os trabalhos é que grande parte das amostras coletadas também era utilizada na bovinocultura de leite (ROCHA *et al.*, 2006).

O monitoramento microbiológico é de grande importância por permitir medir o grau de poluição fecal, uma vez que os coliformes são constituintes normais da microbiota intestinal de animais de sangue quente (COSTA, *et al.*, 2013).

Com relação à *E. coli*, segundo Oliveira *et al.* (2008) a mesma é capaz de sobreviver na água de dessedentação de bovinos. Ainda, é provado que a água de bebida de bovinos tem papel na transmissão deste patógeno, sendo necessário um programa de monitoramento da água oferecida aos animais em propriedade leiteira (PEREIRA *et al.*, 2009; PIRES, 2011). Nos bovinos, *E. coli* é um dos principais agentes envolvidos na patogenia da mastite, causando impactos negativos na economia leiteira, decorrentes da redução na produção, perda da qualidade do leite, altos custos dos serviços veterinários e medicamentos, queda do rendimento industrial e descarte precoce ou morte dos animais (CAMARGO & SUFFREDINI, 2015). Voges *et al.* (2017), em estudo realizado no estado de Santa Catarina, constataram que a qualidade microbiológica da água influencia não somente a saúde animal, mas também o manejo de ordenha, afetando de forma direta e indireta a qualidade do leite.

Ainda concordando com o presente estudo, Pinto *et al.* (2010) ao analisarem parâmetros microbiológicos da água em propriedades rurais, verificaram que todas as propriedades avaliadas apresentaram valores em desacordo com o previsto pela legislação vigente. Outros estudos, sobre a qualidade da água no meio rural, já realizados em diferentes regiões do Brasil, evidenciaram a utilização de fontes destinadas a dessedentação animal sem tratamento, implicando no aumento de doenças causadas por vírus e bactérias, comprometendo a saúde animal (BORTOLLI, 2016; PINTO *et al.*, 2010).

Assim, a qualidade microbiológica é um dos principais indicadores responsáveis por garantir a característica natural da água. A má qualidade microbiológica da água contamina equipamentos de ordenha e de resfriamento, comprometendo na qualidade do leite (AMARAL *et al.*, 2003). Além disto, segundo Neto (2014), tal fator favorece o aumento das afecções veiculadas pela água, diminuindo o desempenho produtivo e reprodutivo dos animais; e favorece, em consequência, a disseminação dos agravos à saúde pública.

De acordo Nogueira *et al.* (2003), os locais de dessedentação mais usuais na criação de bovinos são cochos bebedouros e mananciais, muitas vezes impuros, favorecendo uma alta carga de contaminação proveniente de material fecal. Associado

a isto, existem outros fatores como elevada temperatura e exposição as radiações solares que podem estar relacionados a contagem de coliformes totais e fecais (NOGUEIRA *et al.*, 2003).

Por fim, a exigência cada vez maior do consumidor por produtos de qualidade, fez com que indústria e produtores adotassem tecnologias que venham a assegurar a inocuidade de seus produtos. Assim, a atenção com a água está cada vez maior diante de sua importância em todas as etapas de obtenção do produto (CARVALHO *et al.*, 2002). A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) publicou um documento sobre manejo sanitário indicando as principais causas que desencadeiam a mamite ou mastite apontando que a presença de coliformes no ambiente ou água é fator de casuística da doença (CAMPOS, 2006).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todas as propriedades amostradas, localizadas no Córrego do Gambá, obtiveram resultados microbiológicos acima do permitido pela legislação vigente. Com bases nestes achados, fica evidente a necessidade de adoção de estratégias de preservação e cuidado com qualidade da água, minimizando a contaminação física e biológica; já que a mesma atua como um veículo para importantes patógenos, implicando em riscos à saúde animal.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. A. B.; SCHWARZBOLD, A. Avaliação sazonal da qualidade das águas do Arroio da Cria Montenegro, RS com aplicação de um índice de qualidade de água (IQA). RBRH - **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 8, n. 1, p. 81-97, jan./mar. 2003.

ALVES, I. C. C.; EI-ROBRINI, M.; SANTOS, M. de L. S. MONTEIRO S. M.; BARBOSA, L. P. F.; GUIMARÃES, J. T. F. Qualidade das águas superficiais e avaliação do estado trófico do Rio Arari (Ilha de Marajó, norte do Brasil). **Acta Amazonica**, v. 42, n. 1, p. 115-124, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672012000100014>

AMARAL, L.A., Rossi Júnior, O. D.; Nader Filho, A.; Ferreira, F. L. A.; L.S.S. Barros, L. S. S. Ocorrência de Staphylococcus sp. em água utilizada em propriedades leiteiras do Estado de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.5, 2003.

AMARAL, L. A. do. NADER F, A., ROSSI J, O. D. FERREIRA, L. A. F., BARROS, L. S. S. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 37, n. 4, p.510-514, Agosto. 2003.

AMORIM, J. R. A; CRUZ, M. A. S; RODRIGUES JUNIOR, L. N; GALINA, M. H; LUIS ALBERTO SOUZA, L. A. **Qualidade da Água Superficial para Dessedentação Animal na região do Polo de Produção de Milho em Sergipe: Diagnóstico Preliminar.** VII Encontro de Recursos Hídricos em Sergipe - 19 e 20 de março de 2014, Aracaju. 2014.

ARAUJO, M. C. de; OLIVEIRA, M. B M. de. Monitoramento da qualidade das águas de um riacho da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil. **Revista Ambiente & Água**, v. 8, n. 3, p. 247-257, 2013. <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1192>.

AYERS, R. S.; WESTCOT, D.W. **A qualidade da água na agricultura.** Tradução H. R. Gheyi; J. F. Medeiros; F. A. V. Damaceno. Campina Grande, PB: UFPB,1991. 218 p. (FAO: Irrigação e Drenagem; 29) Revisado 1.

BARCELLOS, C. M.; RODRIGUES, L. S. et al. Avaliação da qualidade da água e percepção higiênico-sanitária na área rural de Lavras, Minas Gerais, Brasil, 1999-2000. **Caderno de Saúde Pública**, v.22, n.9, p.1967-1978, 2006.

BORTOLI, J. **Qualidade Físico-Química E Microbiológica Da Água Utilizada Para Consumo Humano E Dessedentação Animal Em Propriedades Rurais Produtoras De Leite Na Região Do Vale Do Taquari/Rs.** Centro Universitário Univates, Programa De Pós-Graduação Stricto Sensu, Mestrado Em Ambiente E Desenvolvimento. Lajeado, 2016.

BRASIL. **Ministério de Estado da Saúde.** PORTARIA Nº 2.914, DE 12 DE DEZEMBRO DE 2011 Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Disponível em:

<<http://www.saude.mg.gov.br/images/documentos/PORTARIA%20No-4,%20DE%2012%20DE%20DEZEMBRO%20DE%202011.pdf>> Acesso em: 10/07/2018.

CAMARGO, L. R. P.; SUFFREDINI, I. B. Impacto causado por Escherichia coli na produção de animais de corte no Brasil: revisão de literatura. Núcleo de Pesquisas em Biodiversidade da Universidade Paulista, **Journal of the Health Sciences Institute**. v:33, n:2, p:193-7 São Paulo-SP, Brasil. 2015.

CAMPOS, A.T. **Importância da água para bovinos de leite.** Instrução técnica para o produtor de leite, n 31. Embrapa Gado de Leite. Juiz de Fora (MG), março 2006.

CAMPOS, M.M.M.; VERAS, Í.V.U.M.; LIMA, M.T.A.; SILVA, L.B. **Avaliação da Qualidade Microbiológica da Água Na Zona Rural do Município de Parelhas Utilizadas Para Produção Animal.** IX Congresso de iniciação científica do IFRN. 2009.

CARDOSO, I.P; DUBOW, M; NETO, M.B; RODRIGUES, C.V; PRÁ, M.D; BESKOW, S; SUZUKI, L.E.A.S; MILANI, I.C.B. **Problemática da Qualidade da Água Consumida em uma Escola da Zona Rural do Município de Cerrito Alegre-RS.** 21º Congresso de Iniciação Científica. 4º Mostra Científica. Universidade Federal Pelotas. . 2012.

[CARVALHO Filho](#), O. M.; [Araujo, G. G. L.](#); [Languidey](#), P. H.; [Sá.](#); J. L.; [Lima](#), V. M. B. **Manejo Sanitário**. Embrapa Gado de Leite. Sistema de Produção, 6. Juiz de Fora. 2002.

CARVALHO, G. A. et al. **Avaliação do uso da Base Vetorial do IBGE/ Geominas como instrumento de gestão das Apps e preservação dos recursos hídricos**. II Simpósio Brasileiro de Ciências Geodésicas e Tecnológicas da Geoinformação, Recife, 11 Setembro 2008.

COSTA, L. N.; MONTEIRO, P. L. A.; GOMES, A, A. Análise Físico-Química E Microbiológica Da Água De Tanques Utilizados Na Dessedentação De Bovinos. **Revista de Ciências Exatas e da Terra UNIGRAN**, v2, n.2, 2013.

DOMINGUES. V.O, TAVARES.G.D, STUKER. F,MICHELOT. T. M, REETZ. L.G.B,BERTONCHELI. C.M, HORNER.R. Contagem De Bactérias Heterotróficas Na Água Para Consumo Humano: Comparação Entre Duas Metodologias. **Saúde**, Santa Maria, vol 33, n 1: p 15-19, 2007.

FARACHE FILHO, Adalberto e DIAS, Maria Fernanda Falcone. Qualidade microbiológica de águas minerais em galões de 20 litros. **Alimentos e Nutrição de Araraquara**. Vol 19, p 243-248, 2008.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Website. 2012. Disponível em: www.inmet.gov.br. Acesso em: 2018.

MERTEN, G.H.; MINELLA, J.P. Qualidade da água em bacias hidrográficas rurais: um desafio atual para a sobrevivência futura. **Revista Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**. Porto Alegre, v.3, n.4, p.33-38, 2002.

NETO, O. P. A. Pecuária Goiana: **A Tecnicização do espaço rural e a internacionalização do agronegócio da carne bovina (1920-2012)**. Dissertação de Mestrado em Geografia do Instituto de Estudos Socioambientais da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

NETO, S. B. N; ARAÚJO, I. I. M; TÁVORA, M. A. Qualidade De Água De Dessedentação De Bovinos Da Fazenda-Escola Do Ifrn-Ipanguaçu. Instituto Federal do Rio Grande do Norte – IFRN. **HOLOS**, Ano 32, Vol. 3. P. 52-61, 2016.

NOGUEIRA, F. F.; COSTA, I. A.; PEREIRA, U. A. **Análise de Parâmetros Físico-Químicos da Água e do Uso e Ocupação do Solo na Sub-bacia do Córrego da Água Branca no Município de Nerópolis – Goiás**. Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Ambiental e Sanitária pela Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

OLIVEIRA, A. C. S.& TERRA, A. P. S. Avaliação microbiológica das águas dos bebedouros do Campus I da faculdade de medicina do Triângulo Mineiro, em relação à presença de coliformes totais e fecais. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, Uberaba. 37(3): 2004.

OLIVEIRA, V. D. M. et al. Avaliações Físicas, Químicas e Biológicas da Microbacia do Córrego Modeneis em Limeira - SP. **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v. 5, n. 1, p. 86-96, jan/abr 2008.

PALHARES, J.C.P. **Consumo de água na produção animal**. Embrapa. ISSN 1981-206X. São Carlos, SP. Novembro, 2013.

PEREIRA, E. R; PATERNIANI, J. E. S; DEMARCHI, J. J. A. A. A Importância Da Qualidade Da Água De Dessedentação Animal. **Revista Brasileira De Engenharia De Biosistemas**, Campinas, v.3 n.3, p.227-235, Set/Dez., 2009.

PIGOSSO, M.; BONFANTE, E.; FARIAS, E.; ENGEL, I.; RIGATTI, J.;NUNES, R.L.; BECEGATO, V.; ONOFRE, S.B. Diagnóstico ambiental da bacia hidrográfica do rio Jirau alto – Dois Vizinhos – Paraná, **Geo ambiente**, Jataí, n.13, p.174-193, 2009.

PINTO, F. R; SAMPAIO, C. F; MALTA A. S; LOPES, L. G; PEREIRA G. T; AMARAL, L. A. Características Da Água De Consumo Animal Na Área Rural Da Microbacia Do Córrego Rico, Jaboticabal, Sp. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, SP, v.26, n.3, 153-159, 2010.

PIRES, C. E. T. **Principais bactérias presentes em doenças transmitidas por alimentos (DTas)**. Trabalho apresentado como requisito parcial para graduação em Medicina Veterinária. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Veterinária. Porto Alegre. 2011.

PONTES, P. P; MARQUES, A. R; MARQUES, G. F. Efeito do uso e ocupação do solo na qualidade da água na micro-bacia do Córrego Banguelo – Contagem. **Revista Água & Ambiente**, v. 7, n. 3, p. 183-194, 2012. <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.962>

ROCHA, CMBM, Rodrigues LS, Costa CC, Oliveira PR, Silva IJ, Jesus EFM, Rolim RG. Avaliação da qualidade da água e percepção higiênico-sanitária na área rural de Lavras, Minas Gerais, Brasil, 1999-2000. **Cadernos de Saúde Pública**. 22(9):1967-1978, 2006.

ROSARIO, L. G. D. Diagnostico Ambiental da influencias das praticas agrícolas na Microbacia do Coquera, Mogi das Cruzes, SP. **Dados Internacionais de Catalogação na Publicação**, São Paulo, p. 51, 2014.

RUZANTE, J.M.; FONSECA, L.F.L. Água: mais um fator para atingir a qualidade do leite. **Revista Batavo**, v.8, n.108, p.40-42, 2001.

SANTOS, R. F. dos. Planejamento Ambiental: teoria e prática. São Paulo: **Oficina de Textos**, 2004. 184p.

SILVA, E.T.; MAGALHÃES, C.S. Controle de poluição de atividades pecuárias. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 22, n. 210, p. 62-76, 2003.

SCHAZMANN, R. D.; MENONCIN, F.; ELPO, E. R. S.; GOMES, E. C. Avaliação da qualidade bacteriológica da água consumida no Campus III (Jardim Botânico) da

Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil. **Visão Acadêmica**, Curitiba. 9(2): 65-70, 2008.

SESTI, L. A. C. **BIOSSEGURIDADE EM UM PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO DE AVES**. II Simpósio de Sanidade Avícola 14 e 15 de setembro de 2000 — Santa Maria, RS. 2000.

SESTI, L. **Biosseguridade Em Granjas De Frangos De Corte: Conceitos E Princípios Gerais**. V Simpósio Brasil Sul De Avicultura. 05 A 07 De abril de 2004 — Chapecó, SC – Brasil. 2004.

SILVA, Rita de Cássia Assis da; ARAÚJO, Tânia Maria de. Qualidade da água do manancial subterrâneo em áreas urbanas de Feira de Santana (BA). **Ciência & Saúde Coletiva**, vol.8, n. 4, p.1019-1028. 2003.

SOUZA, T.G.S.S. **Água Potável Garantia de Qualidade de Vida**. Universidade Federal do Piauí. 2002.

TOLEDO, L., G.; FERREIRA, C.J.A. Impactos das atividades agrícolas na qualidade da água. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, n. 58, p. 21-27, 2010.

VOGES, J. G.; FELIPUS, N. C.; RECHE, N. L. M.; D'OVÍDIO, L.; KAZAMA, D. C. S.; Thaler Neto, A. Qualidade Da Água E Do Leite Em Propriedades Leiteiras Do Planalto Norte De Santa Catarina. **Archives Of Veterinary Science**. v.22, n.3, p.13-23, 2017.

VON SPERLING, M. **Estudos de modelagem da qualidade da água de rios**. Belo Horizonte: UFMG, 2007. Vol. 7. 452 p.

ZULPO, D. L.; PERETTI, J.; ONO, L. M.; GARCIA, J. L. Avaliação microbiológica da água consumida nos bebedouros da Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina. v. 27 n.1 p.107-110, 2006.

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJOS MUÇARELA COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE MATIPÓ, MINAS GERAIS

Acadêmicas: Amanda Paula Souza Horsth Dutra e Talitha Bastos Santana

Orientadora: Letícia Ferreira da Silva

RESUMO

O queijo muçarela é um produto derivado lácteo pronto para o consumo e de grande aceitabilidade, uma vez que oferece diversas possibilidades de uso. Sendo assim, é bastante manipulado e entra em contato com vários equipamentos que podem viabilizar sua contaminação por diversos patógenos, oferecendo riscos à saúde pública. Para testar essa possível contaminação, esta pesquisa desenvolveu-se com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica de queijos muçarela de diferentes marcas, comercializados na cidade de Matipó, Minas Gerais. As estratégias adotadas para tal avaliação foram a verificação da presença de *Salmonella* spp. e a contagem de estafilococos coagulase positiva e de coliformes totais e termotolerantes. Para tanto, as amostras, adquiridas em cinco diferentes estabelecimentos do referido município, foram fatiadas no ato da compra e acondicionadas de acordo com as embalagens de cada local. As análises microbiológicas seguiram o estabelecido pela Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003 e comprovaram que todas as amostras estavam dentro dos padrões exigidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, para os diferentes micro-organismos pesquisados. Portanto, o resultado da investigação indicou que se tratam de produtos aptos ao consumo humano, resultado decorrente da adoção de práticas corretas de fabricação e de adequado manuseio pelos estabelecimentos comercializadores.

Palavras-chave: Coliformes, derivado lácteo, estafilococos coagulase positiva, *Salmonella* spp., saúde pública.

1. INTRODUÇÃO

O leite é um produto de origem animal altamente rico em nutrientes, além de ser o ingrediente básico de uma grande variedade de alimentos (ORDOÑEZ, 2005; ZOCCAL, 2017a). Juntamente com os agronegócios, a produção de leite desempenha papel importante na economia brasileira (ZOCCAL, 2017a). Somente no ano de 2016, a produção de leite no país chegou próximo aos 35,3 bilhões de litros. Segundo os resultados da Pesquisa Trimestral do Leite, só no terceiro trimestre de 2017, foram adquiridos 6,16 bilhões de litros de leite cru por estabelecimentos inspecionados, valor 5,4% superior ao alcançado no mesmo trimestre de 2016 (IBGE, 2017; ZOCCAL, 2017b).

Entre os estados brasileiros, Minas Gerais lidera o *ranking* de aquisição de leite, com 24,2% do valor total (IBGE, 2017), além de ser o maior produtor de queijo do país, representando 50% da produção nacional (CASTRO, 2015). A indústria queijeira é um importante seguimento do setor de laticínios, e os principais queijos produzidos nesse

estado são os tipos muçarela, Minas frescal e Minas padrão (TEIXEIRA *et al.*, 2008). Entre os derivados lácteos, o queijo destaca-se como um dos principais condutores de patógenos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) (DUARTE *et al.*, 2011).

Dentre os diferentes tipos de queijo, o muçarela é um dos mais consumidos no Brasil, uma vez que pode ser utilizado como ingrediente em diversos pratos, como pizzas ou sanduíches (COELHO *et al.*, 2012). É considerado, ainda, um produto pronto para o consumo e, por isso, assume um papel determinante para o aumento do número de casos de DTA (BRASIL, 2010). Outra característica desse derivado que pode favorecer a sua contaminação e a multiplicação de patógenos é o seu alto teor de umidade (DUARTE *et al.*, 2011). Entre os micro-organismos já identificados nesse tipo de queijo, destacam-se estafilococos coagulase positiva (PIETROWSKI *et al.*, 2008; DUARTE *et al.*, 2011; RODRIGUES *et al.*, 2011), *Salmonella* spp. (PIETROWSKI *et al.*, 2008) e coliformes (TEIXEIRA *et al.*, 2008).

Diante dessas constatações, a contaminação desse produto é motivo de preocupação tanto para o setor econômico quanto para a saúde pública, devido às perdas econômicas geradas para a indústria e ao potencial risco de DTA para a saúde dos consumidores, respectivamente (OKURA, 2010). Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica de queijos muçarela de diferentes marcas, comercializados na cidade de Matipó, Minas Gerais, por meio da pesquisa de *Salmonella* spp. e da contagem de estafilococos coagulase positiva e de coliformes totais e termotolerantes, no intuito de verificar os possíveis perigos à saúde pública veiculados por esse derivado lácteo.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (DTA)

As DTA são síndromes associadas à ingestão de alimentos ou água contaminados e, geralmente, caracterizam-se por sintomas gastrintestinais, como diarreia, vômitos, anorexia, entre outros, acompanhados ou não por febre. Em alguns casos mais graves, podem ocorrer manifestações extraintestinais e, até mesmo, a morte do paciente (BARRETTO, 2001; BRASIL, 2018). Essas doenças podem ser classificadas em três categorias de acordo com o mecanismo de ação do agente etiológico: infecção, intoxicação ou toxinfecção alimentar (BRASIL, 2010).

A incidência dessas enfermidades vem aumentando de maneira considerável nos últimos anos em diversos países. Isso se deve a uma variedade de fatores, dos quais se destacam principalmente a necessidade de produção de alimentos em larga escala e a mudança nos hábitos alimentares da população, optando pela praticidade dos alimentos prontos para o consumo (BRASIL, 2010). A série histórica de surtos de DTA no Brasil confirma essa tendência crescente, uma vez que a taxa de letalidade aumentou de 0,04% em 2000 para 0,12% em 2017 (BRASIL, 2018).

No período de 2000 a 2017, a região Sudeste foi a principal responsável por registros de casos de DTA no país, sendo que o leite e derivados foram incriminados em 3,21% dos surtos nesses mesmos anos. Ainda, segundo os dados do Ministério da Saúde, os agentes etiológicos identificados em maior frequência foram, em ordem decrescente, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e coliformes (BRASIL, 2018), demonstrando o impacto desses micro-organismos na saúde pública.

2.1.1 SALMONELOSE

O gênero *Salmonella* compreende duas espécies de bactérias, *S. enterica* e *S. bongori*, sendo que a primeira é subdividida em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica* (BRASIL, 2011). Dessas subespécies, a *enterica* é a de maior importância veterinária e de saúde pública. Além disso, esse gênero contém mais de 2.500 sorotipos (QUINN *et al.*, 2005). São bastonetes Gram-negativos, geralmente móveis, não fermentadoras de lactose, catalase positivas, oxidase negativas e anaeróbias facultativas não formadoras de esporos (QUINN *et al.*, 2005).

A salmonelose é uma infecção alimentar que provoca diarreia, febre e dores abdominais nos indivíduos infectados. Os sintomas aparecem entre 12 a 72 horas após a ingestão do alimento contaminado. A doença apresenta solução entre quatro a sete dias e a maioria dos pacientes se recuperam sem a necessidade de tratamento. Contudo, em alguns casos, é possível a ocorrência de septicemia, podendo resultar em morte do paciente. Esses casos são mais comuns em idosos, crianças e imunocomprometidos (CDC, 2017b).

No Brasil, entre os anos de 2000 a 2017, *Salmonella* spp. foi a principal responsável por surtos de DTA, estando envolvida em mais de 30% dos casos (BRASIL, 2018). Como os produtos de origem animal podem estar contaminados por

esse patógeno, não é recomendado o consumo de leite ou outros derivados lácteos que não tenham passado por tratamento térmico. Além disso, é importante evitar contaminações cruzadas, principalmente com os produtos prontos para o consumo (CDC, 2017b).

2.1.2 ESTAFILOCOCOSE

As bactérias pertencentes ao gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos, de aproximadamente 1 µm de diâmetro e que se agregam de modo a formar arranjos em formato de cachos de uvas. Tratam-se de bactérias imóveis, oxidase negativa e não formadoras de esporos; a maioria dessas bactérias são consideradas anaeróbias facultativas e catalase positivas. Além disso, três espécies, *S. aureus*, *S. intermedius* e *S. hyicus*, também são classificadas como coagulase positiva. Essa produção de coagulase está associada à patogenicidade desses micro-organismos, tornando-os, portanto, os principais causadores de doenças nos homens e nos animais (QUINN *et al.*, 2005).

A *S. aureus* está frequentemente relacionada a casos de DTA no Brasil (BRASIL, 2010). Entre os anos de 2000 a 2017, *S. aureus* foi o terceiro principal agente isolado dos surtos de DTA no país, sendo responsável por mais de 15% dos casos notificados (BRASIL, 2018). Os casos são diagnosticados como gastroenterite intestinal, causada pela ingestão de alimentos contaminados com toxinas produzidas por esse patógeno (CDC, 2017a), o que caracteriza a doença como uma intoxicação alimentar (BRASIL, 2010).

Como são micro-organismos naturalmente presentes na pele dos seres humanos, a principal causa da contaminação dos alimentos é a manipulação inadequada dos mesmos (OLIVEIRA *et al.*, 2010; CDC, 2017a). E sendo o queijo um produto que, durante a sua produção, passa por grande manipulação, torna-se um dos principais veículos dessa DTA (LOGUERCIO *et al.*, 2001).

2.1.3 COLIFORMES TOTAIS E TERMOTOLERANTES

O grupo dos coliformes totais e dos termotolerantes são considerados micro-organismos indicadores em produtos de origem animal. Tais micro-organismos recebem essa denominação porque, quando presentes nesses produtos, indicam provável contaminação por origem fecal, por condições higiênico-sanitárias deficientes

durante obtenção, processamento ou armazenamento, além da possível presença de patógenos nos alimentos (FRANCO, 2003). Assim, esses micro-organismos podem ser utilizados para indicar a qualidade microbiológica dos alimentos, no que diz respeito à vida de prateleira dos mesmos e à segurança alimentar (BERG *et al.*, 2014).

Os coliformes totais são bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, são bastonetes Gram-negativos, não formadores de esporos e são capazes de fermentar a lactose com produção de gás a 35-37 °C por 48 horas. Fazem parte desse grupo as bactérias do gênero *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* (BERG *et al.*, 2014). Já os coliformes termotolerantes são aqueles que apresentam a capacidade de continuar fermentando a lactose, também com produção de gás, quando incubados a 44-45 °C, destacando-se, entre eles, *E. coli* (FRANCO, 2003).

Os coliformes foram responsáveis por pouco mais de 5% dos surtos de DTA notificados no Brasil entre 2000 e 2017, sendo o quarto principal agente etiológico envolvido nesses casos (BRASIL, 2018). São bactérias que podem estar presentes no leite cru, contudo são destruídas com a pasteurização do mesmo (LEITE JUNIOR; FLORENTINO; OLIVEIRA, 2000).

2.2 QUEIJO MUÇARELA

O queijo muçarela é obtido por filagem de uma massa acidificada (consequência da coagulação do leite por adição de coalho ou outra enzima coagulante apropriada), complementada ou não pela ação de bactérias lácticas específicas. É considerado, ainda, um queijo de média, alta ou muito alta umidade (máximo 60,0% de umidade) e extragordo, gordo a semigordo (mínimo 35,0%) (BRASIL, 1997).

Entre os requisitos microbiológicos, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) exige que esse queijo apresente ausência de *Salmonella* spp. Já para a pesquisa dos demais micro-organismos, tolera-se que duas a cada cinco amostras apresentem contagem de 5.000 a 10.000 coliformes a 30 °C/g, de 1.000 a 5.000 coliformes a 45 °C/g e de 100 a 1.000 estafilococos coagulase positiva/g da amostra (BRASIL, 1997).

Trata-se do queijo mais consumido no Brasil, com 88% de consumo (CONAB, 2017), uma vez que pode ser utilizado como ingrediente tanto em pratos quentes quanto em pratos frios e possui alto rendimento (COELHO *et al.*, 2012). No entanto, devido a sua riqueza em nutrientes e por ser um queijo que, durante o processo de

produção e de comercialização, passa por grande manipulação e entra em contato com diversos equipamentos, torna-se mais susceptível a contaminações microbiológicas (PINTO *et al.*, 2009; MARINHEIRO *et al.*, 2015). Ainda, por ser um produto pronto para o consumo, aumenta-se o risco de atuar como veículo de DTA (BRASIL, 2010).

Devido ao alto consumo e à grande possibilidade de contaminação, diversos estudos buscam avaliar a qualidade microbiológica do queijo muçarela comercializado em diferentes regiões brasileiras. As pesquisas já realizadas identificaram inúmeras amostras em desconformidade com a legislação vigente, principalmente em relação aos micro-organismos citados anteriormente (PIETROWSKI *et al.*, 2008; DUARTE *et al.*, 2011; CASTRO *et al.*, 2012; MARINHEIRO *et al.*, 2015).

3. METODOLOGIA

3.1 AQUISIÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras de 100 g de queijo muçarela foram adquiridas em cinco estabelecimentos localizados na cidade de Matipó, Minas Gerais, sendo uma em cada comércio. Pertencem a cinco diferentes marcas comerciais, com registro no Serviço de Inspeção Federal (SIF) do Mapa. O queijo foi fatiado no ato da compra e embalado em embalagens próprias de cada estabelecimento.

Após a coleta, as amostras foram armazenadas em caixas isotérmicas contendo gelo e transportadas até o Laboratório de Microbiologia do Hospital-Escola Gardingo, onde foram realizadas as análises microbiológicas. Todas as etapas das análises microbiológicas seguiram os métodos oficiais estabelecidos pela Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003, do Mapa (BRASIL, 2003).

3.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

Para a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, 2,5 g de cada amostra foram adicionados em frascos estéreis contendo 22,5 ml de solução salina peptona 0,1%, seguido de homogeneização por um minuto, correspondendo a diluição de 10^{-1} . A partir dessa diluição inicial, foram realizadas diluições seriadas (10^{-2} e 10^{-3}).

3.3 CONTAGEM DE *Staphylococcus* COAGULASE POSITIVA

Para a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, às amostras foi inoculado 0,1 ml de cada diluição na superfície seca do ágar Baird-Parker. As placas foram incubadas a $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 a 48 horas.

Após o período de incubação, foram selecionadas as diluições que continham entre 20 e 200 colônias. Para a contagem, foram selecionadas as colônias típicas de *Staphylococcus* (colônias negras brilhantes com anel opaco, rodeadas por um halo claro, transparente e destacado sobre a opacidade do meio). Por fim, essas mesmas colônias foram selecionadas para a realização das provas bioquímicas de confirmação: coloração de Gram e provas da coagulase e da catalase.

3.4 CONTAGEM DE COLIFORMES TOTAIS E TERMOTOLERANTES

Já para a contagem de coliformes totais e termotolerantes, as amostras foram em seguida inoculados 1 ml de cada diluição em placas de Petri esterilizadas.

A cada placa foi adicionado 1,5 ml de ágar VRBA, previamente fundido e mantido a $46\text{ }^{\circ}\text{C}$ em banho-maria, seguido de homogeneização. Após a solidificação do meio, foram adicionados mais 10 ml do mesmo ágar em cada placa, formando uma segunda camada de meio. Após a completa solidificação do meio, as placas foram incubadas a $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24 horas.

Após a incubação, foram selecionadas as diluições que continham entre 15 e 150 colônias. Para a contagem, foram selecionadas as colônias típicas de coliformes (colônias róseas, com 0,5 a 2,0 mm de diâmetro, rodeadas ou não por uma zona de precipitação da bile presente no meio).

As colônias típicas também foram submetidas às provas confirmativas. Para a confirmação de coliformes totais, as colônias foram inoculadas em tubos contendo caldo verde brilhante bile 2% lactose e incubadas a $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas. A confirmação foi dada pela formação de gás (mínima 1/10 do volume total do tubo de Durham) ou pela efervescência quando agitados gentilmente. Já para a confirmação de coliformes termotolerantes, as colônias foram inoculadas em tubos contendo caldo EC e incubadas a $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas, em banho-maria com agitação. A confirmação também foi dada pela formação de gás (mínima 1/10 do volume total do tubo de Durham) ou pela efervescência quando agitados gentilmente.

3.5 PESQUISA DE *Salmonella* spp.

Para a pesquisa de *Salmonella* spp., 2,5 g de cada amostra de queijo muçarela foram adicionados em 22,5 ml de solução salina peptonada 1% tamponada, seguido de homogeneização por um minuto. As amostras foram, então, deixadas em temperatura ambiente por uma hora e, em seguida, incubadas a $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 16 a 20 horas, para a etapa de pré-enriquecimento.

Após essa fase, 0,1 ml de cada amostra foi transferido para frascos estéreis contendo caldo Rappaport Vassiliadis, sendo as amostras incubadas a $41\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 24 a 30 horas, para a fase de enriquecimento seletivo.

A partir do caldo, após a incubação, as amostras foram repicadas em placas contendo ágar MLCB, meio sólido seletivo para *Salmonella* spp. As placas foram incubadas a $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24 horas, e, após esse período, foram selecionadas colônias suspeitas (colônias negras brilhantes com bordas regulares) para a realização das provas bioquímicas de confirmação: coloração de Gram, reação em ágar TSI e prova da oxidase.

3.6 ANÁLISE DOS DADOS

Após a análise dos dados, os resultados encontrados foram dispostos na forma de frequência de resultados positivos, separados por diferentes estabelecimentos e por diferentes marcas comerciais.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado da análise das cinco amostras coletadas apontou que todas se encontravam dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 1997), tanto para a pesquisa de *Salmonella* spp. quanto para a contagem de coliformes totais e termotolerantes e para a contagem de estafilococos coagulase positiva (TABELA 1), não apresentando, portanto, nenhum risco à saúde pública. Concordando com esses resultados, Koelln, Mattana e Hermes (2009) também encontraram todas as sete amostras de queijo muçarela analisadas dentro dos padrões exigidos para os mesmos micro-organismos pesquisados no presente trabalho.

Tabela 1. Pesquisa de *Salmonella* spp. e contagem de coliformes totais e termotolerantes e estafilococos coagulase positiva em amostras de queijo muçarela, comercializados na cidade de Matipó, Minas Gerais.

Queijo muçarela	Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	Contagem de coliformes totais	Contagem de coliformes termotolerantes	Contagem de estafilococos coagulase positiva
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	-	-	-	-

Nota: (-) = Ausente (micro-organismo em questão não foi isolado na amostra analisada).

Com relação à pesquisa de *Salmonella* spp., todas as cinco amostras analisadas apresentaram ausência de tal patógeno (cf. TABELA 1), conforme exigido pela Portaria nº 364, de 04 de setembro de 1997 (BRASIL, 2001). Em consonância com os resultados do presente estudo, Koelln, Mattana e Hermes (2009), ao analisarem sete amostras de queijo tipo muçarela comercializadas na região Oeste do Paraná, verificaram a ausência de *Salmonella* spp. em 100% das amostras. Em uma análise microbiológica de queijos muçarela produzidos também no Paraná, mas na região Sudeste do estado, Raimann (2011) não detectou a presença desse patógeno nas vinte amostras estudadas. Ainda, também com resultados dentro do parâmetro da legislação para esse micro-organismo, Rodrigues *et al.* (2011) não encontraram esse patógeno em nenhuma das onze amostras pesquisadas no entorno de Goiânia, Goiás.

Contudo, diversos outros trabalhos identificaram a presença de *Salmonella* spp. em amostras de queijos muçarela, discordando do exposto na Tabela 1 acima. Pietrowski *et al.* (2008) observaram a presença desse micro-organismo em uma das dezesseis amostras analisadas em Ponta Grossa, Paraná, correspondendo a 6,25% das amostras fora do padrão legislativo. Castro *et al.* (2012), por sua vez, encontraram 33,33% das amostras analisadas (n=12) positivas para essa bactéria, em queijos muçarela comercializados em Vitória da Conquista, Bahia. Já a pesquisa realizada por Reges *et al.* (2017) em Jataí, Goiás, apontou que 20% das amostras coletadas (n=10) revelaram a presença de *Salmonella* spp.

A presença de *Salmonella* spp. em produtos prontos para o consumo, como o queijo muçarela, representa grandes riscos à saúde pública, uma vez que esses

produtos não necessitam de nenhum tratamento térmico antes de ser consumido (BRASIL, 2010; EFSA, 2013). Assim, a ausência de tal micro-organismo nas amostras coletadas indica processos adequados tanto na produção da muçarela quanto no processamento do produto pelos estabelecimentos avaliados nesta pesquisa.

No que diz respeito às contagens de coliformes totais e de coliformes tolerantes, também não foi observada a presença de nenhum desses grupos bacterianos nas amostras estudadas (cf. TABELA 1). Esses resultados corroboram a pesquisa realizada por Pietrowski *et al.* (2008), segundo a qual todas as dezesseis amostras de queijo muçarela estudadas apresentaram-se dentro dos padrões exigidos pela legislação, quais sejam, de 5.000 a 10.000 coliformes a 30 °C/g e de 1.000 a 5.000 coliformes a 45 °C (BRASIL, 1997). Koelln, Mattana e Hermes (2009) investigaram sete amostras e todas encontraram-se dentro dos limites estabelecidos para esses grupos de micro-organismos.

Ainda em consonância com o resultado deste trabalho, Castro *et al.* (2012) analisaram doze amostras de muçarela e 100% estavam dentro dos parâmetros autorizados. As investigações de Rodrigues *et al.* (2011) e de Quintana e Carneiro (2007) apontaram que todas as amostras analisadas por eles seguiam os padrões exigidos por lei.

Contrariamente aos resultados acima, análises microbiológicas realizadas por Reges *et al.* (2017) mostraram que a presença de coliformes totais das amostras (n=10) de queijo muçarela a granel excediam 20% ao permitido. As investigações de Marinheiro *et al.* (2015) apontaram que cinco das vinte amostras estavam fora dos padrões de exigência para esses micro-organismos. Resultado similar foi obtido por Raimann (2011), segundo o qual uma de suas amostras encontrava-se fora dos padrões.

A presença de coliformes nos alimentos indica que pode ter ocorrido contaminação da matéria-prima e/ou durante o processo de fabricação, em decorrência do manuseio sem higiene ou do armazenamento inadequado, ou, ainda, contaminação pós-processamento (KOELLN; MATTANA; HERMES, 2009). Além disso, a presença desses micro-organismos representa riscos ao consumidor, uma vez que entre eles encontram-se alguns considerados patogênicos ao homem (ALMEIDA FILHO; NADER FILHO, 2002).

Por fim, também não foram isolados estafilococos coagulase positiva em nenhuma das cinco amostras estudadas (cf. TABELA 1), estando todas dentro do limite estabelecido, qual seja, de 100 a 1.000 estafilococos coagulase positiva/g (BRASIL, 1997). Alinhando-se ao resultado deste trabalho, Etges (2011) e Raimann (2011) investigaram queijo tipo muçarela fatiado a granel e embalado a vácuo e 100% das amostras (n=5) encontraram-se dentro do limite aceitável para esses micro-organismos. Castro *et al.* (2012) também revelaram que todas as suas amostras estavam dentro dos padrões microbiológicos e sanitários estabelecidos para queijo muçarela. Adicionalmente, os dados analisados por Quintana e Carneiro (2007) também corroboram outros trabalhos com resultados satisfatórios, uma vez que 100% das amostras analisadas (n=60) se encontravam dentro dos padrões microbiológicos para tais bactérias.

Diferente do disposto na Tabela 1 desta pesquisa, Reges *et al.* (2017) mostraram que 40% das suas amostras continham contaminação acima do limite exigido por lei. Rodrigues *et al.* (2011) obtiveram resultado semelhante, com 36% das amostras de queijo muçarela (n=11) com níveis de contaminação acima do aceitável. Duarte, Barbosa e Barbosa (2011) relataram que 25% das amostras (n=4) apresentaram resultado em desconformidade com a legislação. Marinheiro *et al.* (2015) relataram um total de 20% das amostras (n=20) fora do padrão. Todavia, as amostras coletadas nos estudos destes pesquisadores foram fatiadas e embaladas em plásticos não esterilizados, não podendo afirmar a origem da contaminação (MARINHEIRO *et al.*, 2015). Pietrowski *et al.* (2008) também observaram contagem estafilococos coagulase positiva acima do estabelecido, embora em menor proporção, somente em 18,75% de suas amostras (n=16).

Tais resultados acima do permitido pela Portaria nº 364 para estafilococos coagulase positiva (BRASIL, 1997) é indicativo de condições higiênicas deficientes durante as etapas de produção e/ou dos manipuladores após a produção. Por isso, queijos são produtos potencialmente capazes de viabilizar intoxicações alimentares (RODRIGUES *et al.*, 2011). Como os estafilococos estão presentes na pele daqueles que manuseiam o produto, podem, ao entrar em contato com o produto, contaminá-lo. Assim, todos que manuseiam o produto podem ser disseminadores desse micro-organismo (ANTUNES *et al.*, 2011).

Enfim, os diferentes resultados encontrados, pelos mais variados estudos para os diversos micro-organismos pesquisados, podem ser justificados por falhas nas boas práticas de fabricação (BPF) ou pelo manuseio inadequado nos estabelecimentos, causando a contaminação do queijo. A higiene deficiente dos equipamentos, dos utensílios utilizados e dos próprios funcionários que realizam a manipulação dos alimentos é fator determinante para a qualidade microbiológica insatisfatória do produto final (FAI *et al.*, 2011).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ausência dos micro-organismos estudados (*Salmonella* spp., coliformes totais e termotolerantes e estafilococos coagulase positiva) nas amostras de queijo muçarela comercializadas em Matipó, Minas Gerais, asseguram a qualidade e a inocuidade das marcas investigadas, sendo consideradas, portanto, todas aptas ao consumo humano.

Esse resultado comprova que estão sendo adotadas boas práticas tanto na fabricação quanto no manuseio da muçarela nos estabelecimentos estudados, uma vez que esses são os principais locais de contaminação. Assim, pode-se afirmar que fábricas e estabelecimentos envolvidos nesta investigação observam as normas estabelecidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, órgão responsável pela qualidade de produção.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA FILHO, E. S.; NADER FILHO, A. Ocorrência de coliformes fecais e *Escherichia coli* em queijo Minas Frescal de produção artesanal, comercializado em Poços de Caldas, Minas Gerais. **Revista Higiene Alimentar**, v.16, n.102/103, p.71-73, 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.

BARRETTO, E. S. S. **Doenças transmitidas por alimentos**. Artigo impresso. Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro, RJ, 2001.

BERG, J.; FERREIRA, H.; LIMA, H.; COELHO, T. **Microrganismos indicadores em alimentos de origem animal**. 2014. Disponível em: <<http://www2.ufersa.edu.br/portal/view/uploads/setores/126/Resumo%20MO%20indicadores.%20Heider,%20Hiagos,%20Thiago.pdf>>. Acesso em: 01 de mai. 2018.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos.** Portaria nº 368, de 04 de setembro de 1997. Brasília, 1997. 11p.

BRASIL. Agência nacional de vigilância sanitária - ANVISA. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Resolução - rdc nº 12, de 02 de janeiro de 2001, **diário oficial da união**, Brasília n.º 7,10 de jan.2001.sessão 1, p. 45-53

BRASIL. 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 SAÚDE. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial da *Salmonella* spp.** 2011. Disponível em <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/dezembro/15/manual-diagnostico-salmonella-spp-web.pdf>>. Acesso em: 13 de mar. 2018.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos.** Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010. 158p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil.** 2018. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/janeiro/17/Apresentacao-Surtos-DTA-2018.pdf>>. Acesso em: 15 de mar. 2018.

CASTRO, A. C. S.; PINTO JÚNIOR, W.R.; TAPIA, D. M. T.; CARDOSO, L. G. V. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica de queijos do tipo mussarela comercializados no CEASA de Vitória da Conquista – BA. **Alimentos e Nutrição**, v.23, n.3, p.407-413,2012.

CASTRO, R.D. **Queijo minas artesanal fresco de produtores não cadastrados da mesorregião de campo das vertentes – MG: qualidade microbiológica e físico-química em diferentes épocas do ano.** Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2015. 125p.

CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Foodborne illness.** Disponível em: <<https://www.cdc.gov/foodsafety/diseases/index.html>>. Acesso em: 10 fev. 2017a.

CDC (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION). **Salmonella Infection.** 2017. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/healthypets/diseases/salmonella.html>>. Acesso em: 10 de fev. 2017b.

COELHO, K.O.; MESQUITA, A.J.; MACHADO, P.; OLIVEIRA, A.N.; SOUZA, C.M.; MEYER, P.M. Níveis de células somáticas sobre a proteólise do queijo Mussarela. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.13, n.3, p.682-693, 2012.

Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de leite e derivados**: Brasília: CONAB, 2017. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_05_15_14_13_38_leite_abril_2017.pdf. Acesso em: 05 JUNHO. 2018.

DUARTE, T. S.; BARBOSA, L. P. J. L.; BARBOSA, F. H. F. Avaliação microbiológica para detecção de *Staphylococcus aureus* em quatro marcas de queijo tipo mussarela comercializadas no município de Luz, Minas Gerais. **Ciência Equatorial**, v.1, n.1, p.65-73, 2011.

ETGES, J.C. **Qualidade microbiológica e físico-química de queijo mussarela fatiado à granel e embalado à vácuo**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 2011. 57p.

FAI, A. E. C.; FIGUEIREDO, E. A. T.; VERDIN, S. E. F.; PINHEIRO, N. M. S.; BRAGA, A. R. C.; STAMFORD, T. L. M. *Salmonella* sp. e *Listeriamonocytogenes* em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza (CE, Brasil): fator de risco para a saúde pública. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.16, p.657-662, 2011.

FRANCO, B. D. G. M. **Microbiologia dos Alimentos**, 2 Ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2003.

KOELLN, F. T. S.; MATTANA, A.; HERMES, E. Avaliação microbiológica do queijo tipo mussarela e queijo colonial comercializado na região Oeste do Paraná. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.3, n.2, p.66-74, 2009.

IBGE. **Indicadores IBGE. Estatísticas da produção pecuária**. Junho de 2017. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/2017/abate-leite-couro-ovos_201701caderno.pdf. Acesso em: 10 de mar. 2018.

LEITE JUNIOR, A. F. S.; FLORENTINO, E. R.; OLIVEIRA, E. B. Qualidade microbiológica de queijo qualhado comercializado à temperatura ambiente ou sob refrigeração, em Campina Grande-PB. **Revista Higiene Alimentar**, v.4, p.53-59, 2000.

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.

MARINHEIRO, M. F.; GHIZZI, L. G.; CERESER, N. D.; LIMA, H. G.; TIMM, C. D. Qualidade microbiológica de queijo mussarela em peça e fatiado. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.3, p.1329-1334, 2015.
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 Hospital de Clínicas e da Faculdade de Medicina**, v.30, n.3, p.279-285, 2010.

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

OKURA, M. H. **Avaliação microbiológica de queijos tipo minas frescal comercializados na região do triângulo mineiro**. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal. 2010. 128p.

PIETROWSKI, G. A. M.; RANTHUM, M.; CROZETA, T.; JONGE, V. Avaliação da qualidade microbiológica de queijo tipo mussarela comercializado na cidade de ponta grossa, Paraná. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.2, n.2, p.25-31, 2008.

PINTO, M. S.; FERREIRA, C. L. F.; MARTINS, J. M.; TEODORO, V. A. M.; PIRES, A. C. S.; FONTES, L. B. A.; VARGAS, P. I. R. Segurança alimentar do queijo Minas artesanal do Serro, Minas Gerais, em função da adoção de boas práticas de fabricação. **Revista Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.39, n.4, p.342-347, 2009.

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.

QUINTANA, R. C.; CARNEIRO, L. C. Avaliação das condições higiênico-sanitárias dos queijos minas frescal e mussarela produzidos na cidade de Morrinhos– GO. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 8, n. 3, p. 205-211, 2007.

RAIMANN, V. I. **Avaliação microbiológica de queijos mussarela produzidos na região Sudoeste do Paraná**. 26f. Curitiba. Monografia (Especialização em Gestão em Defesa Agropecuária) - Universidade Federal do Paraná. 2011.

REGES, J.; BORGES, A.; SILVA, J.; SANTOS, S.M.; MAIA, A.A.C.; VIEIRA, W.; JESUS, M.N.; DUARTE, S. Qualidade microbiológica e físico química do queijo mussarela a granel comercializadas em Jataí - GO. **Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales**, v.4, n.1, p.69-77, 2017.

RODRIGUES, J.; FARIAS, H. L. F.; BARBOSA, B.F.F.; GARCIA, T.A.; ISSY, P.N.; ARMONDES, M.P.O. Levantamento das características físico-químicas e microbiológicas de queijo minas frescal e mussarela produzidos no entorno de Goiânia-GO. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v.9, n.1, p.30-34, 2011.

TEIXEIRA, L. V.; FONSECA, L. M. Perfil físico-químico do soro de queijos mozzarella e minas-padrão produzidos em várias regiões do estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, p.243-250, 2008.

ZOCCAL, R. **A força do agro e do leite no Brasil**. Revista Balde Branco, 22 de agosto de 2017. Disponível em: <<http://www.baldebranco.com.br/forca-agro-e-leite-no-brasil/>>. Acesso em: 20 de set. 2017a.

ZOCCAL, R. **Mercado de lácteos no Brasil: produção, importação e exportação.** Revista Balde Branco, 18 de junho de 2017. Disponível em: <<http://www.baldebranco.com.br/mercado-de-lacteos-no-brasil-producao-importacao-e-exportacao/>>. Acesso em: 20 de set. 2017b.

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA SUPEROVULATÓRIA COM E SEM A UTILIZAÇÃO DE SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA EM NOVILHAS DA RAÇA HOLANDESA

Acadêmicos: João Pedro Magela D'ávila e Paulo Júnior Braga Neto

Orientadora: Vívian Rachel de Araújo Mendes

RESUMO

A atividade leiteira brasileira é uma das mais importantes para a economia do país. Esse setor tem contado com os grandes avanços relacionados às biotecnologias da reprodução para aumentar sua produtividade e competitividade no mercado internacional. A superovulação, por sua vez, permite aumentar o número de descendentes com alto valor genético para produção, em um curto intervalo de tempo, já que induz um aumento do número fisiológico de ovulações. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de um protocolo de superovulação e o número de embriões coletados, utilizando ou não Somatotropina recombinante bovina em doadoras da raça Holandesa. Foram avaliados o número de corpos lúteos, de folículos e de embriões obtidos após coleta de quatro novilhas divididas em dois grupos, A e B. O grupo A foi o grupo controle e o grupo B recebeu tratamento de Somatotropina recombinante bovina adicional ao protocolo de superovulação. Contudo, o Somatotropina recombinante bovina não modificou a resposta superovulatória, não havendo assim diferença na quantidade de corpos lúteos avaliados e de embriões coletados em ambos os grupos.

PALAVRAS-CHAVE: bovinos, BST, superovulação.

1. INTRODUÇÃO

Em 2015, o agronegócio brasileiro representou 6,82% do PIB (Produto Interno Bruto) nacional, sendo a pecuária uma das atividades mais importantes desse setor (CARVALHO e ZEN, 2017). O Brasil possui o maior rebanho comercial do mundo, com 215,2 milhões de cabeças de bovinos, e ocupa o quinto lugar no ranking mundial de produção leiteira (JUNG e JÚNIOR, 2016).

O leite é um dos seis produtos de maior importância para a agropecuária brasileira. Além de ser fundamental na suplementação alimentar, ele gera empregos e renda para população. Com o objetivo de aumentar a sua competitividade e inovar-se no mercado mundial, a atividade leiteira brasileira, desde o início dos anos 90, passa por grandes transformações (JUNG e JÚNIOR, 2016).

Graças às evoluções tecnológicas e científicas, muitas técnicas relacionadas à reprodução animal estão surgindo e sendo melhoradas visando otimizar a eficácia reprodutiva, potencializando a produção de animais com valores genéticos superiores,

com o intuito de aproveitar este material genético para conseguir um número maior de descendentes, em um menor intervalo de tempo (GOLVEIA,2011).

A inseminação artificial (IA) foi inicialmente importante para a difusão de material genético, seguido por técnicas como o controle do ciclo estral, superovulação (SOV) e a transferência de embriões (TE) que trouxeram a possibilidade de aumentar a expansão da genética de fêmeas. A essas técnicas somou-se a ultrassonografia, um importante recurso para acompanhar a progressão da atividade ovariana (MANARDES, 2010).

A SOV é uma técnica que possibilita, através da utilização de gonadotrofinas exógenas, aumentar o número fisiológico de ovulações característico de cada espécie. Em bovinos, para que essa técnica seja considerada eficiente, é necessário que haja mais de duas ovulações. Assim sendo, a SOV é um procedimento que induz vários folículos terciários a se desenvolverem até atingir o estágio de pré-ovulação, com subsequente ovulação (FILHO *et al.*, 2013).

Várias linhas de pesquisa têm utilizado a somatotropina bovina recombinante (rBST) em doadoras, com o objetivo de aumentar os índices de recrutamento de folículos antrais (NEVES; RAMOS e MARQUES JÚNIOR, 2005). A BST estimula a síntese e liberação de IGF1 (fator de crescimento semelhante à insulina) que tem considerável ação sobre o crescimento folicular (GUIDA,2014).

A eficiência da superovulação é um fator que influencia diretamente no sucesso dos programas de transferência de embriões (NEVES; RAMOS e MARQUES JÚNIOR, 2005). Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a eficácia de um protocolo de superovulação e o número de embriões coletados, utilizando ou não BST em doadoras da raça Holandesa.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Anatomia da fêmea

O aparelho reprodutivo das fêmeas bovinas é formado por: ovários, ovidutos, útero, cérvix vagina e genitália externa (NICIURA, 2008). Os ovários são identificados aos pares encontrados na cavidade pélvica, pesam de 15 a 20 gramas, tendo em média 4cm de comprimento e 2,5 de largura em formato ovoide. As gônadas femininas

apresentam uma função exócrina pela produção de células germinativas e uma função endócrina, responsável pela secreção de vários hormônios (HAFEZ; HAFEZ,2004).

Segundo Lemos (2015) os ovidutos — além de exercerem grande influência na reprodução, pois fazem uma conexão entre o ovário e o corno uterino — dividem-se em três segmentos: infundíbulo, ampola e istmo. O infundíbulo tem fímbrias que se ligam ao ovário formando um ponto de ancoragem. A ampola é o segmento mais largo da estrutura, no qual é finalizada a maturação e realizada a fecundação dos ovócitos. O istmo atua como um reservatório de esperma e também fornece um ambiente adequado à maturação, fecundação e capacitação espermática. Além de auxiliar no transporte dos gametas e embriões (ELLINGTON, 1991; HUNTER, 2003), pois possuem contrações peristálticas que auxiliam a transportar seus conteúdos para o útero (LIEBICH, 1990).

O útero se divide em duas partes, corpo e cornos, e é classificado como bipartido, pela presença de um septo que separa os dois cornos (septo intercornual), característica da espécie bovina (HAFEZ; JAINUDDEN, 2000). Tem como função abrigar o embrião e o feto posteriormente, auxiliando o seu desenvolvimento fornecendo proteção e nutrição adequadas, além de contribuir no transporte dos espermatozoides e participar na regulação da função do corpo lúteo (RAVEDUTTI, 2010).

A cérvix é caracterizada por possuir estrutura fibrosa e tecido conjuntivo, possui tecido muscular liso, ainda que em pouca quantidade. As cérvix dos ruminantes possuem formato transversal ou esporulado com saliências fixas chamadas de anéis, podendo apresentar de três a cinco anéis em vacas. Durante o estro, ocorre um leve relaxamento que permite a entrada de espermatozoides no útero, permanecendo compactamente fechada fora desta fase (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

A vagina é um órgão copulatório, com formato tubular, comprimento médio de 30 cm com finalidade de deposição de sêmen na sua porção final (BALL e PETERS, 2006).

A genitália externa é composta pela vulva e pelo clitóris, ambos importantes para reprodução. Na porção externa do trato genital feminino, é localizada a vulva em que ocorre o alojamento do pênis no momento da cópula. A vulva auxilia na identificação do estro, pois se apresenta edemaciada, úmida e hiperêmica devido à ação do estradiol. O clitóris tem grande importância, pois ajuda na contração e no transporte do

esperma, o que causa diminuição do tempo para que ocorra a ovulação devido a estímulos que recebe no momento da cópula (NICIURA, 2008).

2.2 Foliculogênese

A foliculogênese compreende-se por um processo de formação, crescimento e maturação folicular, inicialmente com o surgimento do folículo primordial e encerrando no estágio do folículo de *Graafou* pré-ovulatório (SAUMANDE, 1991). Da reserva de folículos primordiais, que se formam durante a vida fetal, grande parte entra em atresia — mesmo antes do nascimento — e os demais continuam seu crescimento durante a vida reprodutiva da fêmea. Quando um folículo sai dessa reserva, ele pode crescer até a ovulação ou pode sofrer degeneração, o que ocorre com maior parte desses folículos (HAFEZ e HAFEZ, 2004). A princípio, o que diferencia os folículos primordiais dos primários são apenas as células da granulosa que contornam o ovócito e que formam uma camada de células achatadas e cuboides na devida ordem, enquanto o ovócito continua no mesmo diâmetro. Ocorrem alguns eventos marcantes nessa transição como o aparecimento da zona pelúcida, sendo uma camada de proteínas que rodeiam ao ovócito dentre o desenvolvimento folicular, ovulação até o início da evolução embrionária (FORTUNE, 2003; VAN DEN HURK; ZHAO, 2004; CAMPOS-JUNIOR *et al* 2008).

Os folículos secundários são caracterizados por ter o ovócito completamente circundado pela zona pelúcida e pelo menos com a presença de duas camadas de células da granulosa de forma cuboide. Pelo contrário dos primordiais, os folículos primários e secundários são denominados folículos em estágio inicial de crescimento (MARIANI, 2009).

Já os folículos terciários são formados por um ovócito circundado pelas células do *cumulus* que liga o ovócito nas células da granulosa, também das células tecais e, ainda, possuem uma cavidade chamada antro que contém líquido folicular. Os folículos pré-ovulatórios possuem todos os componentes existentes nos folículos terciários, em maior diâmetro, com isso o ovócito apresenta-se no estágio final de seu desenvolvimento. De todos os folículos presentes nos ovários, apenas 0,01% desses irá atingir a ovulação e o outros folículos vão ter degeneração ou apoptose, conhecida como atresia, durante o crescimento folicular (MAX *et al.*, 2004).

O folículo pré-ovulatório é o maduro passa por uma descarga de hormônios gonadotróficos por meio de uma grande transformação terminando com a ruptura do folículo (ovulação). Devido à dissociação das células do *cumulus*, o ovócito circundado por uma quantidade de células foliculares é liberado para do líquido folicular. As células da parede folicular secretam substâncias específicas, tais como esteroides e glicoproteínas constituindo o fluido folicular. Em folículos antrais grandes exigem altos níveis de 17β estradiol na fase folicular e progesterona com a aproximação da ovulação (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

A fase do crescimento folicular envolve a proliferação e a diferenciação por indução hormonal, tanto em células da teca quanto em células da granulosa. Alguns processos auxiliam a habilidade crescente dos folículos para produção de estradiol, o que determina qual folículo irá expressar receptores para LH e a produção de estrógeno necessária para a ovulação e luteinização. Alguns distúrbios que ocorrem na habilidade das células da teca e da granulosa a responder os sinais gonadotróficos podem levar a encerrar o crescimento e o início da atresia folicular. (HAFEZ E HAFEZ, 2004).

O Hormônio Liberador de Gonadotrofina (GnRH) é sintetizado e acondicionado no hipotálamo e disponibilizado de forma pulsátil no sistema porta hipotalâmico hipofisário, estimulando a liberação do hormônio folículo estimulante (FSH) e do hormônio luteinizante (LH) pela hipófise anterior (adenohipófise) (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

O hormônio FSH disponibilizado pela adenohipófise, é o encarregado pelo recrutamento e evolução folicular (FRANDSON; WILKE; FAILS, 2003 e RAMOS, 2006). Também liberado pela adenohipófise, o LH que atua estimulando a ovulação e a luteinização dos folículos ovarianos (formação do corpo lúteo) na fêmea (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

A evolução de ferramentas parácrinas (célula-célula), que sensibilizam os folículos para o FSH e o LH, é essencial na necessidade de um folículo dominante em cada ciclo. O FSH atua nas células da granulosa fazendo estímulo para o crescimento e diferenciação, o folículo que mais desenvolveu no início do ciclo será o primeiro a produzir estrógeno e apresentar o LHR (receptores para LH) nas células da granulosa (HILLIER, 2001).

Nos bovinos, os folículos maiores têm uma demanda por FSH. A partir de certo diâmetro, o folículo dominante continua seu desenvolvimento e muda sua necessidade de gonadotrofina primária de FSH para LH. No entanto, isso depende de concentrações baixas de FSH para progredir seu crescimento, porém é desfavorável para folículos pequenos. Logo depois da mudança na dependência gonadotrófica, o LH passa ter papel importante na fase de crescimento e maturação folicular (WEBB *et al.*, 1999; GIMENES *et al.*, 2008).

No decorrer da onda de crescimento folicular, três fases estão presentes. Na primeira fase, o recrutamento responsável pelo início do crescimento de vários folículos é estimulado pelo hormônio (FSH). A segunda fase identifica-se pela seleção seguida pela dominância, em que um folículo desenvolve mais do que os outros se tornando dominante. A presença de um folículo dominante inibe o crescimento dos outros folículos. O folículo dominante produz alta concentração de estrógeno. E, por fim, ocorre a ovulação devido ao pico de LH liberado pela adenohipófise. Para ocorrer a ovulação, é preciso que haja um pulso alto de LH. A concentração circulante de progesterona deve ser baixa e os folículos dominantes devem apresentar altos níveis de estrógeno (GINTHER; KNOPF; KASTELIC, 1989; AERTS e BOLS, 2010). Se houver a presença de um corpo lúteo não ocorrerá o pico de LH, pois níveis altos de progesterona na circulação sanguínea inibem o GnRH e suas gonadotrofinas (ANTONIOLLI, 2002) e, conseqüentemente, não haverá ovulação. Dessa forma, os folículos que não ovularem, incluindo os dominantes, entrarão em atresia, dando início a uma nova onda de crescimento folicular. Normalmente, a cada ciclo estral da vaca, apenas um folículo alcança a ovulação, liberando um ovócito (GINTHER *et al.*, 1989; AERTS e BOLS, 2010).

2.3 Superovulação

O tratamento superovulatório, usado em bovinos, tem como finalidade a obtenção de um maior número de embriões fertilizados e transferidos com alta expectativa de ocorrer a prenhes (MAPLETOFT; STEWARD; ADAMS., 2002).

Denomina-se superovulação, o aumento do número fisiológico de ovulações próprias de certa espécie, provocada mediante a administração de gonadotrofinas. No bovino, considera-se que houve resposta ao tratamento quando se produzem mais de duas ovulações. A superovulação deve complementar-se com um regime ótimo de

inseminação artificial, utilizando sêmen de ótima qualidade (CABODEVILA E TORQUATI, 2001).

A superovulação (SOV) é uma técnica que consiste em usar uma fêmea doadora de embriões, os quais serão transferidos para uma fêmea receptora com objetivo de realizar a parte materna. É uma biotécnica mundialmente utilizada sendo um ótimo instrumento para o melhoramento genético dos rebanhos, adiantando e confirmando com boa exatidão o processo de seleção animal (BARUSELLI, 2006).

Define-se como doadoras fêmeas que contribuirão para o ganho genético de um rebanho. Devem ser vacas com características superiores à encontrada na média do rebanho, sadias, que já atingiram a puberdade e livres de algum tipo de doença reprodutiva, pois não respondem bem ao processo de superovulação. A SOV permite aumentar o número de ovulações por meio de da administração exógena de gonadotrofinas. É um método de estimular vários folículos terciários a se desenvolverem até o estágio pré-ovulatório e, posteriormente, a ovulação (RASI,2005).

A fêmea bovina é caracterizada como mono-ovulatória, devido à liberação de apenas um ovócito por folículo por ciclo estral. O propósito da técnica de superovulação é estimular a ovulação de vários folículos, e a liberação de vários ovócitos, permitindo a fertilização e o crescimento dessas estruturas até a fase de blastocisto. Ao se coletar vários embriões de uma doadora superovulada, obtém-se maior aproveitamento genético em comparação à inseminação artificial (IA), em que é formado apenas um embrião. Chegou-se a esse resultado é devido à aplicação de hormônios que impedem o fenômeno da dominância folicular observados em vacas (BÓ *et al.*, 2006).

Os protocolos de superovulação têm a finalidade de propiciar o crescimento e ovulação de todos os folículos recrutados. Portanto, a onda folicular é sincronizada, e são administradas nos animais antes que ocorra a dominância alta doses de FSH. Sendo assim, não haverá efeito inibitório dos folículos dominantes sobre os demais folículos, uma vez que o hormônio folículo estimulante, em altas concentrações, faz o crescimento simultâneo de vários folículos com características fisiológicas parecidas daqueles apontados para ovularem. A diferença folicular não acontece, e os folículos terciários que iriam ser predestinados à atresia se tornam folículos ovulatórios (CARVALHO *et al.*, 2008).

2.4 Somatotropina recombinante bovina (BST)

A somatotropina — também conhecida como hormônio do crescimento da hipófise anterior — é um polipeptídeo, adquirido artificialmente pela abordagem do DNA recombinante, originando a somatotropina recombinante bovina (LEHNINGER, 1991). Além do fato de apresentar grande efeito no metabolismo de carboidratos, sua capacidade de propiciar o crescimento do esqueleto e o aumento do peso corporal em animais jovens promoveu seu primeiro reconhecimento.

Sendo assim o BST foi um dos primeiros fatores do crescimento produzidos em escala comercial como proteína recombinante (BAUMAN, 1999). No fígado, se encontra a maior quantidade receptores rBST, produzindo o fator do crescimento semelhante à insulina (IGF-I). No entanto, a maior parte dos outros tecidos também responde à BST. No sistema reprodutor das fêmeas, esse hormônio atua sobre os receptores do útero e ovário induzindo-os a produção de IGF-I(LUCY, 2000).

O uso da somatotropina bovina é mais recorrente em vacas leiteiras por aumentar significativamente a produção de leite. Essa prática gerou muita discussão pelo fato de ser um hormônio que, possivelmente, seria liberado no leite destinado ao consumo humano. Foi a partir de estudos realizados em vacas leiteiras que se chegou à conclusão que a BST poderia influenciar diretamente na reprodução (BRAGAGLIA, 2009).

Em contrapartida, os efeitos benéficos na vida reprodutiva são observados com a utilização de BST em protocolos de IATF (SANTOS *et al.*, 2004) bem como, a utilização em receptoras de embrião com o aumento significativo na taxa de gestação (MOREIRA *et al.*, 2002).

Estudos realizados por Tanner e Hauser (1989) determinaram que a BST atua no ovário, aumentando o número de folículos recrutados entre 2 e 5 mm de diâmetro, estimulando assim o desenvolvimento folicular (WEBB; GONG; BRAMLY,1994) e controlando a função do corpo lúteo. Tais resultados poderiam influenciar muito em biotécnicas que necessitassem de obtenção de maiores números de ovócitos, tomando como exemplo a superovulação (SOV), a aspiração de folículos *in vivo* — guiada por ultrassom (OPU) — e a transferência de embriões (TE).

3. METODOLOGIA

Este estudo foi realizado na fazenda Tabuões, no município de Queluzito, em Minas Gerais, no período de outubro a dezembro de 2017. Foram utilizadas como

doadoras quatro novilhas da raça Holandesa de grande potencial genético, com idade variando entre 13 a 15 meses, livres de doenças reprodutivas e não gestantes. Os animais foram mantidos em um sistema semiextensivo— com as forragens Mombaça e Tifton— e recebendo, uma vez ao dia, trato com silagem de milho, fubá, soja e mineral.

Essas novilhas foram divididas em dois grupos: grupo A (doadora 1 e 2), e grupo B (doadora 3 e 4). O grupo A foi o grupo controle e o grupo B foi o escolhido para receber a aplicação de BST (Lactotropin) adicional ao protocolo.

No D0 todos animais receberam um implante intravaginal contendo P₄ progesterona (Primer®), e 2ml de benzoato de estradiol (Estrogin®), intramuscular. Para a superovulação, a partir de D5, administrou-se FSH – Hormônio Folículo Estimulante (Folltropin-v) intramuscular, em duas injeções diárias: uma pela manhã e outra no período da tarde; em doses decrescentes durante quatro dias, totalizando oito aplicações conforme a Tabela 1.

Tabela 1 – Protocolo de Superovulação com FSH (Folltropin-v)

Dia do protocolo	Manhã (07:00 horas)	Tarde (19:00 horas)
05	2 ml (20% da dose total)	2 ml (20% da dose total)
06	1,5 ml (15% da dose total)	1,5 ml (15% da dose total)
07	1,0 ml (10% da dose total)	1,0 ml (10% da dose total)
08	0,5 ml (5% da dose total)	0,5 ml (5% da dose total)

Também no D5, apenas as novilhas do grupo B receberam a aplicação de 500mg de BST (Lactotropin), pela via subcutânea.

No D7 as vacas receberam 2ml de Prostaglandina (Lutalyse), intramuscular. No D8 foi retirado o implante transvaginal de P₄(Primer®) e no D10 foi aplicado 2,5 ml de Hormônio liberador de Gonadotrofinas-GnRH (Fertagyl), intramuscular e todas foram inseminadas, artificialmente, às 11 horas e às 23 horas, com sêmen sexado, proveniente do mesmo touro, da raça holandesa e da mesma partida.

A resposta superovulatória foi avaliada por meio de ultrassonografia um dia antes de ser realizada a coleta dos embriões, mensurando a quantidade de corpos lúteos (CL) e folículos (FOL) nos ovários direito (OD) e esquerdo (OE).

Os embriões foram coletados sete dias após a inseminação artificial, utilizando-se o método transcervical.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A resposta superovulatória avaliada por meio da ultrassonografia determinou na doadora 1 a quantidade de nove CL e um FOL no OD, um CL e um FOL no OE. Na doadora 2, três CL e um FOL no OD, doze CL e dois FOL no OE. Já as doadoras 3 e 4 que receberam somatotropina recombinante bovina (bst) adicional ao protocolo. O resultado encontrado foi, respectivamente, de dez CL e quatro FOL no OD, quatro CL e 2 FOL no OE, e dois CL e cinco FOL no OD, quatro CL e 10 FOL no OE, como demonstrado na tabela a seguir (Tabela 2). Na tabela, ainda se pode observar o valor total de corpo lúteo e folículos por doadora.

Tabela 2 – Número de corpos lúteos (CL) e folículos (FOL) por ovário, avaliados em doadoras da raça Holandesa submetidas a protocolo de superovulação.

Grupo	Doadora	OD		OE		Total CL	Total FOL
		CL	FOL	CL	FOL		
A	1	9	1	1	1	10	2
	2	3	1	12	2	15	3
	Média					12,5	2,5
B	3	10	4	4	2	14	6
	4	2	5	4	10	6	15
	Média					10	10,5
	Média total					11,25	6,5

O total de embriões coletados nas doadoras superovuladas 1 e 2 foi de nove embriões cada. A doadora 3 produziu seis embriões e a doadora 4, onze embriões (TABELA 3).

Tabela3 – Total de embriões coletados por doadora da raça Holandesa submetida a protocolo de superovulação.

Nº de embriões coletados	Grupo A		Grupo B		Total	Média
	Doadora	Doadora	Doadora	Doadora		
	1	2	3	4		
	9	9	6	11	35	8,75

Como os resultados mostrados na tabela 2, o BST não influenciou positivamente o número de corpos lúteos encontrados nos ovários, pois no grupo A foi observado um maior número em comparação ao grupo B, no qual foi utilizado BST durante o protocolo de superovulação. Em contrapartida outros trabalhos, como o de Pavlok *et al.*(1996), afirmam que a BST potencializa a secreção de IGF-1, o que de forma direta e indireta, acelera o crescimento do corpo lúteo. Em relação à avaliação dos folículos, foi constatado, no presente estudo, que o grupo que recebeu BST apresentou uma maior quantidade de folículos presentes comparado ao grupo sem a utilização do hormônio. Assim como Herrier *et al.* (1994) — que observaram que, no dia da inseminação artificial (IA), o dobro de folículos foram contados nos animais tratados com BST — Bols *et al.* (1998) e Trippet *et al.* (2000) demonstraram eficiência com a utilização do BST promovendo um aumento no número de folículos. Stoebel e Moberg (1982) sugerem que essa constatação pode ser explicada pelo estresse repetido em fêmeas doadoras de embriões que pode atrasar o pico pré-ovulatório de LH e, conseqüentemente, diminuir o número de corpos lúteos no momento da coleta, o que modificaria a resposta superovulatória (TRIBULO *et al.*, 2011).

Também no intuito de induzir a formação de um maior número CL, Fonseca (2000) não alcançou sucesso ao utilizar o BST no 5º. dia do protocolo de superovulação em novilhas. Também Fonseca *et al.* (2001), ao utilizarem novilhas mestiças Holandês-zebu que receberam 500mg de BST no quinto dia do protocolo, não observaram diferença na quantidade de CL encontrados. Isso se evidencia por Thatcher *et al.* (2006) que afirmam que a somatotropina pode incrementar o metabolismo, e o fluxo sanguíneo hepático e, com isso, promover um maior metabolização hormonal, ou seja, uma eliminação da substância pelos mecanismos de depuração renal do organismo.

Em vacas da raça Nelore, Buratini JR. *et al.* (2000) também pesquisaram a administração de BST, durante a superovulação em novilhas, verificando um aumento no número de folículos recrutados, o que já havia sido conseguido em *Bostaurus*.

Pfeifer, Corrêa e Pineschi (2005) testaram a influência do BST em vacas doadoras superovuladas no momento da inseminação, com o intuito de observar o desenvolvimento embrionário e a viabilidade destes embriões. Foram superovuladas 12 vacas, das quais 6 receberam uma injeção de 500 mg BST (Boostin), no momento da IA e outras 6 não receberam. Os autores não observaram diferença no total de

embriões coletados entre o grupo BST e o grupo controle o que se assemelha com o presente estudo. Esses autores, ainda, avaliaram que no grupo tratado com BST houve aumento da percentagem de embriões classificados como transferíveis, assim como o número de blastocistos.

Em relação ao número de embriões, em estudos realizados com vacas da raça Gir por Fonseca *et al.* (2001) e Prado e Toniollo (2006), a produção média de embriões por doadora foi de 2,29 e 2,92, respectivamente. De acordo com Senger (2003), uma típica resposta superovulatória em vacas seria de 5 a 7 embriões viáveis. Entretanto, 30% das vacas respondem produzindo apenas um ou nenhum embrião viável, ao passo que cerca de 2% produzem muitos embriões, 30 ou mais. No presente estudo, pode-se evidenciar uma boa resposta superovulatória em que a média de embriões por doadora foi de 8,75, superior à média relatada na literatura. No entanto, média superior foi observada por Borges *et al.* (2001) que obtiveram 11,5 embriões transferidos (ETs) de novilhas cruzadas Holandês X Zebu superovuladas com FSH, número um pouco superior do verificado no presente experimento.

Fonseca *et al.* (2001) estudando vacas Gir, obtiveram média de 2,29 ETs por doadora, e Prado *et al.* (2007) também trabalhando com fêmeas Gir Leiteiro e verificando a resposta superovulatória ao FSH obtiveram média 5,2 ETs por doadora, número inferior comparado ao adquirido no presente estudo. Dayan (2001) afirma que o número médio de embriões coletados entre as doadoras de raças taurinas é superior ao relatado em raças zebuínas, destacando que a produção de embriões é ainda superior na raça Holandesa.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se concluir que o tratamento de novilhas da raça Holandesa com dose única de 500mg de BST, não modificou a resposta superovulatória, não havendo impacto na quantidade de embriões coletados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AERTS, J.M.; BOLS,P,E,J. Ovarian follicular dynamics. A review with emphasis on the bovine species. Part 2: antral development, exogenous influence and future prospects. **Reproduction Of Domestic Animals**, v. 45, p. 180-187, 2010.

ANTONIOLLI, C, B. **Desenvolvimento folicular, ondas foliculares e manipulação**. 2002,pag.15. Monografia/Pós-Graduação. Seminário de endocrinologia da reprodução. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. UFRGS.

BALL, P.J.H.; PETERS, A.R. **Reprodução em bovinos**. 3.ed. São Paulo: Editora Roca, v.1. p. 240, .2006.

BARUSELLI, P. **Reprodução em Bovinos**. In: PTASZYNSKA, Monika. Compêndio de Reprodução Animal .Londrina. p. 13-110, 2006.

BAUMAN, D.E. Bovine somatotropin and lactation from basic science to commercial application. **Domestic Animal Endocrinology**, v.17, p.101-116, 1999.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; CHESTA, P. M.; MARTINS, C. M. Protocolos de transferência de embriões em tempo fixo para receptoras de embriões bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae** ,v. 34 , p. 17-23, 2006.

BOLS, P.E.J.; YSEBAET, M.T.; LEIN, A. Effect of long-term treatment with bovine somatotropin on follicular dynamics and subsequent oocyte and blastocyst yield in OPU-IVF program. **Theriogenology**, v.49, p.983-995, 1998

BORGES, Á.M., TORRES, C.A.A., RUAS, J.R.M., ROCHA JÚNIOR, V.R., CARVALHO, G.R. Respostas superovulatória de novilhas mestiças Holandês-Zebu tratadas com somatotrofina recombinante bovina (rbST). **Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa**, v. 30, p. 1439-1444, 2001.

BRAGAGLIA, GABRIELLE NELLIS. **O uso da somatotropina bovina recombinante (rbST) em reprodução bovina**. Botucatu, 2009. 20p. Trabalho de conclusão de curso de graduação (Medicina Veterinária, Área de Concentração: Reprodução Grandes Animais) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

BURATINI J., PRICE C., VISINTIN J; BO G. Effect of dominant follicle aspiration and treatment with recombinant bovine somatotropin (bST) on ovarian follicular development in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Theriogenology**, v.54, p.421-431, 2000.

CABODEVILA, J. e TORQUATRI, S. Superovulação de Fêmeas bovinas. In: PALMA, G.A **Biotecnologia de la reproducción** 1ª edição INTA, Argentina,. p. 79-108, 2001.

CAMPOS-JÚNIOR, P. H. A.; PAIM, C. A. S.; BATISTA, R. I. P.; MIRANDA, F. M.; SOUZA, F. A. M.; GHETTI, A. M.; VIANA, J. H. M. **Caracterização morfométrica da população folicular ovariana de camundongos outbreed**. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS, XVII, 2008.

CARVALHO, N.A.T; REIS, E.L., NICHII, M., SOUZA A.H; BARUSELLI, P.S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v.69, p.167-175, 2008.

CARVALHO, T.B.de; ZEN, S.de. A cadeia de Pecuária de Corte no Brasil: evolução e tendências. **Revista iPecege**, v.3, n.1, p.85-99, 2017.

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"

ELLINGTON, J.E. The bovine oviduct and its role in reproduction: a review of the literature. **Cornell Veterinarian**, v.81, p.313-328, 1991.

FILHO, J. M. P; OLIVEIRA, A. F; JIMENEZ, R. C; TORRES, A.A.C. **Produção de embriões bovinos IN VIVO e IN VITRO**. 84ª semana do fazendeiro. 2013.

FONSECA, L.M. **Aspiração folicular em novilhas da raça Guzerá submetidas a tratamento hormonal com rBST associada ao FSH e dinâmica folicular durante o ciclo estral**. 2000. 109p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ.

FONSECA, J.F.; SILVA FILHO, J.M.; PINTO NETO, A.; PALHARES, M.S. Superovulated zebu cows embryonic developmental stages. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol. 53, nº 6, p. 671-676, 2001. ISSN 0102-0935.

FORTUNE, J. E.; The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.135-163, 2003.

FRANDSON, R.D.; WILKE, W.L.; FAILS, A.D. **Anatomia e Fisiologia dos Animais de Fazenda**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.160, 2003.

GIMENES, L.U., SÁ FILHO, M.F., CARVALHO, N.A.T., TORRES JUNIOR, J.R.S., SOUZA, A.H., MADUREIRA, E.H., TRINCA, L.A., SARTORELLI, E.S., BARROS, C.M., CARVALHO, J.B.P., MAPLETOFT, R.J., BARUSELLI, P.S. Perfil de FSH e LH na divergência folicular em novilhas Nelore (*Bos indicus*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 45, n. 1, p. 11-16, 2008.

GINTHER, O.J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J.P. Temporal association among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, Grã-Bretanha, v.87, n.1, p.223-230, 1989.

GOLVEIA, F. F. **A produção in vitro de embriões bovinos**. Brasília, 2011. 35p. Monografia/Graduação. Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

GUIDA, T. G., **Efeito de dose reduzida de somatotropina bovina recombinante associada a protocolos de superovulação na fertilidade de**

embriões transferidos para receptoras em lactação. Botucatu – SP, 61p, 2014. Dissertação/Mestrado. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia campus de Botucatu.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Foliculogênese, maturação ovocitária e ovulação. In: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7ª ed. São Paulo: Manole, p. 69 - 81, 2004.

HAFEZ, E.S.E.; JAINUDEEN, M.R. Reproductive Cycles. In: HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reproduction in Farm Animals**. 7.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. p.55-66, 2000.

HERRIER A, EINSPANIER R, SCHAMS D, NIEMANN H. Effects of recombinant bovine somatotropin follicular IGF-I contents and the ovarian response following superovulatory treatment in dairy cows: a preliminary study. **Theriogenology**, v.41, p.601-611, 1994.

HILLIER S. G. Gonadotropic control of ovarian follicular growth and development. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 179, p. 39–46, 2001.

HUNTER, R.H. Reflections upon sperm-endosalpingeal and sperm– zona pellucida interactions in vivo and in vitro. **Reproduction in Domestic Animals**, v.38, p.147-154, 2003.

JUNG, C.F.; JÚNIOR, A.A.M. Produção leiteira no Brasil e características da bovinocultura leiteira no Rio Grande do Sul. **Ágora**, v.19, n.01, p.34-47, 2016.

LEHNINGER, A. L., **Princípios de bioquímica**. Sarvier. 7ª edição, São Paulo, 1991.

LEMOS; C,G,G. **Impacto de alterações de manejo reprodutivo sobre os indicadores de explorações leiteiras do entre dourado e minho**. Mestrado/Zootecnia. Ponte de Lima, 2015. Escola Superior Agrária de Ponte de Lima-Instituto Politécnico de Viana do Castelo.

LIEBICH, H.G. **Funktionelle Histologie**. Schattauer Verlag, Stuttgart. 1990.

LUCY, M.C. Regulation of follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1635-1647, 2000.

MANARDES, G. do, A. **Aspiração folicular, produção *in vitro* e manipulação de embriões bovinos**. Curitiba, 2010. 93 p. Monografia/Graduação. Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Tuiuti do Paraná.

MAPLETOFT, R.J.; STEWARD, K.B.; ADAMS, G.P. Recent advances in the superovulation in cattle. **Reproduction Nutrition Development**, v.42, p.601–11, 2002.

MARIANI, A.C.B. **Influência do dia estro em relação à FIV e a morfologia do corpo lúteo no dia da ovulação com os índices de prenhes em receptoras de embriões bovinos produzidos *in vitro***. Araguaína, 2009. 56f. Mestrado-Ciência Animal Tropical. Universidade Federal do Tocantins.

MAX, M. C.; ANDRADE, E. R.; BASSO, A. C.; FIGUEIREDO, J. R.; SENEDA, M. M. Principais aspectos da manipulação de oócitos inclusos em folículos ovarianos pré-antrais. **Revista Educação Continuada**, v. 7, n. 1-3, p. 66-72, 2004.

MOREIRA, F.; PAULA-LOPES, F. F.; HANSEN, P. J.; BADINGA, L.; THATCHER, W. W. Bovine somatotropin increases embryonic development in superovulated cows and improves post-transfer pregnancy rates when given to lactating recipient cows. **Theriogenology**, v.57, p.1371-1387, 2002.

NEVES, E. F.; RAMOS, A. F.; MARQUES JÚNIOR, A. P. Pré-tratamento com somatotropina (rbST) na superovulação de doadoras da raça holandesa. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.2, p.205-209, 2005.

NICIURA, S. C. M. Anatomia e fisiologia da reprodução de fêmeas bovinas (2008). Embrapa, Série Tecnológica APTA. **Boletim técnico**, 51, p. 15-27, 2008. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/48249>. Acesso em: 26 nov. 2017.

PAVLOK, A.; KOUTECKÁ, L.; KREJCI, P.; SLAVIC, T.; CERMAN, J.; SLABA, J.; DORN, D. Effect of recombinant bovine somatotropin on follicular growth and quality of oocytes in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 41, p. 183-192, 1996.

PFEIFER, L. F. M.; CORRÊA, M. N. ; PINESCHI, L. E. **Alternativas hormonais para programas de transferência de embriões em bovinos**. Faculdade de Veterinária, 2005. Disponível em: www.ufpel.tche.br/hcv >. Acesso em: 29 maio. 2018.

PRADO, F. R. A.; TONIOLLO, G. H.; OLIVEIRA, J. A. Superestimulação ovariana em vacas da raça Gir Leiteiro com o uso de diferentes concentrações de FSH. **ARS Veterinariae**, v. 23, p.172-177, 2007.

PRADO, F. R. A, TONIOLLO, G. H. Superovulação em vacas da raça gir com diferentes concentrações de fsh/lh em oito subdoses Net. São Paulo, 2006. **Radar técnico em reprodução**. Disponível em: Acesso em: 15 maio . 2018.

RASI, F.P.A. **Técnicas de superovulação, colheita e transferência de embriões em bovinos**. Botucatu, 2005. 27p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista.

RAVEDUTTI; C, G. **Aspiração folicular e transferência de embrião produzido in vitro de bovinos**. Curitiba, 2010. 80p. Monografia/Graduação. Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde. UNIVERSIDADE TUIUTI DO PARANÁ.

SANTOS, J. E. P.; THATCHER, W.W.; CHEBEL, R. C.; CERRI, R. L. A.; GALVÃO, K. N. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 513-535, 2004.

SENGER, P. L. Pathways to pregnancy and parturition. 2 ed. **Pullman- Washington: Current Conception** , p. 308, 2003.

SOTOEBEL, D.P. and MOBERG, G.P. Repeated acute stress during the follicular phase and luteinizing hormone surge of dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v.65, p.92-96, 1982.

SUMANDE, J.L. A folliculogénese chez les ruminants. **Recueil de Médecine Vétérinaire**.v.167, p. 205-218, 1991.

TANNER, J. W.; HAUSER, S. D. Molecular evidence for the presence of the somatotropin receptor in the bovine ovary. **Journal of Dairy Science**, v. 67, p. 413, 1989.

THATCHER, W.W.; MOREIRA, F.; SANTOS, J.E.P.; MATTOS, R.C.; LOPES, F.L.; PANCARCI, S.M.; RISCO, C.A. Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. **Theriogenology**, v.65, p. 30-44, 2006.

TRÍBULO A, ROGAN D, TRIBULO H, TRIBULO R, ALASINO RV, BELTRAMO D, BIANCO I, MAPLETOFT RJ, BÓ GA.. Superstimulation of ovarian follicular development in beef cattle with a single intramuscular injection of Folltropin-V. *Animal Reproduction Science*, v.129, p. 7-13, 2011.

TRIPPET, M.W.; JU, J.C.; HOAGLAND, T.A. Influence of somatotropin and nutrition on bovine oocyte retrieval and in vitro development. **Theriogenology**, v.53, p.1581-1590, 2000.

VAN DEN HURK, R., ZHAO, J.; Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. **Theriogenology**, v.63, p.1717-1751, 2004.

WEBB, R.; GONG, J.G.; BRAMLEY, T.A. Role of growth hormone and intrafollicular peptides in follicle development in cattle. **Theriogenology**, New York, v.41, p.25-30, 1994.

AVALIAÇÃO DO ESTÁGIO DE DESENVOLVIMENTO E GRAU QUALIDADE DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS *IN VIVO*

Acadêmicos: Pedro Henrique de Paiva Paula e Wigor Ferreira Fontes

Orientadora: Vívian Rachel de Araújo Mendes

RESUMO

A produção embrionária através da TE (transferência de embriões) vem sendo uma biotécnica muito utilizada em todo o mundo. A TE, significa transferir embriões de uma fêmea doadora para fêmeas dita como receptoras, para que completem o período de gestação. O objetivo desse estudo foi realizar uma avaliação criteriosa do estágio de desenvolvimento e o grau de qualidade de embriões bovinos produzidos *in vivo* em novilhas da raça Holandesa. O experimento foi realizado na Fazenda Tabuões, em Queluzito - MG, de outubro a dezembro de 2017, utilizando como doadoras, 4 novilhas da raça Holandesa de alto valor genético. As doadoras foram submetidas ao protocolo de superovulação, e posteriormente lavagem uterina para a recuperação embrionária. Os embriões foram avaliados e classificados quanto ao estágio de desenvolvimento e grau de qualidade morfológica. Foram recuperadas 37 estruturas, sendo 16 não viáveis, e 21 embriões viáveis, dos quais 17 foram envasados e transferidos para as receptoras. Conclui-se que o protocolo de superovulação empregado neste estudo mostrou eficácia na taxa de recuperação embrionária e na qualidade dos embriões produzidos *in vivo* por doadora. Contudo, a taxa de concepção não foi satisfatória, estando relacionada a fatores que não foram avaliados neste estudo.

PALAVRAS-CHAVE: Doadoras, embriões, superovulação

1 - INTRODUÇÃO

O rebanho brasileiro de bovinos atingiu a marca de 218,23 milhões de cabeças em 2016 (IBGE, 2016). Esse crescimento vem sendo obtido com ajuda das diversas biotécnicas relacionadas à reprodução (PEREIRA, 2012). Uma delas é a transferência de embriões (TE) que foi realizada pela primeira vez com sucesso no início da década de 50 nos Estados Unidos, na Universidade de Cornell (KANAGAWA *et al.*, 1995), mas teve o seu comércio intensificado no final dos anos 70 (BREVE, 1988).

A produção embrionária através da TE vem sendo uma biotécnica muito utilizada em todo o mundo, passando da marca dos 500.000 embriões transferidos anualmente. Porém nessa biotécnica ainda se encontram diversas limitações devido à resposta ao tratamento superovulatório. (BÓ *et al.*, 2002).

Com os avanços no conhecimento da fisiologia ovariana, possibilitou obter um maior número de embriões viáveis devido ao desenvolvimento de protocolos hormonais que permitem a ocorrência de múltiplas ovulações acompanhadas da TE (RUMPF *et al.*, 2000), com o objetivo de aproveitar a capacidade reprodutiva de fêmea

zootecnicamente superior, até mesmo em um pequeno grupo de animais. (SUTMOLLER, 1996).

A TE nada mais é, que transferir embriões de uma fêmea doadora para fêmeas dita como receptoras, com o objetivo de completarem o período de gestação (BARUSELLI *et al.*, 2006). Sua importância básica para a produção animal consiste na possibilidade de uma fêmea de alto valor genético produzir um número de descendentes superior ao que seria possível fisiologicamente durante sua vida reprodutiva. (TANEJA *et al.*, 2000).

O objetivo deste estudo foi realizar uma avaliação criteriosa do estágio de desenvolvimento e o grau de qualidade de embriões bovinos produzidos *in vivo* em novilhas da raça Holandesa.

2 - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1- PRODUÇÃO *IN VIVO* DE EMBRIÕES BOVINO

A produção de embriões bovinos *in vivo*, é uma técnica aplicada mundialmente, que visa à multiplicação rápida dos indivíduos considerados os de maior valor genético dentro de um rebanho (GONÇALVES *et al.*, 2007).

2.1.1- FORMAÇÃO E DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO EM BOVINOS

O termo “embrião” se refere a um organismo em sua primeira fase de desenvolvimento que ainda não permite a diferenciação anatomicamente da sua espécie. (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

A embriogênese nos mamíferos inicia-se com a fecundação do ovócito e desenvolvimento do zigoto. Singamia é o processo onde ocorre a fusão entre o pronúcleo masculino e feminino, após a fertilização do ovócito pelo espermatozoide. (WATSON e BARCROFT, 2001).

As clivagens são ciclos de divisões mitóticas que o zigoto sofre continuamente por um período de tempo, variável entre as espécies. As células dos embriões são nomeadas blastômeros, apresentando 2, 4 e 8 células totipotentes que vão dar origem a indivíduos e seus componentes fetais. (SENGER, 2003).

Morulação é o estágio onde o embrião se encontra com 16 a 32 células, e nas células externas desenvolvem-se as junções “*tight*” que as proporciona intensa comunicação. Já nas células internas se tem o aparecimento de junções tipo GAP, que

permitem uma união e comunicação das células. Nesta fase é de difícil à distinção e contagem dos blastômeros, por sua compactação. Dessa forma, o sódio é direcionado para espaços intercelulares e por mecanismo de osmose a água se acumula, originando a blastocele. (STANTON *et al.*, 2003).

Blastulação é o estágio onde se tem a formação do primeiro grupo de células que irão dar origem ao novo indivíduo, nomeada massa celular interna. Esta caracterização vai acontecer quando houver o acúmulo de líquido na cavidade embrionária. Esse grupo celular vai permanecer protegido do líquido, não havendo a exposição ao mesmo, e se mantendo pluripotente. As células externas do embrião vão dar origem a um grupo de células que originará a placenta, essas células são nomeadas células trofoblásticas (OLIVEIRA *et al.*, 2014). Dessa forma irá ocorrer à expansão dos blastocistos, e em seguida com a massa celular interna vai ocorrer segregação em células que formará o endoderma primitivo, que dará origem ao saco vitelino, e em células epiblasto pluripotentes que vão originar o indivíduo. Da fase blastocisto em diante as células trofoblásticas não irão mais contribuir para formação da massa celular interna. (SENGER, 2003).

Eclosão é a fase após a formação do blastocisto, é de extrema importância sua ocorrência para que ocorra a sua implantação. Para ocorrer eclosão, o blastocisto tem que multiplicar suas células e acumular líquido, assim terá uma pressão suficiente sobre a zona pelúcida, facilitando ainda mais o rompimento da mesma. As células trofoblásticas vão produzir enzimas proteolíticas que promoverão o enfraquecimento da zona pelúcida (WATSON *et al.*, 2004). Nos estágios finais do rompimento são observados pulsos de pressão intercalados de contração e relaxamento. Dessa forma, vai ocorrer o contato direto entre as células do embrião e as do útero da fêmea. (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

2.1.2- CLASSIFICAÇÃO EMBRIONÁRIA

Segundo a Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS) foram padronizadas as classificações morfológicas dos embriões produzidos *in vivo* de acordo com o estágio de desenvolvimento e o grau de qualidade (VIANA, 2009).

Os embriões são classificados de acordo com o estágio de desenvolvimento como Mórula (Mo): apresenta forma de uma massa de células que ocupa grande parte do espaço perivitelino, com os blastômeros nitidamente separados; Mórula Compacta

(Mc): ocupa mais de 60% do espaço perivitelino, e os blastômeros formam uma massa compacta, pois estão agregados entre si; Blastocisto Inicial (Bi): começa a diferenciação entre botão embrionário e trofoblasto, com início da blastocele; Blastocisto (Bl): espaço perivitelino presente, e evidente diferenciação entre botão embrionário e células do trofoblasto; Blastocisto Expandido (Bx): ocorre à ocupação total do espaço perivitelino pelo embrião, assim, o líquido da blastocele vai empurrando o trofoblasto contra a membrana pelúcida; Blastocisto em Eclosão (Bn): vai iniciar a liberação da membrana pelúcida; Blastocisto Eclodido (Be): o embrião se apresenta totalmente livre da membrana pelúcida. (GAMBARINI, 2004).

Para a classificação do grau de qualidade levando em conta os aspectos morfológicos e as variações que ocorrem nos embriões, vão ser consideradas a integridade da zona pelúcida e morfologia, classificado como: Embrião I (excelente): embrião apresenta-se no estágio esperado, esférico, a ZP deve apresentar lisa e intacta, com os blastômeros juntos e homogêneos e sem nenhuma célula extrusa; Embrião II (Bom): com pouca alteração na coloração dos blastômeros e no formato. Podendo apresentar vesículas e poucas células extrusas; Embrião III (Regular): células extrusas compreendem mais de 15% da massa celular do embrião, células apresentando coloração e formato heterogêneo, blastocele apresenta vesículas e a ZP intacta ou não; Embrião IV (Pobre): estágio não esperado apresenta um grande número de vesículas, degeneração próximo de 75%, coloração heterogêneo, e maiores irregularidades na forma e tamanho; Embrião Degenerado (Dg): coloração escura, não tem forma definida, células desorganizadas, a massa embrionária é inferior a 25% do material celular presente no interior da ZP; Não fecundado (Nf): não apresenta contorno celular, somente granulações (FILHO *et al.*, 2012). Essas estruturas vão ser encontradas se a coleta for realizada no 7º dias após IA da doadora. (GONÇALVES *et al.*, 2008).

Também é de grande importância saber que a classificação morfológica é só um indicativo do potencial de desenvolvimento embrionário (BEM *et al.*, 1995). Alterações funcionais de comprometimento embrionário não precisam estar imediatamente alterando a morfologia, ou seja, um embrião visivelmente normal pode apresentar um baixo desenvolvimento ou vice-versa. (VIANA, 2009).

3 - METODOLOGIA

O experimento foi realizado na Fazenda Tabuões, no município de Queluzito - MG, durante o período de outubro a dezembro de 2017. Foram utilizadas como doadoras 4 novilhas da raça Holandesa de alto valor genético, livres de doenças reprodutivas e infecciosas, com idades variando de 13 a 15 meses.

Todas as doadoras foram submetidas à técnica de lavagem intrauterina para colheita dos embriões pelo método transcervical realizada 7 dias após a 2ª inseminação artificial (IA). Cada doadora, do procedimento, foi submetida ao seguinte protocolo hormonal de superovulação, sendo que em duas das doadoras aleatoriamente foi utilizado além do seguinte protocolo uma aplicação de uma dose do fármaco Lactotropim no D5:

D0: Colocação do Implante de Progesterona (Primer®); 2 ml de Benzoato de Estradiol (Estrogin®) (IM).

D5: 1ª dose de 2 ml de Folltropin-v administrado às 7:00 h (IM); 2ª dose de 2 ml de Folltropin-v administrado às 19:00 h (IM).

D6: 3ª dose de 1,5 ml de Folltropin-v administrado às 7:00 h (IM); 4ª dose de 1,5 ml de Folltropin-v administrado às 19:00 h (IM).

D7: 5ª dose de 1 ml de Folltropin-v administrado às 7:00 h (IM); 6ª dose de 1 ml de Folltropin-v e 2 ml de Prostaglandina (Lutalyse) administrado às 19:00 h (IM).

D8: Retirada do Implante de Progesterona (Primer®); 7ª dose de 0,5 ml de Folltropin-v administrado às 7:00 h (IM); 8ª dose de 0,5 ml de Folltropin-v administrado às 19:00 h (IM).

D10: Administração às 7:00 h de 2,5 ml de GnRH (Fertagyl®) (IM). 1ª IA realizada às 11:00 h; 2ª IA realizada às 23:00 h.

D17: Coleta dos embriões.

A IA realizada no D10 seguiu os procedimentos estabelecidos pela técnica, com a utilização de sêmen sexado de um único touro, de fertilidade comprovada, proveniente da central de colheita de sêmen Select Sires.

Os animais foram preparados antes de cada procedimento, colocados em tronco de contenção e posicionado em estação, realizou-se o esvaziamento do reto e a higienização da região do períneo com água corrente e papel toalha. Em seguida foi realizada a anestesia epidural baixa, utilizando de 4 a 5 ml de lidocaína 2%, com intuito de promover relaxamento do útero e estruturas do períneo do animal, facilitando para introduzir a sonda e fixar no útero e a manipulação do mesmo. A colheita dos

embriões foi realizada pelo método transcervical, utilizando-se PBS enriquecido de soro fetal bovino (SFB) a 10% para a lavagem uterina, o PBS foi aquecido a 30°C para não ocorrer morte embrionária por choque térmico, o recipiente com o líquido de lavagem foi colocada acima da altura dos animais, facilitando assim a lavagem, por gravidade. Foi utilizado um sistema fechado, de método transcervical com fluxo descontínuo, onde o meio para lavagem foi colocado no corno uterino e retirado por um sistema combinado utilizando um cateter de duas vias, com um tubo em “Y” para acoplar de um lado o recipiente contendo o meio de coleta e do outro lado um filtro coletor de embriões e assim acoplado em uma sonda de Foley.

Após o corno uterino ser preenchido com o meio, o mesmo foi massageado permitindo a saída do meio para um filtro coletor (Minitube) de dupla função, reservatório e placas de petri. O processo de lavagem foi repetido várias vezes nos dois cornos uterinos assim aumentando as chances de recuperação embrionária. Posteriormente, encaminhou-se o filtro com as estruturas coletadas para o laboratório, e com o auxílio de uma lupa estereoscópica, selecionou-se os embriões que foram classificados quanto ao estágio de desenvolvimento como: Embriões em fase de clivagem; Mórula (Mo); Mórula Compacta (Mc); Blastocisto Inicial (Bi); Blastocisto (Bl); Blastocisto Expandido (Bx); Blastocisto em Eclusão (Bn); Blastocisto Eclodido (Be); Embrião Degenerado (Dg) e Não fecundado (Nf) e aspecto morfológico em Embrião grau I (excelente); Embrião grau II (Bom); Embrião grau III (Regular); Embrião grau IV (Pobre); Embrião Degenerado (Dg). E então, somente os embriões viáveis foram envasados em paleta de 0,25mm e transferidos. Os embriões considerados viáveis foram lavados em PBS enriquecido de SFB 10%, utilizando um micropipetador com ponteiros descartáveis de 20µl, as quais foi substituídas entre cada lavagem.

Foram obtidos da lavagem das 4 doadoras uma totalidade de 21 embriões viáveis, e posteriormente foram transferidos para 17 receptoras Holandesas, livres de doenças infecciosas e reprodutivas, previamente sincronizadas e preparadas. As receptoras foram sincronizadas utilizando o seguinte protocolo hormonal:

D0: Colocação do Implante de Progesterona (Sincrogest®); 2 ml de Benzoato de Estradiol (bestrol®) (IM).

D8: Retirada do Implante de Progesterona (Sincrogest®); 2 ml de Prostaglandina (Lutalyse); 400 UI de e CG (Foligon®); 0,5 de Cipionato de Estradiol (ECP) (IM).

D10: 1,5ml de GnRH (Fertagyl®) (IM).

D16: Seleção.

D17: Transferência de Embriões (TE).

Os embriões foram transferidos através de inovulação transcervical no corno uterino ipsilateral ao ovário com corpo lúteo (CL). As receptoras foram preparadas para o procedimento de inovulação da mesma forma que as doadoras nos procedimentos de coleta.

O diagnóstico precoce de gestação foi realizado aos 30 dias após a inovulação, com o auxílio de um ultrassom.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram recuperadas por meio da coleta de embriões a partir da superovulação de 4 novilhas doadoras da raça Holandesa um total de 37 estruturas, uma média de 9,25 estruturas por animal. De acordo com a classificação morfológica foram encontrados dois embriões em fase de clivagem; seis mórulas (Mo); cinco mórulas compactas (Mc); oito blastocistos iniciais (Bi); cinco blastocistos (Bl); nove embriões degenerados (Dg) e dois não fecundados (Nf) (TABELA 1).

Em relação ao estágio de desenvolvimento e o grau de qualidade foram considerados como embriões viáveis 21 (56,76 %), uma média de 5,25 por animal como não viáveis 16 embriões (43,24%), uma média de 4,0 por animal (TABELA 1).

Tabela 1. Estruturas recuperadas a partir da superovulação de novilhas doadoras da raça Holandesa, classificadas quanto ao estágio de desenvolvimento, total de estruturas recuperadas, média, número de estruturas não viáveis, número de estruturas viáveis, percentual de estruturas viáveis.

	Doadora 1	Doadora 2	Doadora 3	Doadora 4	Total	Média	%
Em clivagem	0	0	0	2	2	0,5	5,41
Mo	2	1	1	2	6	1,5	16,22
Mc	1	1	2	1	5	1,25	13,51
Bi	0	3	1	4	8	2,0	21,62
Bl	1	2	1	1	5	1,25	13,51
Bx	0	0	0	0	0	0	0
Bn	0	0	0	0	0	0	0
Be	0	0	0	0	0	0	0
Nf	0	0	0	2	2	0,5	5,41
Dg	5	2	1	1	9	2,25	24,32
Total	9	9	6	13	37	9,25	100,0
Estruturas não viáveis	5	2	1	8	16	4,0	43,24
Estruturas viáveis	4	7	5	5	21	5,25	56,76
% Viáveis	44,44	77,77	83,33	38,46	56,76		

De acordo com o grau de qualidade levando em conta os aspectos morfológicos foram classificados dois embriões em fase de clivagem; 13 embriões grau I (excelente); oito embriões grau II (bom); dois embriões grau III (regular); um embrião grau IV (pobre); nove embriões degenerados (Dg) e dois não fecundados (Nf) (TABELA 2).

Tabela 2. Estruturas recuperadas a partir da superovulação de novilhas doadoras da raça Holandesa, classificadas quanto ao grau de qualidade considerando os aspectos morfológicos, total de estruturas recuperadas, média, número de estruturas não viáveis, número de estruturas viáveis, percentual de estruturas viáveis.

	Doadora 1	Doadora 2	Doadora 3	Doadora 4	Total	Média	%
Em clivagem	0	0	0	2	2	0,5	5,41
I Excelente	4	6	3	0	13	3,25	35,13
II Bom	0	1	2	5	8	2,0	21,62
III Regular	0	0	0	2	2	0,5	5,41
VI Pobre	0	0	0	1	1	0,25	2,70
Nf	0	0	0	2	2	0,5	5,41
Dg	5	2	1	1	9	2,25	24,32
Total	9	9	6	13	37	9,25	100,0
Estruturas não viáveis	5	2	1	8	16	4,0	43,24
Estruturas viáveis	4	7	5	5	21	5,25	56,76
% Viáveis	44,44	77,77	83,33	38,46	56,76		

Foi obtido por meio da coleta de embriões realizada nas 4 doadoras da raça Holandesa o resultado de 37 estruturas (9,25 por animal), sendo classificados morfológicamente como viáveis 21 (56,76 %), uma média de 5,25 por animal. E como não viáveis foram obtidos 16 (43,24%), uma média de 4,0 por animal. Rocha e Kozicki (1998) obtiveram de 16 colheitas de embriões em vacas doadoras das raças Holandesa e Simental uma recuperação de 96 estruturas, das quais 69 (71,8%) foram classificadas como embriões viáveis e 27 (28,2%) como não viáveis, um resultado que se mostrou superiores aos alcançados nos presentes estudo. Já Renesto (2004) utilizou 23 doadoras da raça Nelore e conseguiu uma taxa de 72 estruturas, onde foram classificados 53 (73,6%) como viáveis e 19 (26,3%) como não viáveis e Junior (2005) também utilizando doadoras da raça Nelore e obteve-se de 43 colheitas de embriões em 30 doadoras um total de 376 estruturas, sendo que 289 (76,86) foi classificada como viáveis e 87 (23,14) como não viáveis, taxas que também se mostrou superiores aos conseguidos neste estudo. Demczuk *et al.* (1998) realizou 103 colheitas em vacas doadoras da raça Simental conseguindo resultados muito superiores comparados aos alcançados neste experimento, um total de 1.014 estruturas, onde 81,8% foram consideradas como viáveis e transferidos, e os demais 18,2% foram congelados ou classificados como não viáveis. De acordo com Galli (2003) a baixa produção de

embriões *in vivo*, se tem por uma ineficiência de um terço das doadoras não responder ao tratamento de SOV, um terço resultar em baixas médias de embriões recuperados e apenas um terço responde ao tratamento de SOV e gera um grande número de embriões viáveis.

Demczuk *et al.* (1998) realizou 103 colheitas em vacas doadoras da raça Simental e obtiveram uma média de 9,84 embriões por colheita, média que se encontra semelhante a conseguida no presente estudo, onde se obteve 9,25 de média por animal. Já comparando com as médias de embriões viáveis de 8,0 e os classificados como não viáveis e os que foram congelados de 1,83, as médias que obtivemos de 5,25 viáveis e 4,0 não viáveis se mostrou resultados muito inferiores. Junior (2005) obteve-se uma média de 8,74 estruturas por colheita, média que também se observa semelhante as obtidas neste experimento, e também obteve uma média superior tanto para embriões viáveis quanto para os não viáveis, de 6,72 e 2,09 respectivamente, por colheita. Já Rocha e Kozicki (1998) utilizando doadoras das raças Holandesas e Simental obtiveram uma média de recuperação de 4,6 embriões viáveis e 1,6 não viável por colheita, média que se apresentou inferior para embriões viáveis e superior para não viáveis. Viana *et al.* (2004) utilizando como doadoras vacas da raça Gir e Bousquet *et al.* (1999) obtiveram uma média de 3,91 e 4,3 respectivamente de embriões viáveis produzido *in vivo*, média que apresentação inferiores a obtida neste estudo. Fatores que pode contribuir para baixas médias pode ser relacionadas a nutrição das doadoras ou/e, as doses de FSH utilizada no protocolo segundo Gong *et al.* (2002).

Foram transferidos 17 embriões dos 21 embriões classificados como viáveis, considerando o estágio de desenvolvimento e o grau de qualidade. Foi utilizado como critério de escolha para ser transferido os embriões que encaixassem nos seguintes aspectos: três Mo grau I e duas grau II; duas Mc grau I e uma grau II; três Bi grau I e dois grau II; e três Bl grau I e um grau II. (TABELA 3).

Aos 30 dias de gestação após a da data da transferência, foi confirmada uma taxa de concepção 23,53% (4/17) (TABELA 3).

Tabela 3. Estruturas classificadas como viáveis classificadas quanto ao estágio de desenvolvimento e ao grau de qualidade, que foram transferidas para receptoras, taxa de concepção dos transferidos avaliada aos 30 dias após a TE e média.

	Doadora 1	Doadora 2	Doadora 3	Doadora 4	Total	Média	%
Mo (I)	2	0	1	0	3	0,75	17,65
Mo (II)	0	1	0	1	2	0,5	11,76
Mc (I)	1	0	1	0	2	0,5	11,76
Mc (II)	0	1	0	0	1	0,25	5,88
Bi (I)	0	3	0	0	3	0,75	17,65
Bi (II)	0	0	0	2	2	0,5	11,76
Bl (I)	1	2	0	0	3	0,75	17,65
Bl (II)	0	0	1	0	1	0,25	5,88
Nº transferidos	4	7	3	3	17	4,25	100,0
%	23,53	41,17	17,65	17,65	100,0		
Concepção	1	2	1	0	4		23,53

Os resultados de concepção obtidos se mostraram próximos aos 29%, 29,3% e 36,5% mencionados por Alcivar *et al.* (1984), Untem *et al.* (2009) e Nonato Jr. *et al.* (2004), respectivamente. Já, alguns autores, obtiveram resultados superiores, como Junior (2005) que alcançou através da transferência de 289 embriões *in vivo*, uma taxa de 45,67% de gestação aos 30 dias, Niemann *et al.* (2002) e Rheingantz (2000), que citaram taxas de até 50% de gestação e Scanavez *et al.* (2013), que através da transferência de 1100 embriões conseguiram obter 636 (57,8%) de prenhez diagnosticadas aos 35 dias. Donaldson (1986); Bousquet *et al.* (1999); Mapletoft *et al.* (1986); Walton *et al.* (1986) também relataram resultados superiores de 51%, 53%, 55% e 59% de gestação, respectivamente. Taxas acima de 60% de prenhez foram alcançadas por Elsdén *et al.* (1978); Garcia *et al.* (1986); Rocha e Kozicki (1998) e Wright (1981) obtendo respectivamente 60%, 60%, 60,8% e 66% de prenhez.

Nossos achados também se mostraram muito inferiores aqueles encontrados por Hasler *et al.* (1987); Etherington *et al.* (1986) e Rowson *et al.* (1972) que obtiveram, respectivamente, 91,1%, 79% e 71,3% de animais gestantes. Entretanto, a taxa de concepção alcançada no presente estudo se mostrou dentro dos resultados obtidos por Uenkoff (1986) que variaram de 20 a 67%. A avaliação das receptoras é um fator de grande importância no sucesso da técnica, portanto, Dias *et al.* (2006) destacaram que a taxa de gestação pode ser influenciada pelo sincronismo embrião-receptora. Peixoto *et al.* (2004) demonstraram que as receptoras que tiveram o estro um dia antes da doadora apresentaram melhores taxas de prenhez. Já Alvarez *et al.* (2008) mostram

que existe relação nos índices de gestação quanto a qualidade morfológica dos embriões, Shulman *et al.* (1993) demonstram a importância dessa característica para se alcançar melhores resultados quando se utiliza embriões de melhor qualidade, comparados aos embriões de pior qualidade. Outro fator que contribui para reduzir as taxas de concepção é a morte embrionária precoce em bovinos, que podem estar associadas à idade, raça, ou procedência dos embriões, de acordo com os estudos demonstrados por Sartori e Dode. (2008).

5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

O protocolo de superovulação empregado neste estudo mostrou eficácia na taxa de recuperação embrionária e na qualidade dos embriões produzidos *in vivo* por doadora. Contudo, a taxa de concepção não foi satisfatória, estando relacionada a fatores que não foram avaliados neste estudo.

6 – REFERÊNCIAS

ALCIVAR, A.A.; MAURER, R.R.; ANDERSON, L.L. Superovulatory responses in FSH or Pergonal treated heifers. **Theriogenology**, v.22, p.635-42, 1984.

ALVAREZ, R.H.; MENEGHEL, M.; MARTINEZ, A.C.; PIRES, R.M.L.; SCHAMMASS, E.A. Transfer of bovine blastocysts derived from short-term *in vitro* culture of low quality morulae produced *in vivo*. **Reproduction in Domestic Animals**, v.43, p.257- 260, 2008.

ANDRADE, J.C.O.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA, P.F. Use steroid hormone treatments prior to superovulation in Nelore donors. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.69, n.1-2, p.9-14, 2002.

BARUSELLI, P.S.; DE SÁ FILHO, M. F.; MARTINS, C. M.; NASSER, L. F.; NOGUEIRA, M.F.G.; BARROS, C. M.; BÓ, G. A. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. **Theriogenology**, v. 65, p. 77-88, 2006.

BEM, A.R.; RUMPF, R.; SOUSA, R.V.; PEIXER, M.A.S. **Manual sobre transferência e micromanipulação de embriões nas espécies bovina e eqüina**. Brasília (DF): EMBRAPA-CENARGEN, 1995. 123p.

BREVE. Historia de la industria de transferencia de embriones y de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones. In: **Manual de la Sociedade Internacional de Transferencia de Embrionaes**. Rio de Janeiro: Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. p. 3-6, 1988.

B

- Ó, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRÍBULO, R.; TRÍBULO H.; MAPLETOFT, R.J. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v.57, p.53-72, 2002.
- BOUSQUET, D.; TWAGIRAMUNGU, H.; MORIN, N.; BRISSON, C.; CARBONEAU, G.; DUROCHER, J. *In vitro* embryo production in the cow: an effective alternative to the conventional embryo production approach. **Theriogenology**, v. 51, p. 59-70, 1999.
- CALLESEN, H.; LOVENDAHL, P.; BAK, A.; GREVE, T. Factors affecting the development al stage of embryos recovered on day 7 from superovulated dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v.73, n.6, p.1539-4, 1995.
- DEMCZUK E.; KOZICKI L. E.; PONTELLI E.S.; SALLES J.O. Transferência de embrião em vacas da raça Simental na região noroeste do Paraná e Sul do Mato Grosso do Sul. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science.**, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 174-177, 1998.
- DEMÉTRIO, D.G.B. **Colheita e transferência de embriões bovinos. São Paulo, SP.**2003. p. 22-23. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal)– Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus de Botucatu. 2003.
- DIAS, C.C.; ALVIN, M.T.T.; SALIBA, W.P.; VASCONCELOS, J.L.M. Fatores relacionados ao embrião e à receptora que influenciam o sucesso das transferências de embriões de coleta convencional ou de fertilização *in vitro*. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, p.412, 2006. Resumo.
- DONALDSON, L.E. Day of embryo collection, quality and pregnancy rates in cattle. **Ve. Rec.**, v.118, p.661-3, 1986.
- ELSDEN, R.P.; NELSON, L.D.; SEIDEL JUNIOR, G.E. Superovulation cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare serum gonadotrophin. **Theriogenology**, v.9. p. 17-26, 1978.
- ETHERINGTON, U.G.; KILMER, B.A.; BURKE, J.E.; MONTGOMERY, M.E.; WILSON, D.C. Pregnancy rates related to stage of estrous cycle at prostaglandin treatment in an embryo transfer recipient herd. **Theriogenology**, v.25, p.845-55, 1986.
- FILHO, J.M.P.; OLIVEIRA, F.A.; TORRES C.A.A. **Produção de embriões bovinos *in vivo e in vitro***. 83ª Semana do fazendeiro, Universidade Federal de Viçosa. 2012. 21pg.
- GALLI, C.; DUCHI, R.; GROTTI, G.; TURINI, P.; PONDERATO COLLEONI, S.; LAGUTINA, I.; LAZZARI, G. Bovine embryo technologies. **Theriogenology**, v. 59, p. 599-616, 2003.
- GAMBARINI, M.L.M. **Curso de transferência de embriões em bovinos**. Goiânia: UFG, 2004.
- GARCIA, M.A.; FAHNING, M.L.; GRAHAM, E.F. *In vitro* culture, freezing, thawing, and transfer of bovine embryos versus transfer of fresh embryos from the same collection; preliminary results. **Theriogenology**, v.26, p.803-13, 1986.

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

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

GONG, J.G.; ARMASTRONG, D.G.; BAXTER, G.; HOGG, C.O.; GARNSWORTHY, P.C.; WEBB, R. The effect of increased dietary intake on superovulatory response to FSH in heifers. **Theriogenology**, v. 57, p. 1591-1602, 2002.

GUIDO, M.C. **Transferência de embriões**. Disponível em: <http://www.mcquido.vet.br>. Acessado em 25 jan. 2018.

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

HASLER, J.F.; McCAULEY, A.D.; LATHROP, U.F.; FOOTE, R.H. Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rates in a large-scale bovine embryo transfer program. **Theriogenology**, v.27, p.139-69, 1987.

IBGE. Instituto brasileiro de geografia e estatística. **Rebanho de bovinos tinha 218,23 milhões de cabeças em 2016**. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/ibge-rebanho-de-bovinos-tinha-21823-milhoes-de-cabeças-em-2016/>>. Acesso em: 18/05/2018.

JUNIOR, I.N. **Produção de embriões em vacas Nelore (*Bos taurus indicus*) com a associação dos métodos *in vivo* e *in vitro***. Londrina : UEL, Dissertação de Mestrado em Ciência Animal, 2005.

KANAGAWA, H.; SHIMOHIRA, I.; SAITOH, N. **Manual of bovine embryo transfer**. 1º edição Japan Livestock Technology Association, 1995.432p.

MAPLETOFT, R.J.; LINDSELL, C.E.; PAULYSHYN, V. Effects of clenbuterol, body condition and non- surgical embryo transfer equipment on pregnancy rates in bovine recipients. **Theriogenology**, v.25, p.172, 1986.

MEDVECZKY, I.; SOLTÍ, L.; HARASZTI, J. Transmission of Aujeszky's Disease (pseudorabies) virus is blocked by trypsin treatment of transferred embryos. **Theriogenology**, New York, vol. 46, p.1357-1365, 1996.

NIEMANN, H.; WRENZYCKI, C.; LUCAS-HAHN, A.; BRAMBRINK, T.; KUES, W.A.; CARNWATH, J.W. Gene expression patterns in bovine *in vitro* – produced and nuclear transfer – derived embryos and their implications for early development. **Cloning and stem cells**, v.4, p.29-38, 2002.

NONATO, Jr.; I.; RUFINO, F.A.; SANCHES, B.V.; PONTES, J.H.F.; UVO, S.; ERENO, J.J.C.; SENEDA, M.M. Produção de embriões em vacas nelore com a utilização associada de FIV e TE. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 18., Barra Bonita, 2004, Anais...

Barra Bonita: **Acta Scientiae Veterinariae**, 2004. v.32. p.95.

OLIVEIRA, C.S.; SERAPIÃO, R.V.; QUINTÃO, C.C.R. Biotécnicas da reprodução em bovinos. Minicursos ministrados durante o 3º simpósio “**BIOTÉCNICAS DA REPRODUÇÃO EM BOVINOS**” no laboratório de Reprodução Animal do Campo Experimental Santa Mônica. 1ªed. Juiz de Fora, Embrapa Gado de Leite, 2014 p.16-18.

PASA, C. Transferência de embriões em bovinos. **Biodiversidade**. FAMEV- UFMT- Cuiabá. v.7 n.1 2008.

PEIXOTO, M.G.C.D.; BERGMANN, J.A.G.; ALVIM, M.T.T.; PENNA, V.M. Fatores que influenciaram a prenhez de embriões zebuínos em receptoras mestiças. In: **Simpósio da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal**, 5, 2004, Pirassununga, SP: SBMA, 2004. 4p.

PEREIRA, N.P. **Transferência de embriões em bovinos**. Trabalho de conclusão de curso de Medicina Veterinária, Universidade de Tuiuti do Paraná. 2012. 85Pg.

RENESTO, A. **Associação das biotécnicas: aspiração folicular guiada por ultrasonografia e superovulação na produção *in vitro* e *in vivo* de embriões bovinos**. Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, campus de Jaboticabal. Agosto de 2004. 59f.

RHEINGANTZ, M.G.T. Fecundação *in vitro*, criopreservação de ovócitos e embriões e sexagem de embriões bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal.**, v.24, p.21-29, 2000.

ROBERTS, A.J.; GRIZZLE, J.M.; ECHTERNKAMP, S.E. Follicular development and superovulation response in cows administered multiple FSH injections early in the estrous cycle. **Theriogenology**, v.42, n.6, p.917-29, 1994.

ROBERTSON, I.; NELSON, R. E. **Certificação e identificação de embriões**. In: **International Embryo Transfer Society**. USA, abril, 1998. Trad. OLIVEIRA FILHO, E. B. Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões. Uberlândia:SBTE, 1999. Cap. 9, p.109-122.

ROCHA, C.; KOZICKI, L. E. Contribuição ao estudo da transferência de embriões em bovinos na região noroeste do Estado do Paraná. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**. UNIPAR, 1 (1): 29-34, 1998.

ROWSON, L.E.A.; LOWSON, R.A.S.; MOOR, R.M.; BAKER, A.A. Egg transfer in the cow: synchronization requirements. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.28, p.427-31, 1972.

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

SANTOS, G.M. **Curso de transferência de embriões e bovinos.** CPT Cursos Presenciais. Apostila. 2011.

SARTORI, R.; DODE, M.A.N. **Mortalidade embrionária na IA, TE, FIV e clonagem.** In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 3., 2008, Londrina. Anais ... Londrina: SIRAA, 2008. p.175-194.

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

SENGER, P. L. **Pathways to Pregnancy and Parturition.** 2.ed. Local: Moscow, Indiana. Current Conceptions, Inc., 2003. p. 284-296.

SHULMAN, A.; BEN-NUN, I.; GHETLER, Y.; KANETI, H.; SHILON, M.; BEYTH, Y. Relationship between embryo morphology and implantation rate after *in vitro* fertilization treatment in conception cycles. **Fertil Steril**, v.60, p.123126,1993.

STABENFELDT, H.G.; EDQVIST, E.L. **Processos reprodutivos na fêmea.** In: Swenson, j.m.; Reece, o.w. Fisiologia dos animais domésticos. 11^o edição Rio de Janeiro, 1996, p. 615-616.

STANTON, J.A.; MACGREGOR, A.B.; GREEN, D.P. Gene expression in the mouse preimplantation embryo. **Reproduction**, v. 125, p. 457-468, 2003.

STRINGFELLOW, D.A.; SEIDEL, S.M. **Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões.** IETS, p.112-113, Illinois, 1998.

STRINGFELLOW, D. A. Recomendações para o manuseio sanitário de embriões obtidos *in vivo*. In: **International Embryo Transfer Society.** USA, abril, 1998. Trad. OLIVEIRA FILHO, E. B. Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões. Uberlândia:SBTE, 1999. Cap. 6, p.83-88.

SUTMOLLER, P. Importation of bovine genetics: a quantitative risk assessment of disease transmission by bovine embryo transfer. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.23. p. 269-270, 1996.

TANEJA, M.; BOLS, P.E.J.; VELDE, V. Development competence of juvenile calf oocytes *in vitro* and *in vivo*: influence of donor animal, variation and repeated gonadotropin stimulation. **Biology Reproduction, Champaing.** v.31. pag.67-73, 2000.

UENKOFF, M. The effects of clenbuterol on pregnancy rates in bovine recipients after non-surgical transfers. **Theriogenology**, v.25, p.214, 1986.

UNTEM, R.R.; PANTOJA, T.A.R.; ALVES, D.F.; NOGUEIRA, E. Taxa de prenhez de embriões produzidos *in vitro* conforme categoria embrionária. In: **FEIRA DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA DE MATO GROSSO DO SUL**, 3., 2009, Campo Grande. Anais... Campo Grande: COMVET, 2009.

VIANA, J.H.M. **Classificação de embriões bovinos produzidos em vivo**. 2009 Disponível em: <<http://www.cigeneticabovina.com.br/index.php?ref=18&tipo=4>>. Acesso em 06 janeiro. 2018.

VIANA, J.H.M.; ARASHIRO, E.K.N.; FREITAS, C.; PALHÃO, M.P.; FONSECA, J.F. Associação entre as técnicas de punção folicular e colheita de embriões em vacas gir. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v. 32, n.1, p. 193, 2004.

VIANA, J.H.M.; ASSUNPÇÃO, C.M.; CAMPOS, P.H.A. Foliculogênese: da migração das células germinativas primordiais à aplicação de tecnologias. **Revista CES**, Juiz de Fora, v.23, p.35-44, 2009.

WALTON, J.S.; MARTINEAU, N.A.; STUBBINGS, R.B. Pregnancy rates in Holstein embryo transfer recipients: effect to treatment with progesterone or clenbuterol and natural versu induced cycles. **Theriogenology**, v.26, p.837-45, 1986.

WATSON, A.J.; BARCROFT, L.C. Regulation of blastocyst formation. **Front Bioscience**, v. 6, p. 708-730, 2001.

WATSON, A.J.; NATALE, D.R.; BARCROFT, L.C. Molecular regulation of blastocyst formation. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p.583-592, 2004.

WRIGHT, J.M. Non-surgical embryo transfer in cattle embryo-recipient interactions. **Theriogenology**, v.15, p.43, 1981.

AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA RENAL E HEPÁTICA EM CADELAS COM PIOMETRA

Acadêmicos: Daniel Franco Machado e Menikiss Jordão Andrade

Orientador: Vanessa Guedes Pereira

RESUMO

A piometra é um processo infeccioso que ocorre no útero de cadelas sexualmente ativas, com maior frequência em cadelas nulíparas e idosas, que se caracteriza pelo acúmulo de exsudato purulento no interior do útero, podendo ocorrer em todas as fases do ciclo estral, sendo de maior incidência no diestro. Esse processo infeccioso pode ser classificado como cérvix aberta e fechada. Os principais sinais clínicos da piometra são: presença de secreção vaginal, letargia, diarreia, desidratação, poliúria, polidipsia, dor e aumento abdominal. O diagnóstico pode ser feito por meio de exames de imagem (ultrassonografia e radiografia) e exames complementares laboratoriais (hemograma e bioquímica hepática e renal). Objetivou-se, neste estudo, avaliar as alterações hematológicas e bioquímicas em cadelas com piometra. Foram analisados os exames laboratoriais de 46 cadelas da região da zona da Mata Mineira, com diagnóstico de piometra, atendidas entre agosto de 2017 e março de 2018. De acordo com a análise do hemograma, plaquetograma e bioquímica hepática e renal de cadelas com piometra atendidas em clínicas na Zona da Mata Mineira, concluiu-se que as principais alterações foram anemia discreta, leucocitose por neutrofilia com desvio à esquerda e uremia. Essas alterações são importantes para o diagnóstico, prognóstico, bem como, o planejamento anestésico desses pacientes.

PALAVRAS-CHAVE: Hemograma, Ureia, Creatinina.

1- INTRODUÇÃO

O complexo hiperplasia endometrial cística (HEC) é uma afecção que evolui para piometra. É uma patologia caracterizada por um processo inflamatório que ocorre em fêmeas sexualmente ativas, com maior frequência em cadelas nulíparas e idosas (LIMA, 2009). Devido a uma infecção ascendente, essa patologia evolui para o acúmulo de exsudato mucopurulento no interior do útero, podendo ocorrer em todas as fases do ciclo estral, sendo de maior incidência no diestro (SMITH, 2006; PRETZER, 2008).

A piometra pode ser classificada de acordo com a abertura da cérvix. Sua classificação consiste na forma da piometra que pode ser aberta ou fechada (MARTINS *et al.*, 2002), sendo diferenciada pela presença ou não de secreção purulenta na vagina (CHATDARONG *et al.*, 2008).

Segundo Hagman *et al.*, (2009) os sinais clínicos mais característicos presentes nas duas classificações incluem letargia, poliúria, polidipsia, depressão e febre.

A piometra requer um diagnóstico objetivo, para que tenha uma rápida intervenção pelo médico veterinário, com intuito de evitar complicações sistêmicas graves (PRETZER, 2008). Segundo Smith (2006), na maioria dos casos, o tratamento recomendado é a ovariosalpingohisterectomia (OSH).

Diante disso, para o correto diagnóstico, tratamento e avaliação do prognóstico do animal, é indispensável uma avaliação específica do histórico, sinais clínicos e exames complementares como os de imagem (LITTLE, 2005; HAGMAN *et al.*, 2009) e exames laboratoriais como hemograma e bioquímica sérica (FRANSSON e RANGLE, 2003; HAGMAN *et al.*, 2009). As alterações laboratoriais encontradas vão desde um número acentuado de leucócitos — neutrófilos e monócitos com desvio à esquerda — até uma anemia não regenerativa. Já no bioquímico hepático e renal, pode ser visto uma hiperproteinemia, elevação das enzimas como a fosfatase alcalina (FA) e azotemia pré-renal (BOJRAB, 1996; SHAW & IHLE, 1999; FRANSSON & RANGLE, 2003; FERREIRA, 2006; HAGMAN *et al.*, 2006).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho é realizar uma avaliação hematológica e bioquímica hepática e renal de cadelas com piometra atendidas em clínicas na região da Zona da Mata Mineira-MG, buscando analisar os parâmetros hematológicos, função renal e hepática com o diagnóstico de piometra.

2 - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 - FISIOPATOLOGIA

A definição da piometra pode ser compreendida por um conjunto de alterações hormonais, associado a uma infecção bacteriana no lúmen uterino (ROS *et al.*, 2014) que apresenta causas multifatoriais, como o aumento na concentração de progesterona (SCHWEIGERT, 2009), o uso de estrógenos (NELSON & COUTO, 2015) e a proliferação bacteriana (FELDMAN & NELSON, 2006).

A ação da progesterona tem várias implicações sobre o útero. Um dos efeitos fisiológicos desse hormônio é promover a multiplicação de glândulas endometriais, tendo como consequência dessa proliferação a Hiperplasia Endometrial Cística (HEC) (FOSSUM *et al.*, 2005; CARLTON; MCGAVIN, 1998). Outro efeito da progesterona é que ela amplia a ação secretória das glândulas endometriais, resultando na formação

e acumulação de grande abundância de fluidos no interior do útero. Também atua sobre o fechamento da cérvix e impede a contração do miométrio, impossibilitando a drenagem do fluido presente no lúmen uterino, contribuindo para a evolução da enfermidade. Essas modificações fisiológicas mediadas pela progesterona tornam o útero mais exposto e sujeito à contaminação bacteriana (FOSSUM *et al.*, 2005; CARLTON; MCGAVIN, 1998).

O uso de estrógeno como método contraceptivo em cadelas e gatas, especialmente na fase de diestro, causa a multiplicação dos receptores de progesterona (GARCIA FILHO *et al.*, 2012) e elevação do nível de concentração de progesterona. Assim, há alteração na função do miométrio ao desencadear o crescimento e a produção excessiva de células secretoras endometriais, diminuição da circulação sanguínea e das células de defesa. Essas alterações fisiológicas resultam em um acúmulo de secreções na cavidade uterina e devido a uma abertura do colo, proporcionando ambiente favorável para a colonização de bactérias (LIMA, 2009).

Com ação estrogênica, a cérvix se abre possibilitando a passagem de bactérias da microbiota vaginal para o interior do útero. Os resultados de eliminação das glândulas — no início incontaminado — possui um pH favorável ao desenvolvimento bacteriano. Dessa forma, devido a uma redução do processo inflamatório, a piometra se instala (OLIVEIRA, 2007).

Segundo Chan *et al.* (2000) e Egenvall *et al.*, (2000) algumas bactérias apresentam facilidade de aderência à parede do útero e, por isso, possuem compatibilidade pelo endométrio e miométrio, pelo fato de inibirem as células de defesa local. A *Escherichia coli* é o patógeno mais frequentemente encontrado em cadelas com piometra (BARSANTE, 2004; NELSON & COUTO, 2006; COGGAN *et al.*, 2008). Contudo, outros micro-organismos aeróbios também são encontrados, porém, com baixa frequência, como *Streptococcus sp*, *Enterobacter sp*, *Klebsciella sp* e *Pseudomonas sp* (BOJRAB, 2014).

A *E. coli* é uma bactéria gram-negativa, sendo destacada como a principal causadora de infecção do trato urinário (HEDLUND, 2005). Apresenta maior afinidade pela microbiota vaginal em cadelas e pode migrar da vagina para o útero no momento em que ocorre a abertura da cérvix. Isso acontece normalmente na fase proestro e

estro (HAGMAN, 2004), devido a sua atração pelo miométrio e endométrio, ativados pela progesterona, promovendo sua ligação ao tecido uterino (HEDLUND, 2005).

A piometra pode ser classificada como uma afecção de cérvix, aberta ou fechada. A piometra de cérvix fechada, geralmente, é aguda e grave, devendo ser tratada com urgência (PRETZER, 2008). Por outro lado, a piometra de cérvix aberta pode manifestar sinais clínicos mais leves, porém, requer uma intervenção médica para evitar que o quadro se agrave (MOURA, 2007).

Essa doença ocorre com maior frequência em cadelas adultas e ativas sexualmente (HAGMAN *et al.*, 2006; HEDLUND, 2005; EMANUELLI, 2007; COGGAN *et al.*, 2008) e durante o diestro — período em que se verifica uma hipertrofia do endométrio motivada pela progesterona, seguida de uma invasão bacteriana (WEISS *et al.*, 2004). Segundo Lima (2009), essa é a doença de maior frequência na clínica de pequenos animais e as raças mais susceptíveis são: Golden Retriever, São Bernardo, Cocker Spaniel Inglês, Collie, Rottweiler, Schnauzer e Chow Chow (HAGMAN *et al.*, 2011; FOSSUM, 2014).

2.2 SINAIS CLÍNICOS DA PIOMETRA

O exame físico em cadelas com suspeita de piometra deve incluir o exame físico geral do animal, bem como a avaliação do aparelho geniturinário, incluindo a inspeção da vulva e da vagina, para verificação da existência de secreção ou não (KUSTRITZ, 2005; JOHNNSTON *et al.*, 2001).

A piometra de cérvix aberta e fechada pode apresentar diferenças na apresentação dos sinais clínicos (SMITH, 2006). Na primeira, são observados corrimento vaginal fétido (podendo ter presença de sangue e até secreção purulenta) (PRETZER, 2008), aumento no volume e algia abdominal (HAGMAN *et al.*, 2006), nos exames de imagem, o útero pode apresentar espessamento das paredes e miométrio fibrótico (SMITH, 2006). Já a segunda, a piometra fechada, é considerada mais grave, pois os animais não apresentam corrimento vaginal e, conseqüentemente, o acúmulo desse conteúdo no interior do útero provoca aumento do volume abdominal (FRANSSON & RAGLE, 2003; MOLANO e ECHEVERRI, 2007). Percebe-se, também, estiramento das paredes do útero e atrofia do endométrio (SMITH, 2006), por isso, o tratamento deve ser feito imediatamente, para que não ocorra rompimento uterino e nem peritonite (MOLANO e ECHECERRI, 2007).

Essas anormalidades relacionadas ao tamanho uterino, podem ser avaliadas pela palpação do abdômen (JOHNSTON *et al.*, 2001), porém a palpação uterina pode ficar comprometida, devido a obesidade, ao estresse e, até mesmo, à sensibilidade abdominal. Um fator importante é que a palpação deve ser realizada cuidadosamente, para que não ocorra ruptura, ocasionada pela fragilidade uterina (KUSTRITZ, 2005; HAGMAN *et al.*, 2006).

Outros sinais comuns que podem ocorrer nas duas formas são letargia, depressão, perda de peso, êmese, diarreia, desidratação, poliúria e polidipsia, hipotensão, choque séptico, culminando com o óbito (KUSTRITZ, 2005; HAGMAN *et al.*, 2006). A hipertermia pode ocorrer ou não, pois em quadros de toxemia também pode ser identificada hipotermia (PRETZER, 2008). Nos casos de toxemia e septicemia pode ser verificado elevação da frequência cardíaca, aumento no preenchimento capilar e baixo pulso femoral (ETTINGER e FELDMAN, 2004).

2.3 - DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da doença é obtido por meio do histórico do animal, dos sinais clínicos, exames laboratoriais (hemograma, bioquímica sérica e urinálise) e complementares (ultrassonográficos e radiográficos) (FELDMAN & NELSON, 1996; SLATTER, 1998). Entretanto, nem sempre os sintomas da piometra vão ocorrer simultaneamente devido a sua diversidade de sinais clínicos.

A piometra deve ser pesquisada em cadelas de qualquer idade, reprodutivamente ativas, que estão ou que passaram pela fase do estro recentemente (SLATTER, 1998; ETTINGER, 2004) e que apresentam alterações clínicas e laboratoriais compatíveis com a doença (FELDMAN, 2004).

As anormalidades encontradas na radiografia e no exame ultrassonográfico, auxiliam no diagnóstico, pois demonstram uma dilatação visível do útero, ocasionada pelo intenso acúmulo de secreção inflamatória no lúmen uterino (NELSON & COUTO, 2001; STURION *et al.*, 2009)

O diagnóstico diferencial em cadelas não castradas, com presença de secreção vaginal e sem distensão abdominal, é sugestivo de estro, vaginites e neoplasias na vagina, além de outros diagnósticos diferenciais como gestação, hidrometra, mucometra, metrite, torção uterina e peritonite (CHEN, ADDEO e SASAKI, 2007;

FOSSUN, 2008). Em cadelas esterilizadas, a existência de secreção vaginal pode ser indicativo de piometra de coto (CHEN, ADDEO e SASAKI, 2007).

2.4 - AVALIAÇÃO LABORATORIAL

Em cadelas acometidas com piometra, comumente é observado, no hemograma, anemia normocítica, normocrômica de leve à moderada (VERSTEGEN *et al.*, 2008), em resposta a uma depressão tóxica da medula óssea associada à diminuição da viabilidade dos eritrócitos causada pelo efeito das toxinas. Tudo isso devido à perda eritrocitária para o interior do útero, (MASTROCINQUE, 2002; FRANSSON e RAGLE, 2003; FELDMAN, 2004; JOHNSON; 2006; EMANUELLI, 2007; PRETZER, 2008; VERSTEGEN *et al.*, 2008; HAGMAN *et al.*, 2009; ALBUQUERQUE, 2010) com hematócrito variando de 21 a 48% (FIENI, 2006; BIGLIARDI *et al.*, 2004). Devido à cronicidade da doença, pode-se apresentar uma anemia regenerativa, que pode ser mascarada por uma desidratação (KAYMAZ *et al.*, 1999).

Nas alterações do leucograma, normalmente são observados leucocitose (com valores aproximados de 100.000/ μ L a 200.000/ μ L), neutrofilia e desvio à esquerda (NELSON, COUTO, 2003; BARSANTI, 2006). Em casos mais graves, pode haver neutropenia, justificado quando o aumento no consumo de neutrófilos é superior à capacidade de liberação da medula óssea (WEISER, 2007). Em casos mais graves e em quadros de septicemia, foi identificado linfopenia (FALDYNA *et al.*, 2001) associado aos fatores de estresse, associado ao cortisol causados por essa doença (NATH *et al.*, 2009). Também foi observado — em cadelas acometidas com piometra — monocitose, com valores entre 3.000/ μ L e 5.000/ μ L, sendo o limite de referência maior ou igual a 1.200/ μ L (VERSTEGEN *et al.*, 2008).

As anormalidades nos exames bioquímicos nos casos de piometra incluem o aumento das enzimas hepáticas, principalmente alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) (FELDMAN, 2004) que são indicativos de lesão hepatobiliar (KAYMAZ *et al.*, 1999). Também podem ser observados elevação da enzima gama glutamiltransferase (GGT) e de fosfatase alcalina (FA) (VERSTEGEN *et al.*, 2008) associado aos casos de hipóxia e septicemia (NELSON; COUTO, 2003).

Nos casos de piometra, é comum alterações na função renal, provocadas pelo acúmulo de imunocomplexos nos glomérulos, o que pode ser observado pela presença de azotemia pré-renal (MASTROCINQUE, 2002; HEDLUND, 2005) com

elevação nos índices de creatinina e ureia (FELDMAN, 2004; SMITH,2006; VERSTEGEN, 2008) e diminuição da densidade urinária, compatível com a os sinais clínicos de poliúria e polidipsia (ASHEIM A., 1965; PRETZER, 2008).

Também já foram observados, nestes pacientes, hiperproteinemia acarretada pela desidratação (NELSON; COUTO, 2003; VERSTEGEN, 2008) ou hipoalbuminemia, um indicativo de insuficiência hepática. Nos índices de colesterol e bilirrubina foi verificado um aumento significativo e, em casos mais graves, quadros de acidose metabólica (KAYMAZ, 1997).

2. 5 - TRATAMENTO

De acordo com Bocardo (2008), o tratamento mais recomendado para a piometra é a ovariosalpingohisterectomia (OSH) associada ao tratamento de manutenção com fluidoterapia, anti-inflamatórios e antibióticoterapia. (SORRIBAS, 2006). Somente em cadelas jovens e com um elevado valor reprodutivo pode ser instituído um protocolo terapêutico, sem, necessariamente, a realização da (OSH), desde que verificado não ser crônico o quadro e que a piometra não ser de cérvix aberta (SORRIBAS, 2006).

3. METODOLOGIA

Foram avaliados os exames laboratoriais de 45 cadelas atendidas em clínicas veterinárias localizadas na região da Zona da Mata Mineira-MG, no período de agosto de 2017 até março de 2018, diagnosticadas com piometra e encaminhadas para o setor de cirurgia/anestesiologia, para a realização do procedimento cirúrgico de ovariosalpingohisterectomia (OSH).

Foram avaliadas as alterações no hemograma completo e bioquímica hepática e renal. No hemograma, foram avaliadas contagem de hemácias, hemoglobina, hematócrito, VGM (volume globular médio), HCM (hemoglobina corpuscular média), CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média) e plaquetas. Também foi avaliado o leucograma, com contagem diferencial de leucócitos, leucócitos totais, incluindo neutrófilos, bastonetes, eosinófilos, mielócitos, metamielócitos basófilos, linfócitos e monócitos. Na bioquímica, foram avaliados os níveis de ureia, creatinina, ALT (Alanina aminotransferase) e AST (Aspartato aminotransferase).

Os dados encontrados no presente trabalho foram comparados com os valores de referência para a espécie, descritos por Messick (2010) para o hemograma, Dibartola, (2012) para a classificação de anemia e Kaneko *et al.* (1997) para a bioquímica sérica renal e hepática.

Foi realizada análise descritiva dos dados, apresentando a média, bem como predomínio de alterações no hemograma, leucograma, plaquetograma, bioquímica hepática e renal e proteína plasmática de cadelas que foram atendidas e diagnosticadas com piometra.

4-RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados do hemograma, leucograma e bioquímica hepática e renal, estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Média e desvio padrão de hematócrito, hemoglobina, hemácias, VGM, CHCM, leucócitos, basófilos, eosinófilos, mielócitos, metamielócitos, bastonetes, neutrófilos, linfócitos, monócitos, plaquetas, proteína plasmática, ureia, creatinina, ALT e AST de cadelas atendidas com piometra no período de agosto de 2017 até março de 2018 em clínicas na Zona da Mata-MG.

Variável	Unidade	Valores de Referência	Média	Desvio Padrão
Hematócrito	%	37 - 55	36,3	8,6
Hemoglobina	g/dL	12 - 18	12,8	2,5
Hemácias	X10 ⁶ /μL	5,5 - 8,5	5,4	1,6
VGM	fl	60 - 77	70,7	3,2
CHCM	%	32 -36	33,1	0,7
Leucócitos	μL	6000 - 17000	28.780	160.95
Basófilos	μL	Raros	10	68
Eosinófilos	μL	100 - 1200	461	1.87
Mielócitos	μL	0	0	0
Metamielócitos	μL	0	0	0
Bastões	μL	0 - 300	2.299	4.731
Neutrófilos	μL	3000 - 11500	22.240	16.758
Linfócitos	μL	1000 - 4800	4.077	5.812
Monócitos	μL	150 - 1350	1.590	5.028
Plaquetas	μL	200000 - 500000	278.000	147.000
Proteína Total	g/dL	5,4 - 7,5	7	1,9
ALT	U/L	0 - 110	37,4	2,9
AST	U/L	0 - 100	38,8	22,5
Ureia	mg/dL	20 - 56	103,1	112,5
Creatinina	mg/dL	0,5 - 7,5	1,4	1,2

Valores de referência para a espécie canina segundo Messick (2010) e Kaneko *et al.* (1997).

Segundo González e Silva (2008), os valores do hematócrito, dos eritrócitos e concentração de hemoglobina são parâmetros utilizados para avaliar a presença de

anemia. O valor do hematócrito pode ser utilizado para classificar a gravidade da anemia na espécie canina em discreta (37 - 30%), moderada (29 - 20%) e muito grave (< 13%) (DIBARTOLA, 2012). Nos animais do presente estudo, foi observado valores médios do hematócrito de 36,3%, caracterizando predomínio de anemia discreta. Além disso, vinte e um animais (46,6%), não apresentaram anemia e dezessete animais (37,7%) apresentaram anemia discreta; sendo seis animais (13,3%) anemia moderada e um animal apresentou anemia grave, com hematócrito de 15%.

De acordo com Feldman (2004), é normal cadelas com piometra apresentarem anemia, que ocorre devido à migração de hemácias, para o interior do útero, em decorrência dos resultados da vasodilatação (FERREIRA, 2006) e inibição da resposta da medula óssea (FELDMAN, 2004). Além disso, pode ocorrer redução ou inibição da síntese de eritropoietina (GONZÁLEZ e SILVA, 2008).

O leucograma é um exame de grande importância na avaliação de cadelas com piometra (PRETZER, 2008). No presente estudo, os valores médios dos leucócitos totais foram de 28.780 μ L, corroborando com Pretzer (2008), que relata que a leucocitose é uma alteração frequente nestes animais. No presente estudo, nove animais (19,5%) estavam com valores dentro dos parâmetros de referência, um animal apresentou leucopenia (2,1%) e trinta e seis animais (78,2%) apresentaram leucocitose. Gonçalves (2010) também observou que a maioria dos animais estudados apresentou leucocitose (81%) e em 18% dos animais avaliados foi encontrado leucopenia. Resultado semelhante também foi observado por Mira (2010) e Albuquerque (2010) que observaram leucocitose em 75% e 71,8%, respectivamente, em cadelas com piometra.

A leucocitose é um indício de um processo infeccioso e inflamatório, em que os leucócitos são produzidos, consumidos e liberados com a finalidade de solucionar o processo infeccioso, por meio da passagem dos leucócitos do seu compartimento de origem para o local de inflamação, por meio de mediadores químicos (TRALL, 2007; WEISS e WARDROP, 2010).

Segundo Emanuelli (2007), números elevados de leucócitos estão relacionados à presença de *Escherichia coli* em quadros de piometra. Esta é uma bactéria gram negativa, responsável por causar infecções no sistema urinário, devido à sua afinidade pela flora vaginal, promovendo a infecção, com maior frequência, durante a abertura da cérvix no período do proestro ou estro (HAGMAN, 2004).

Os valores médios dos neutrófilos foram de 22.240 μ L, caracterizando neutrofilia. Com relação ao exame diferencial dos leucócitos, dos quarenta e cinco animais, três animais (6,6%) apresentavam neutropenia, trinta e quatro animais (75,5%) apresentavam neutrofilia e oito animais (17,7%) estavam com valores normais, corroborando com Gonçalves (2010) e Mira (2010) e o presente estudo que verificaram a presença de neutrofilia em 63% e 80% dos animais, respectivamente. Em um estudo realizado por MADDENS *et al.* (2011) em 60% dos animais avaliados foram encontrados leucocitose por neutrofilia.

O aumento de neutrófilos pode ser explicado devido à ocorrência de infecções que são provocadas por microrganismos, como por exemplo, em casos de piometra (SANTOS, 2003). Sendo assim, a quantidade de células que a medula óssea libera para circulação sanguínea é superior em relação ao consumo na região local do processo inflamatório. Em contrapartida, em alguns casos de neutropenia, que é indicativo de processos inflamatórios agudos, ocorre uma menor produção de células da medula óssea para circulação sanguínea, tornando-se insuficiente devido à grande quantidade de neutrófilos consumidos (WEISER, 2007).

A avaliação do número de bastonetes é importante em cadelas com piometra, pois o aumento do número dessas células é caracterizado como desvio à esquerda, quando associado à neutrofilia (FELDMAN, 2004; STONE, 2007). Os valores médios dos bastonetes foram de 2.299 μ L. Na avaliação dos neutrófilos bastonetes, de quarenta e cinco animais observados, sete animais (15,5%) apresentavam parâmetros normais e trinta e oito animais (84,4%) apresentaram valores acima do referencial para a espécie. Quando comparados os parâmetros laboratoriais com Mira (2010), também foi identificado que a maioria dos animais, 60%, apresentavam um aumento no número de bastonetes. Isso também foi constatado por Albuquerque (2010) em um estudo feito com 170 animais, onde 44,1% apresentavam aumento na contagem de bastonetes.

Segundo Feldman (2004) e Stone (2007), a neutrofilia associada a graus variáveis de maturidade celular, (> 300 bastonetes/ μ L), caracteriza um desvio à esquerda. É recorrente encontrar leucograma de animais com piometra, decorrente da infecção e sepse. Sendo assim, a maioria dos animais apresentou leucocitose por neutrofilia e desvio à esquerda regenerativo, compatível com o descrito por Mamão (2013) em cadelas apresentando piometra.

A avaliação do número de monócitos é importante em cadelas com piometra, visto que essas células são responsáveis por realizar fagocitose nos tecidos e o seu aumento é um indicativo de inflamação e infecção, independentemente se for um processo agudo ou crônico (BUSH, 2004; TRALL, 2007). Os valor médio do número de monócitos foi de 1.590/ μ L, sendo que trinta animais (65,2%) apresentavam valores normais para a espécie canina, seis animais (13%) com monocitopenia e dez animais (21,7%) com monocitose. Resultado diferente foi encontrado por Bartoskova *et al.* (2007) e Albuquerque (2010), em que cerca de 90% dos animais com piometra apresentaram aumento do número de monócitos.

Os valores médios dos linfócitos foram de 4.077 μ L, sendo que trinta e um animais (67,3%) apresentavam linfócitos dentro dos valores de referência, quatro animais (8,6%) apresentavam linfopenia e onze animais (23,9%) com linfocitose.

No presente estudo, os valores encontrados tanto para linfopenia quanto para linfocitose foram diferentes comparados a outros estudos. Segundo Albuquerque (2010), em sua avaliação de 170 animais, (42,9%) das cadelas apresentavam linfopenia, ao passo que apenas 7,1% apresentavam linfocitose. Resultado semelhante foi encontrado por Faldyna *et al.* (2001), segundo o qual a maioria dos animais observados apresentavam linfopenia. De acordo com Bush (2004), a linfopenia pode ser um processo indicativo de infecção bacteriana, ocasionado por processos endotoxêmicos e de sepse, comum nos casos de piometra. Por outro lado, linfocitose é o resultado de uma estimulação antigênica, que está diretamente relacionada a uma infecção crônica.

Com relação aos eosinófilos, o valor médio encontrado foi de 461 μ L, sendo que dezesseis animais (36,3%) estavam com valores normais, apenas cinco animais (11,3%) apresentava eosinofilia e vinte e três animais (52,2%) com eosinopenia. Com base nos estudos feitos por Evangelista, (2007) e Albuquerque (2010), foram observados resultados semelhantes aos da pesquisa, nos quais verificou-se que a eosinofilia ocorreu com pouca frequência nos animais estudados. Alguns fatores também podem ser indicativos de eosinofilia como: presença de parasitas e lesões (TRALL, 2007).

Com relação ao plaquetograma, o valor médio do número de plaquetas foi de 278.000/ μ L, sendo que vinte e sete animais (58,6%) estavam dentro dos valores de referência para a espécie; três animais (6,5%) apresentaram trombocitose e dezesseis

animais (34,7%) apresentaram trombocitopenia. A trombocitopenia é típica da piometra e é causada pelo consumo e destruição das plaquetas devido às infecções bacterianas, associado a uma resposta reduzida da medula óssea (BUSH, 2004; STOCKAM e SCOTT, 2001). No entanto, a frequência com que esta alteração hematológica ocorre difere-se entre os estudos. Albuquerque (2010) relatou que 24,1% das cadelas apresentaram trombocitopenia, já Gonçalves (2010) relatou que 63% de cadelas com piometra apresentaram diminuição do número de plaquetas.

A proteína total foi em média 7,0 g/dl, sendo que vinte e seis animais (57,7%) apresentavam valores dentro do padrão de referência, dezesseis animais (35,5%) acima dos valores de referência caracterizado como hiperproteinemia e três animais (6,6%) apresentavam valores abaixo dos valores de referência caracterizando hipoproteinemia. Segundo Albuquerque (2010), a maioria dos exames hematológicos de cadelas com piometra apresenta valores dentro da normalidade para a espécie ou hipoproteinemia, diferente do presente estudo em que a hiperproteinemia foi uma alteração mais frequente que a hipoproteinemia. A ocorrência de hiperproteinemia pode ser resultado de um processo de desidratação, como no caso de cadelas com piometra (NELSON e COUTO, 2001; VERSTEGEN, 2008).

Na avaliação das enzimas de função renal, a dosagem de ureia e creatinina foi realizada em apenas quatro animais. A média dos níveis plasmáticos de ureia foi de 103,1 mg/dl, sendo que dois animais (50%) apresentaram aumento de ureia e dois animais (50%) dentro dos valores de referência. De acordo com Mira (2010), foi constatado que, dos animais analisados, 45% apresentava uremia e Albuquerque (2010), que também verificou resultados semelhantes, 34,1%. Em relação à creatinina, a média dos níveis plasmáticos foi de 1,4 mg/dl, sendo que quatro animais apresentaram valores dentro do padrão de referência de creatinina e apenas um animal apresentou aumento, com valor de 3,8 mg/dl. De acordo com Evangelista (2009), ao estudar cadelas com piometra, verificou-se que 30% dos animais apresentavam aumento de creatinina. Correlacionando o aumento de ureia e o aumento da creatinina, ambas são causadas por uma desidratação, decorrente de azotemia pré-renal, justificada por uma diminuição da perfusão dos rins, ou uma azotemia renal, sendo necessária uma melhor avaliação do paciente (VERSTEGEN *et al.*, 2008).

No presente estudo, foi realizado um pequeno número de exames (quatro animais) para a dosagem de enzimas hepáticas das cadelas atendidas com piometra. A dosagem destas enzimas é importante em cadelas com piometra para avaliar a ocorrência de comprometimento hepático, visto que o aumento da enzima ALT, assim como a enzima AST, pode ser resultante de um processo inflamatório nas células hepáticas (SCOTT e STOCKHAM 2011). Isso ocorre devido à hipóxia celular, sepse e diminuição da circulação hepática, (FELDMAN 2004 e VERSTEGEN *et al.*, 2008). Segundo Lassen (2007), a ALT é uma enzima hepática muito específica na espécie canina e alterações nos seus valores de referência são indícios de que há alteração hepática. Ao contrário de AST que é uma enzima hepática muito sensível e menos específica. Segundo Lassen (2007), conclui-se que quaisquer alterações que comprometam a função do fígado, resultando em lesão hepática, como inflamação e presença de toxinas na circulação sanguínea, terão como resposta uma elevação na concentração de ALT e AST.

Conforme representado na tabela1 os valores médios de Alanina aminotransferase (ALT) foram de 37,4 mg/dL e Aspartato aminotransferase (AST) foram de 38,8 mg/dL. Devido ao pequeno número de animais, no presente estudo (três animais) não foi encontrado anormalidades de (ALT) e (AST). Porém, Albuquerque (2010) relatou um aumento nos níveis séricos de ALT e Mira (2010) um aumento na atividade de AST.

A avaliação clínica do animal por meio de exame físico, exames hematológicos e bioquímicos é importante para o prognóstico de piometra, bem como, para avaliação pré-anestésica por ser uma enfermidade de indicação cirúrgica. Pacientes anêmicos possuem menor capacidade de oxigenação tecidual. A hipoproteinemia é responsável por aumentar a ação dos fármacos sedativos, analgésicos e anestésicos gerais, devido à grande facilidade de se ligarem à proteína, permitindo maior concentração do fármaco em sua forma livre e aumentando os riscos de efeitos adversos (BRODBEL *et al.*, 2017). Já alterações hepáticas devem ser avaliadas pois o fígado é o principal órgão de metabolização de fármacos. Além disso, o efeito da anestesia tende a ser maior em pacientes com doença renal, desidratados ou urêmicos, aumentando o tempo de excreção de fármacos anestésicos e fármacos utilizados no período perioperatório, como anti-inflamatórios não esteroidais. (BRODBEL *et al.*, 2017).

5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os achados do hemograma, plaquetograma e bioquímica hepática e renal de cadelas com piometra, atendidas na Zona da Mata Mineira, pode-se concluir que as principais alterações foram: anemia discreta, leucocitose por neutrofilia com desvio à esquerda e aumento de ureia. Essas alterações são importantes para o prognóstico, bem como, planejamento anestésico de cadelas com piometra.

6- REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, M.C.S.C. **Relação entre os sinais clínicos e os achados laboratoriais de hematologia e provas bioquímicas em cadelas com piometra.** 2010. 91f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa.

ASHEIM, A. Pathogenesis of renal damage and polydipsia in dogs with pyometra, **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 147, n 7, p. 736-745, 1965.

BARSANTI, J.A. Genitourinary Infections. In: GREENE, C. E. (Ed). **Infectious Diseases of the Dog and cat.** 3° ed. Missouri: Saunders, cap. 91, p. 935-961, 2006.

BARTOSKOVA, A.; VITASEK, R.; LEVA, L.; FALDYNA, M. **Hysterectomy leads to fast improvement of haematological and immunological parameters in bitches with pyometra.** **Journal of Small Animal Practice**, v. 48, p.564 – 468, 2007.

BIGLIARDI, E.; *et al.*, Ultrasonography and cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. **Reprod Domest Anim.** V 39 p. 136-140,2004.

BOJRAB, M. J. **Mecanismo da moléstia na cirurgia dos pequenos animais.**3°ed. São Paulo. Roca, p. 598-601. 2014.

BOJRAB, M. J. **Mecanismo da moléstia na cirurgia dos pequenos animais.** 2 ed. São Paulo: Editora Manole. p. 665-669.1996.

BRODBEL, D. C.; FLAHERTY, D.; PETTIFER, G. R. **Risco Anestésico e Consentimento informado.** In: GRIMM, K. A.; LAMONT, L. A.; TRANQUILLI, W. J.; GREENE, S. A.; ROBERTSON, S. A. Lumb & Jones Anestesiologia e Analgesia Veterinária. 5 ed. Rio de Janeiro: Roca. p. 10. 2017.

BUSH, B.M. **Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais.** 1 ed. Rocca, Rio de Janeiro. 2004.

CHAN, L. Y., YU, L.C., LOK, Y.H., HUI, S.K Spontaneous uterine perforation of pyometra. A report of three cases. **J. Reprod. Med.**, V. 45, n.10, p.857-60, 2000.

CHATDARONG, S.; KUNKITTI, P.; SRISUWATANASAGUL, S. P2 **Distribution of Oestrogen Receptor and Progesterone Receptor and Leukocyte Infiltration in**

Canine Cervical Tissue. In: Proceedings 7th CHULALONGKORN UNIVERSITY VETERINARY SCIENCE THE ANIMAL COMPANY, 7,v.1, p.58. 2008.

CHEN, R. F.F.; ADDEO, P. M.D; SASAKI, A.Y. **Piometra Aberta em uma cadela de 10 meses.** Revista Acadêmica, edição n°.3, Curitiba. 5, p. 317-322, jul/set. 2007.

COGGAN, Jennifer Anne; et al. **Microbiological and histopathological aspects of canine pyometra.** São Paulo, v. 39, n 3, set. 2008.

COGGAN, J. A., MELVILLE, P. A., DE OLIVEIRA, C. M., MORENO, A. M. & BENITES, N. R. Microbiological and histopathological aspects of canine pyometra. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39(3), p. 477-483, 2008.

CONRADO, O. DE. F. **Aspectos clínico patológicos da piometra.** Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado à Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para obtenção do grau de médico veterinário. Porto Alegre, 2009/2.

COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais.** 2º edição. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2001. Capítulos 57. P. 676-684

DIBARTOLA, S. P.; BATEMAN, S. Introduction to fluid Therapy. In. DIBARTOLA, S. P. **Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders in Small Animal Practice.** 4. ed. USA. Elsevier. p. 331-350.2012.

DIBARTOLA, S. P. **Acid base disorders.** In. DIBARTOLA, S. P. **Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders in Small Animal Practice.** 4. ed. USA. Elsevier. p.217-295. 2012.

EMANUELLI M.P. **Hemograma,metabolismo oxidativo dos neutrófilos e peroxidação lipídica em cadelas com piometra por Escherichia coli.** Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria. 2007.

EGENVALL, A., BONNETT, B. N., OLSON, P., HEDHAMMAR, A. Gender, age and breed pattern of diagnoses for veterinary care in insured dogs in Sweden during 1996. **Vet. Rec.**, v. 146, n.19, p. 551-7,2000.

EVANGELISTA, L. S. M.; QUESSADA, A. M., LOPES, R. R. F. B.; ALVES, R. P. A.; GONÇALVES, L.M.F.; DRUMOND, K.O. Perfil clínico e laboratorial de gatas com piometra antes e após ovariectomia. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v. 35, n. 3, p. 351, jul. /set. 2011.

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 ovariectomia. Acta Veterinária Brasileira, v.4, n.3, p.153-161, 2010.

FALDYNA, M.; LAZNICKA, A.; TOMAN, M. Immunosuppression in bitches with pyometra. **Journal of Small Animal Practice**, v.42, p.5 – 10, 2001.

FELDMAN, E. C. O complexo hiperplasia endometrial cística/piometra e infertilidade em cadelas. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**, 5ª ed, Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2156 p., 2004.

FELDMAN, E. C.; NELSON, R. W. **Canine and feline endocrinology and reproduction**. 2.ed. Philadelphia: Wb Saunders Company, p 605-618. 1996.

FELDMAN, E.C.; NELSON, R.W. **Canine and feline endocrinology and reproduction**. 3. ed, Philadelphia: WB Saunders Company, p.852-858, 2004.

FERREIRA, P.C.C. **Avaliação da hemodiafiltração no período peri-operatório da ovarião-salpingo-histerectomia, em cadelas com piometra e refratárias ao tratamento conservador da insuficiência renal aguda**. 2006. 176f. Tese (Doutorado Clínica Cirúrgica Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo.

FIDALGO, F. P. L.; **Complexo hiperplasia quística do endométrio-piometra na cadela**. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária- Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2008.

FIENI F. Patologia de lós ovaries y El útero. P.75-89. Wanke M.M & Gobello C. (ed). **Reproducción em caninos y felinos domésticos**. Editora Intermédica. Buenos Aires. 2006.

FOSSUM, T.W. **Cirurgia de pequenos animais**. 2ºed. São Paulo: Roca, p.637-638, 2005.

FRANSSON, B. A. Canine Pyometra: An Update on Pathogenesis and Treatment. **Compendium**. v. 25, n.08, p. 602-612, 2003.

GALADIMA, M.; OGWU D.; ALBERT B.O.; ZOAKA. A.H.; **An incidence of cystic endometrial hiperplasia-pyometra complex in a nigerian local breed bitch treated with medroxyprogesterone acetate (mpa) as a contraceptive**. Journal of Veterinary Medicine and animal heath, Departament of veterinary surgery and medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ahmadu Bello University, Zaria, Kaduna state, Nigéria. Accepted 28 March, 2013.

GARCIA FILHO, P.S.; MARTINS, L.L.; MACHADO, S.A.; MACHADO, F.R.M. Piometra em cadelas: Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**-inss: 1679-7353, ano ix- número18- Janeiro de 2012.

GONÇALVES, R.P.M. **Coagulograma em cadelas com piometra e síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS)**. 2010. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

GONZÁLEZ, D. F.A. **Patologia Clínica Veterinária**: Texto introdutório- Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

GORRICHIO, C. M.; CAMPOS, A. G. de. **Ocorrência de piometra em cadelas atendidas nas clínicas veterinárias no município de Ituverava/SP no primeiro**

semestre de 2011. Revista científica eletrônica de Medicina Veterinária- ISSN: 16797353. Ano IX- Número 1- Janeiro de 2012- Periódicos Semestral.

GUTIERREZ, R. R. **Exames laboratoriais importantes no diagnóstico da piometra canina. Trabalho de conclusão de Graduação.** Monografia. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Júlio de Mesquita Filho, campus de Botucatu, SP, 2009.

HAGMAN, R.; LAGERSTEDT, A.S.; HEDHANMAR, A.; EGENVALL, A. A breedmatched case-control study of potential risk-factors of canine pyometra. **Theriogenology**, v.75, p.1251-1257, 2011.

HAGMAN, R., REEZIGT, B. J., LEDIN, H. B & KARLSTAM, E. Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 51(2),p.1-9, 2009.

HAGMAN, R. **New aspects of canine pyometra-studies on epidemiology and pathogenesis.** 2004. 55f. Tese (Doutorado)- Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 2004.

HAGMAN, R.; KINDAHL, H.; LAGERSTEDT. Pyometra in bitches induces elevated plasma endotoxin and prostaglandin f2 α metabolite levels, **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 47, p. 55-68, 2006.

HEDLUND, C. S. Cirurgia dos Sistemas Reprodutivo e Genital. In: FOSSUN, T. W. *et al.* **Cirurgia de Pequenos Animais**, 2^o ed, São Paulo: Roca, p.610-675, 2005.

JOHNSTON, S. D.; KUSTRITZ, M. V. R.; OLSON, P.N.S. **Canine and feline theriogenology.** 1. ed. Philadelphia: WB Saunders Company, p. 206-224, 2001.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Blood Analyte Reference Values in Small and Some Laboratory Animals. In. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals.** 6 ed. London. Elsevier. p. 889-995. 1997.

KAYMAZ, et al. The Use of Laboratory findings in the diagnosis of CEH- Pyometra Complex in the Bitch. **Journal of Veterinary and Animal Science.** V23, p. 127-133, 1999.

KUSTRITZ, M.V.R. Pregnancy diagnosis and abnormalities of pregnancy in the dog. **Theriogenology**, v.64, p.755-765, 2005.

MADDENS, B.; HIENE, R.; SMETS, P. *et al.* Evaluation of Kidney Injury in Dogs with Pyometra Based on Proteinuria, Renal Histomorphology, and Urinary Biomarkers. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.25, p.1075 – 1083. 2011.

LITTLE S. **Feline reproduction and breeding management.** Disponível em: <http://www.cfainc.org/articles/reproduction.pdf>. 2005.

MAMÃO, D. L.; **Avaliação clínica, laboratorial, e hemogasométrica de cadelas com piometra.** Dissertação apresentada à UFMG, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em ciência animal, na área de Medicina e Cirurgia veterinárias. Belo Horizonte, Escola Veterinária, 2013.

MARTINS, L. R.; et al.; Correlação entre a ocorrência de piometra em cadelas nulíparas e múltiparas submetidas ou não ao tratamento com anticoncepcionais. In: **Mostra de Iniciação Científica**, Botucatu: UNESP, 2002.

MASTROCINQUE, S. Anestesia em Ginecologia e Obstetrícia. In: FANTONI, D.T.; CORTOPASSI, S.R.G. **Anestesia em cães e Gatos**. 1.ed. São Paulo, Roca. 2002. P. 231-238.

MESSICK, J.B. Eritrocytes. In. WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6 ed. Iowa. Blackwell. p. 121-260. 2010.

MIRA, A. Firocoxib (Previcox®) no **Tratamento da Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica em Cadelas com Piometra**. 2010. 134f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Paraná. Curitiba.

MOURA, A.V.C de. **Avaliação dos parâmetros clínicos e da concentração sérica da proteína c reativa em cadelas com piometra**. Trabalho de conclusão de curso (Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2014.

MOURA J.C.S. **Piometra em cadelas no Hospital Veterinário Universitário da Universidade Federal do Piauí**. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal do Piauí, Teresina. 2007.

NATH, K.; TIWARI, S. K.; KALIM, O. Physiological and haematological changes in bitches with pyometra. **Indian Veterinary Journal**, v. 86, p. 734-736, 2009.

NATH, K.; TIWARI, S. K.; SHARDA, R.; KALIM, M. O. Pyometra induced biochemical changes in bitches. **Indian Veterinary Journal**, v. 86, p. 853-855, 2009.

NELSON, R.W.; COUTO C.G. Distúrbios da vagina e útero. In: **Fundamentos da medicina interna de pequenos animais**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan. p. 486-87, 2006.

NOVAKI, R.A. **Complexo hiperplasia endometrial cística-piometra de cérvix fechada na espécie canina**. Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Ciências Biológicas e de Saúde da Universidade Tuiuti do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de médico veterinário. Curitiba, 2016.

OLIVEIRA, K.S. Complexo Hiperplasia Endometrial Cística. **Acta Scientiae Veterinariae** n. 35, p. 270-272. 2007.

PAYAN CARREIRA, R.; PIRES, M. A. **Hiperplasia Quística do endométrio em cadelas**. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 5001-801 Vila Real, 2005.

PAVÉGLIO, D.F.; DECIAN, P; ZOCCHETTO, T.; BORGES, K.F.L. **Piometra em cadela: relato de caso**. Universidade de Cruz Alta, 2014.

PEREIRA, R.S.M; SILVA, R.P. **Relato de caso piometra em cadela.** Simpósio de TCC e seminário de IC, 2016.

PÖPPL, M.V.G.A. **Avaliação da influência do ciclo estral e da hiperplasia endometrial cística- piometra sobre a sensibilidade à insulina e características da ligação hormônio-receptor em músculo de fêmeas caninas.** Projeto de mestrado apresentado ao curso de pós-graduação em ciências biológicas: fisiologia como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em fisiologia. Porto alegre, 2008.

PRETZER, S D. Clinical presentation of canine pyometra and mucometra: Are view, **Theriogenology**, v. 70, p. 359-363. 2008.

ROS, LINNEA, HOLST, Bodil Strom; HAGMAN, Ragnvi. **A restropective study of bitches with pyometra, medically treated with aglespristone.** Elsevier, 2014.

SANTOS JÚNIOR, J.C.M. Rubor, calor, tumor e dor e o paciente grave. **Revista Brasileira de Coloproctologia**, v.23, p.206-210, 2003.

SHAW, D.; IHLE, S. **Medicina interna de pequenos animais.** Porto Alegre: Artes Médicas Sul. p.465-467.1999.

SCHWEIGERT, A; SILVA A. A.; CORREA NETO, J. U.; ORLANDI, B. M.C.; RODIGHIERI, M. S. **Complexo hiperplasia endometrial cística (Piometra) em cadelas-Diagnóstico e terapêutica.** Colloquium Agrariae, v. 5, n_1, Jan-Jun. p. 32-37. DOI: 10.5747/ca. 2009. v05_nl. A 043. 2009.

SETTI, F.R.T. **Piometra em cães-relato de caso.** Trabalho de conclusão de curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Ciências Biológicas e de Saúde da Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, 2016.

SMITH, F.O. Canine pyometra. **Theriogenology**.v. 66, p. 610-612, 2006.

SORRIBAS, C.E. **Atlas de reprodução canina.** São Caetano do Sul: Interbook, p.348. 2006.

STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária.** 2.ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 2011.

STONE, E.A. Ovário e Útero. IN: SLATTER, D. **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais.** 3.ed. Vol. 2. Nova York. Elsevier. 2007. P.1487 – 1502.

STURION, J. D.; STURION, T. T.; STURION, T. A. M.; MOYA-ARAUJO F. C. **Piometra associada a Leiomioma Uterino em Cadelas-** Relato de dois casos. Medicina Veterinária/Faculdades Integradas de Ourinhos. Ciência animal 21(1):30-34, 2011.

THRALL, A. M. *et al.* **Hematologia e bioquímica clínica veterinária-** São Paulo: Roca, 2006.

TRALL, M.A. Hematologia nas espécies domésticas comuns. In. TRALL, M.A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1.ed. São Paulo. Roca. 2007. p.63 – 188.

TRISTÃO, D.C.P.A. **Avaliação dos parâmetros de exame físico, hematológicos e eletrocardiográficos em cadelas com piometra**. Monografia (Bacharelado em Medicina Veterinária) Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2013.

VERSTEGEN, J.; DHALIWAL, G.; VERSTEGEN-ONCLIN, K. Mucometra, cystic endometrial hyperplasia, and pyometra in the bitch: Advances in treatment and assessment of future reproductive success. **Theriogenology**.v.70, p. 364-674, 2008.

VOLPATO, R.; MARTIN, I.; RAMOS, R.S.; TSUNEMI, M.H.; LAUFER-AMORIN, R.; LOPES, M.D. Imunoistoquímica de útero e cérvix de cadelas com diagnóstico de piometra. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.64, n.5, p.1109-1117, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (Unesp-Botucatu) 2012.

WEISER, G. Interpretação da Resposta Leucocitária nas Doenças. In: THRALL, M.A (Ed). **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Roca, cap. 12. p. 127-140. 2007.

Weiss, D. J. & Wardrop, J. K. 2010. **Schalm's Veterinary Hematology**, Iowa, USA.

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA CARNE BOVINA MOÍDA COMERCIALIZADA NAS CIDADES DE MATIPÓ E MANHUAÇU, MINAS GERAIS

Acadêmicas: Jardelly Guimarães Valadares e Thaynara Fagundes de Abreu
Orientadora: Letícia Ferreira da Silva

RESUMO

A carne é o produto de origem animal mais valorizado por suas características nutricionais e sensoriais. Contudo, devido à higienização inadequada de utensílios, equipamentos e à excessiva manipulação, a carne bovina moída é frequentemente vinculada aos surtos de doenças transmitidas por alimentos. Assim, objetivaram-se com esse trabalho avaliar a qualidade microbiológica e a inocuidade da carne bovina moída comercializada em diferentes estabelecimentos localizados nos municípios de Matipó e Manhuaçu, ambos em Minas Gerais, por meio da pesquisa de *Salmonella spp.* e de *Listeria monocytogenes*. Para isso, foram adquiridas cinco amostras de carne bovina moída em cada uma das cidades estudadas. As análises microbiológicas foram realizadas com base na IN nº62, de 26 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. As amostras de Matipó foram positivas tanto para *Salmonella spp.* (2, 3 e 4) quanto para *L. monocytogenes* (1 e 2), assim como as amostras de Manhuaçu, com resultados positivos para ambos os patógenos (*Salmonella spp.*, amostras 6, 7 e 9; e *L. monocytogenes*, amostras 6, 7, 8 e 10). Conclui-se, portanto, que as carnes comercializadas em oito dos dez estabelecimentos amostrados não se encontram aptas ao consumo humano, uma vez que apresentam riscos à saúde pública.

Palavras-chave: Contaminação, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, saúde pública.

1. INTRODUÇÃO

A carne bovina é um produto de origem animal rico em nutrientes, de grande importância para garantir a energia necessária ao funcionamento adequado do organismo humano (SILVA *et al.*, 2015). Com o objetivo de aumentar a variedade de produtos disponíveis ao consumidor, diversas formas de processamento e transformação são empregadas nesse alimento. Uma das formas mais simples e comum de transformação é pelo processo de moagem, dando origem a carne moída (ORDÓÑEZ, 2005), que possui grande aceitação pela população devido à sua praticidade e à sua acessibilidade, além de ser uma carne de baixo valor tributário. (LUZ *et al.*, 2015).

Apesar das inúmeras vantagens, os produtos cárneos estão frequentemente associados a surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA), uma vez que suas características intrínsecas favorecem o crescimento microbiano, como a variedade de nutrientes, a elevada atividade de água e a baixa acidez (AMSON, HARACEMIV &

MASSON, 2006; DIAS *et al.*, 2008; FERREIRA & SIMM, 2012). A carne bovina moída é, por exemplo, conhecidamente importante fonte primária dessas doenças, principalmente devido à manipulação excessiva, à sua maior superfície de contato com o ambiente e à utilização de equipamentos e utensílios com higiene deficiente, fatores que predispõem a sua contaminação (MARCHI, 2006; MANTILLA *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2010; MELO & RESENDE, 2012; ALMEIDA & BONI, 2015).

Entre os micro-organismos mais frequentemente isolados de amostras de carne bovina moída comercializadas no Brasil, destacam-se os coliformes totais e termotolerantes (ABREU *et al.*, 2011; MELO & RESENDE, 2012; LEÃO *et al.*, 2015), *Pseudomonas* (ANJOS & SANTOS, 2010), *Enterococcus* (ANJOS & SANTOS, 2010), *Salmonella* spp. (DIAS *et al.*, 2008; DAMER *et al.*, 2014; LEÃO *et al.*, 2015), *Listeria monocytogenes* (MONTEIRO *et al.*, 2013) e *Staphylococcus aureus* (ABREU *et al.*, 2011; LEÃO *et al.*, 2015).

Em virtude desse elevado risco à saúde pública, a legislação brasileira, estabelecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), define que a carne só deve ser comercializada quando aptas ao consumo, ou seja, quando se apresentarem inócuas, isentas de qualquer micro-organismo patogênico em 25 g do produto. (BRASIL, 2001).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica e a inocuidade da carne bovina moída comercializada em diferentes estabelecimentos comerciais localizados nas cidades de Matipó e Manhuaçu, Minas Gerais, durante o mês de fevereiro de 2018, em relação a presença de *Salmonella* spp. e de *Listeria monocytogenes*, visando alertar a população local sobre possíveis riscos à saúde.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

Doenças transmitidas por alimentos (DTA) consistem em síndromes causadas pela ingestão de alimentos ou água contaminados seja por toxinas, bactérias, vírus, parasitos ou substâncias químicas (BRASIL, 2010). Atualmente existem cerca de 250 diferentes tipos de DTA (OLIVEIRA *et al.*, 2010) que, em sua maioria, são caracterizadas por manifestações clínicas como anorexia, diarreia, náuseas, vômitos e dores abdominais, sendo acompanhadas ou não de febre (BRASIL, 2010; CARSTENS, 2006). Contudo, também podem ocorrer complicações extraintestinais

dependendo do agente etiológico, como, por exemplo, a síndrome de Reiter após salmonelose, e o abortamento ou meningite em casos de listeriose. (BRASIL, 2010).

A incidência e o espectro das DTA vêm aumentando nos últimos anos, uma vez que toda a população é susceptível e que a contaminação dos alimentos pode ocorrer em qualquer etapa da cadeia produtiva. Além disso, outros fatores contribuem para a emergência dessas doenças, como a produção de alimentos em larga escala, a mudança dos hábitos alimentares, a educação em saúde deficiente e os fatores culturais (BRASIL, 2010). Segundo dados do Ministério da Saúde (MS), foram registrados 12.503 surtos de DTA no Brasil entre os anos de 2000 e 2017 (BRASIL, 2018). Entretanto, é importante ressaltar que apenas uma pequena fração dos casos é, de fato, notificada, uma vez que geralmente trata-se de doenças autolimitantes o que leva o paciente a não procurar por serviço médico. (DAMER *et al.*, 2014).

Entre as regiões brasileiras, o Sudeste apresenta, desde 2009, a maior frequência de notificação de surtos, sendo responsável por 39,2% dos casos registrados no país entre 2000 e 2017 (BRASIL, 2018). A carne é conhecidamente um importante veículo de patógenos nas DTA (NASCIMENTO *et al.*, 2014) e, nesse mesmo período, a carne bovina *in natura*, seus processados e miúdos foram incriminados em 2,39% das notificações, estando entre os três principais produtos de origem animal envolvidos em surtos (BRASIL, 2018). Corroborando com essa informação, após análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de DTA no Rio Grande do Sul nos anos de 2006 e 2007, verificou-se que os produtos cárneos (principalmente a carne bovina) foram os mais incriminados, em 36% dos casos (WELKER *et al.*, 2010). Ainda, entre os agentes etiológicos, as bactérias foram identificadas como responsáveis em 92,2% dos casos. (BRASIL, 2018).

2.1.2 *Salmonella* spp. E SALMONELOSE

As bactérias do gênero *Salmonella*, pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, são bastonetes Gram negativas não formadoras de esporos, catalase positivo, oxidase negativa e, na maioria das vezes, são móveis. O gênero é constituído por duas espécies, *S. enterica* e *S. bongori*, sendo que somente a primeira é considerada patogênica ao homem e aos animais. Trata-se, ainda, de uma bactéria sensível ao calor, não sobrevivendo a temperaturas superiores a 70°C (BRASIL, 2011).

Já a salmonelose é uma infecção alimentar caracterizada por diarreia, febre e dores abdominais, que aparecem após um período de incubação que varia de 12 a 72

horas. Trata-se de uma doença autolimitante e os sintomas têm duração de quatro a sete dias, não se fazendo necessário o tratamento. Todavia, em alguns casos a diarreia pode se tornar severa e, nesses pacientes, há o risco de ocorrência de septicemia e, conseqüentemente, morte, caso não seja iniciada terapia imediata com antimicrobiano. Embora todos sejam susceptíveis à salmonelose, as crianças se encontram no principal grupo de risco, principalmente àquelas com menos de cinco anos de idade. Idosos e pacientes imunocomprometidos também são mais propensos a desenvolverem essas infecções mais severas. (CDC, 2018b).

De acordo com o perfil epidemiológico traçado pelo MS, *Salmonella* spp. foi o agente etiológico mais identificado em surtos de DTA no Brasil nos últimos 18 anos, sendo responsável por pouco mais de 30% dos casos reportados (BRASIL, 2018). Welker *et al.* (2010) também relataram que *Salmonella* spp. foi o principal micro-organismo isolado de pacientes com DTA (37% dos casos) no Rio Grande do Sul entre 2006 e 2007. Ainda, reforçando a sua importância, estima-se que tal patógeno cause um milhão de casos de DTA por ano nos Estados Unidos, onde os surtos envolvem diferentes tipos de alimentos. (CDC, 2018c).

Apesar da maior parte dos casos envolvendo esse micro-organismo estar relacionada ao consumo de ovos e frango, outros alimentos como a carne bovina também podem ser considerados fontes de infecção (COSTALUNGA & TONDO, 2002; KOTTWITZ *et al.*, 2010; CDC, 2018c). Entre os fatores determinantes para a sua ocorrência nos alimentos destaca-se a manipulação inadequada dos mesmos e a utilização de matéria-prima não inspecionada (NADVORNY *et al.*, 2004). Essa infecção alimentar é, portanto, uma das principais zoonoses em todo o mundo, sendo um desafio à saúde pública devido à sua alta prevalência e conseqüente perda na economia de um país e à dificuldade do seu controle (TIROLI & COSTA, 2006; SHINOHARA *et al.*, 2008; KOTTWITZ *et al.*, 2010).

2.1.3 *Listeria monocytogenes* E LISTERIOSE

O gênero *Listeria* é composto por seis diferentes espécies, sendo elas *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* e *L. welshimeri*. Somente duas dessas espécies são consideradas patogênicas, *L. monocytogenes*, capaz de causar doença em humanos e em animais, e *L. ivanovii*, patógeno somente de animais (GUAHYBA, 2012). As bactérias pertencentes a esse gênero são bacilos Gram-

positivos, não formadores de esporos, catalase positivo e oxidase negativa, com diâmetro de 0,4 a 0,5 µm e comprimento de 0,51 a 2,0 µm. São micro-organismos capazes de sobreviver em valores de pH de 4,0 a 9,6, embora sua faixa ótima crescimento seja em torno de pH entre 6,0 e 8,0. Possuem temperatura ótima de crescimento entre 30 a 37°C, mas o seu crescimento também é possível em temperaturas que variam entre -0,4° e 45°C (BARROS, 2005; VÄLIMAA *et al.*, 2015).

Pela capacidade de formar biofilmes e se multiplicar em ambientes refrigerados, *Listeria monocytogenes* é considerada um micro-organismo ubiqüitário, de preocupação a nível mundial. Além disso, a atividade de água ótima para seu crescimento é próxima a 0,97, tornando-se assim, o segundo principal patógeno de origem alimentar, atrás apenas dos estafilococos que tem capacidade de crescer em atividade de água menor a 0,93 (SILVA, 2009; BONSAGLIA, 2012).

A listeriose é uma importante infecção alimentar causada pela ingestão de alimentos contaminados por *L. monocytogenes*. Os sintomas variam de acordo com o paciente e com o órgão ou tecido acometido, com quadros simples de diarreia e febre, quando a doença raramente é diagnosticada por ser autolimitante, até casos mais graves de septicemia, conhecidos como listeriose invasiva, quando um a cada cinco doentes vem a óbito (CDC, 2018a). Nesse último, estão entre os mais susceptíveis as gestantes, os recém-nascidos, os idosos e as pessoas com o sistema imune comprometido (SILVA, 2009). Em gestantes, essa bactéria é capaz de ocasionar abortamento (20% dos casos) e parto prematuro seguido de morte do recém-nascido (3% dos casos). Já nos demais grupos de risco, essa pode causar dores de cabeça, confusão mental, perda de equilíbrio, convulsões e meningite. O período de incubação nesses casos é de uma a quatro semanas, podendo chegar até a 70 dias (BLUM-MENEZES *et al.*, 2013; CDC, 2018a).

Estima-se que cerca de 1.600 pessoas tenham listeriose por ano nos Estados Unidos e dessas, cerca de 260 morrem em decorrência da doença (CDC, 2018a). Os casos estão associados ao consumo de alimentos contaminados, como queijo, leite, carnes, vegetais, crus ou processados (SILVA, 2009; VÄLIMAA *et al.*, 2015). No Brasil, a listeriose não é uma doença de notificação obrigatória; assim, apenas alguns casos esporádicos já foram reportados, sendo que nenhum deles ocorreu em pessoas não hospitalizadas. (BLUM-MENEZES *et al.*, 2013).

2.2 CARNE BOVINA MOÍDA

A carne bovina é considerada um dos alimentos mais importantes para a população brasileira, tanto pelo seu valor nutritivo quanto pelo seu aspecto sensorial (ORDÓÑEZ, 2005; HANGUI *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2015). Trata-se de um produto de origem animal rico em proteínas de alto valor biológico, em vitaminas (vitaminas A e do complexo B) e em minerais, como o ferro (ORDÓÑEZ, 2005; SILVA *et al.*, 2015). Todavia, essa riqueza nutricional é associada à elevada atividade de água da carne, uma vez que o tecido muscular contém aproximadamente 75% de água, tornando-a um alimento altamente perecível. (MARCHI, 2006; ORDÓÑEZ, 2005; GOMIDE, RAMOS & FONTES, 2013).

A carne moída proporciona maiores riscos aos consumidores por oferecer vários fatores que favorecem a sua contaminação, como a maior superfície de contato e a manipulação (LOGUERCIO, SILVA & ALEIXO, 2002; HANGUI *et al.*, 2015). Quando ocorre a manipulação da carne, seja ela fresca ou congelada, nos açougues para que seja preparada a carne moída, existe grande possibilidade de contaminação desse alimento por diversos gêneros bacterianos, quando se compara às carnes que passam pelo processo de transformação por moagem diretamente na indústria. (MARCHI, 2006).

Um fator importante para garantir a inocuidade e a qualidade microbiológica da carne moída é a higienização dos equipamentos, uma vez que podem favorecer a contaminação cruzada do produto (MARCHI, 2006). Alguns estudos já relataram a presença de micro-organismos patogênicos como *L. monocytogenes* (SILVA *et al.*, 2015; COELHO *et al.*, 2016) e *Salmonella* spp. (CARRASCO, MORALES-RUEDA & GARCÍA-GIMENO, 2012) em moedores de carne de estabelecimentos comerciais. Assim, a presença de patógenos em utensílios de açougue é preocupante, pois pode resultar em vários casos de DTA veiculadas pela carne. (FRANCO & LANDGRAF, 2005).

Corroborando esses argumentos, pesquisas sobre a análise microbiológica de carne bovina moída comercializada em diferentes regiões do Brasil comumente descrevem a ocorrência de *Salmonella* spp. (AQUINO, VASCONCELOS & SILVA, 1992; LOGUERCIO, SILVA & ALEXIO, 2002; DIAS *et al.*, 2008; FERREIRA & SIMM, 2012; DAMER *et al.*, 2014; LEÃO *et al.*, 2015) e também de bactérias do gênero *Listeria* (MANTILLA *et al.*, 2007; COSTA, 2010; MONTEIRO *et al.*, 2013). Ainda, como

são microrganismos que se encontram em grande escala na natureza, a contaminação dos produtos cárneos pode se dar por bactérias presentes na água, no ar, no solo, no trato gastrointestinal dos seres humanos e de animais, nas mãos e no trato respiratório das pessoas que trabalham diretamente com os alimentos, nas carcaças de bovinos, nos equipamentos e materiais de cozinhas e abatedouros frigoríficos. (MELO & RESENDE, 2012).

3. METODOLOGIA

3.1 AQUISIÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram adquiridas dez amostras de 100 g de carne moída, comercializadas em diferentes estabelecimentos nos municípios de Matipó (n=5; amostras 1, 2, 3, 4 e 5) e Manhuaçu (n=5; amostras 6, 7, 8, 9 e 10), ambos localizados no estado de Minas Gerais. Todas as carnes passaram pelo processo de moagem no ato da compra e foram acondicionadas nas embalagens próprias de cada estabelecimento comercial.

Após a aquisição, as amostras foram acondicionadas em caixa isotérmica contendo gelo e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do Hospital-Escola Gardingo da Faculdade Vértice, onde as análises microbiológicas foram realizadas, a pesquisa consistiu em um estudo quantitativo experimental.

3.2 PESQUISA DE *Salmonella* spp.

Nessa etapa do estudo, foi adotada uma adaptação do protocolo definido no capítulo XV da Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003, do Mapa (BRASIL, 2003). Para isso, foram pesadas, de forma asséptica, 2,5 g de cada amostra de carne moída, que posteriormente foram adicionadas em 22,5 mL de solução salina peptonada 1% tamponada e homogeneizadas por um minuto. As amostras foram, então, deixadas em temperatura ambiente por uma hora e, em seguida, incubadas a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 20 horas.

Após essa fase de pré-enriquecimento, 0,1 mL de cada amostra foram transferidos para tubos contendo caldo Rappaport Vassiliadis (Oxoid), sendo incubadas a $41^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, por 30 horas, para a fase de enriquecimento seletivo.

A partir do caldo seletivo de enriquecimento, as amostras foram repicadas em placas contendo ágar MLCB (Oxoid), meio sólido seletivo para *Salmonella* spp. As placas foram incubadas a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24 horas, e, após esse período, foram

selecionadas colônias suspeitas (colônias negras) para a realização das provas bioquímicas de confirmação: prova da catalase, reação em ágar TSI incubadas a 37° C por 24 horas e o teste de coloração de gram.

3.3 PESQUISA DE *Listeria monocytogenes*

Para a pesquisa de *L. monocytogenes* foi adotado o protocolo adaptado de pesquisa de *Listeria* spp. em alimentos cárneos também estabelecido pela Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003, do Mapa, no capítulo XIV. (BRASIL, 2003).

Inicialmente, 2,5 g de cada amostra foram acondicionadas em frascos estéreis contendo 22,5 mL de caldo de enriquecimento para *Listeria* (LEB) (Oxoid), seguido de homogeneização, e incubadas a 30°C por 24 horas. Após este período, foram transferidos 0,1 mL da cultura para tubos contendo 10 mL do caldo Fraser (Oxoid), sendo novamente incubadas a 30°C por 48 horas.

Após as etapas de enriquecimento seletivo, foi, então, realizado o isolamento de *Listeria* spp., quando as culturas obtidas foram repicadas em placas contendo ágar Oxford (AO) (Oxoid). A incubação das amostras foi realizada a 30°C por 48 horas, sendo, em seguida, realizada a leitura dos resultados. Colônias pretas rodeadas por halo escuro em AO foram consideradas típicas de *Listeria* spp.

As colônias típicas foram então utilizadas para a realização de uma prova bioquímica de confirmação, a 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 a pesquisa de *Salmonella* spp. e pesquisa de *L. monocytogenes* por amostra e entre os diferentes municípios amostrados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após a análise das dez amostras, somente seis apresentaram crescimento de *Salmonella* spp. O resultado foi confirmado tanto pela característica de colônia apresentada no ágar MLCB (FIGURA 1), quanto pelas provas de confirmação, catalase, coloração de Gram e reação em ágar TSI. (FIGURA 2).



Figura 1. Colônias características de *Salmonella* spp. (negras brilhantes) em ágar MLCB.

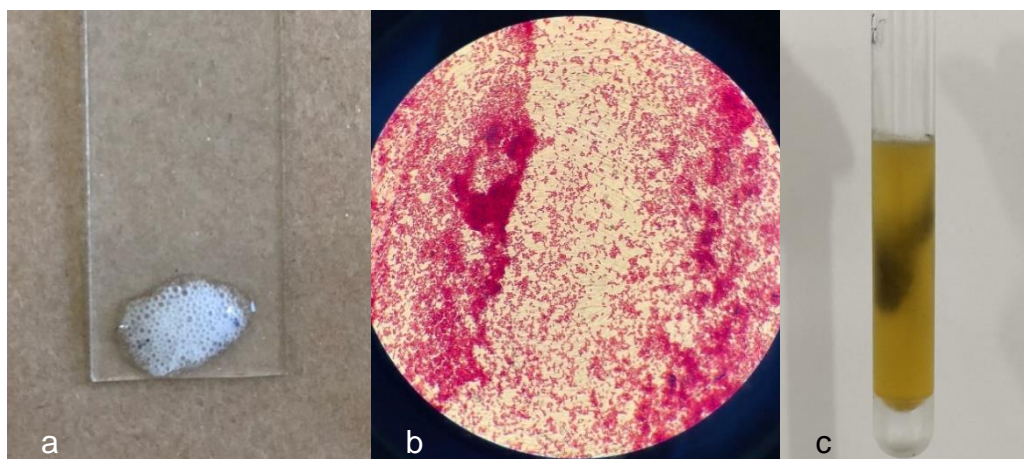


Figura 2. Resultados das provas de confirmação de *Salmonella* spp.: a) Reação positiva à prova da catalase; b) Bacilos Gram-negativos à coloração de Gram (100x); c) Produção de gás e H₂S no ágar TSI.

Das seis amostras positivas, três eram provenientes do município de Matipó (2, 3 e 4) e três foram adquiridas no município de Manhuaçu (6, 7 e 9), correspondendo a 60% das amostras adquiridas em cada uma das duas cidades e a 60% do total de amostras analisadas em desconformidade com a legislação brasileira, Resolução RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001, que preconiza a ausência de tal patógeno em 25g de amostra (BRASIL, 2001) (TABELA 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Ferreira *et al.* (2006) que, ao analisarem 150 amostras de carne bovina moída comercializadas nos açougues da cidade do Rio de Janeiro e municípios vizinhos, verificaram que 78 apresentaram-se contaminadas por *Salmonella* spp., correspondendo a 52% de amostras fora do padrão. Ainda corroborando os dados exibidos na Tabela 1, embora em menor proporção, Damer *et al.* (2014) encontraram

duas amostras positivas (14,8%), das 14 amostras de carne bovina moída coletadas no Noroeste do Rio Grande do Sul, para o patógeno em questão; assim como Leão *et al.* (2015) que observaram, das 16 amostras analisadas, quatro amostras positivas (25%) para esse mesmo micro-organismo; e Ferreira e Simm (2012), que encontraram uma de seis amostras coletadas em um açougue da região central de Pará de Minas positiva para *Salmonella* spp., correspondendo a 16,7% do total analisado.

Tabela 1. Pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* em amostras de carne bovina moída, comercializadas nas cidades de Matipó e Manhuaçu, Minas Gerais

Carne bovina moída	Presença de <i>Salmonella</i> spp.	Presença de <i>Listeria monocytogenes</i>
Matipó	1	-
	2	Presente
	3	Presente
	4	Presente
	5	-
Manhuaçu	6	Presente
	7	Presente
	8	-
	9	Presente
	10	-

Nota: (-) = Ausente (micro-organismo em questão não foi encontrado na amostra analisada).

A contaminação das carnes por *Salmonella* spp. pode acontecer em qualquer etapa da cadeia de obtenção do produto final, desde o processo de abate e durante o armazenamento ou a distribuição. Contudo, a frequência e o grau de contaminação das carcaças dos animais abatidos variam de acordo com a higiene do local de criação, o transporte e as adequadas práticas de fabricação durante e após o abate. (COSTA *et al.*, 2010).

Outra possibilidade para justificar a presença desse micro-organismo em amostras de carne bovina moída é a contaminação cruzada (MELO & RESENDE, 2012). Almeida *et al.* (2017) ao realizarem *swabs* em superfícies de equipamentos e utensílios de um abatedouro frigorífico no município de Campos Gerais, Minas Gerais, verificaram 40% de amostras (n=25) positivas para *Salmonella* spp. Já Cossi *et al.* (2013), em pesquisa para a identificação também de *Salmonella* spp. em utensílios de açougues localizados em Viçosa, Minas Gerais, isolaram o agente em três *swabs* realizados na superfície de mesas, comprovando novamente a possibilidade de contaminação cruzada do produto antes que o mesmo chegue ao consumidor final.

Por outro lado, discordando dos resultados obtidos neste trabalho, diversas pesquisas mostraram resultados em conformidade com a legislação vigente (BRASIL, 2001). Rosina e Monego (2013) obtiveram somente resultado negativo para *Salmonella* spp. ao realizarem análise microbiológica da carne bovina moída nas redes de supermercado de Canoinhas, Santa Catarina. Abreu *et al.* (2011) analisaram dez amostras comercializadas no município de Umuarama, Paraná, e verificaram a ausência de *Salmonella* spp. em cada uma dessas. Já Marchi (2006) pesquisaram esse patógeno em diferentes açougues e supermercados de Jaboticabal, São Paulo, em dois processos diferentes, na carne moída no ato da compra e na carne previamente moída, não detectando a sua presença em nenhuma das 60 amostras coletadas.

A ausência de *Salmonella* spp. em alguns trabalhos pode ser explicada pela adoção das boas práticas de fabricação nas diferentes etapas de obtenção da carne bovina moída, controlando-se a contaminação, multiplicação e sobrevivência bacteriana, além da higiene dos manuseadores. (MARCHI, 2006).

No que diz respeito à pesquisa de *Listeria monocytogenes*, seis das dez amostras analisadas revelaram colônias características do patógeno em questão em ágar AO (FIGURA 3). Essas amostras foram submetidas às provas confirmatórias (FIGURA 4), comprovando o diagnóstico de *L. monocytogenes*.

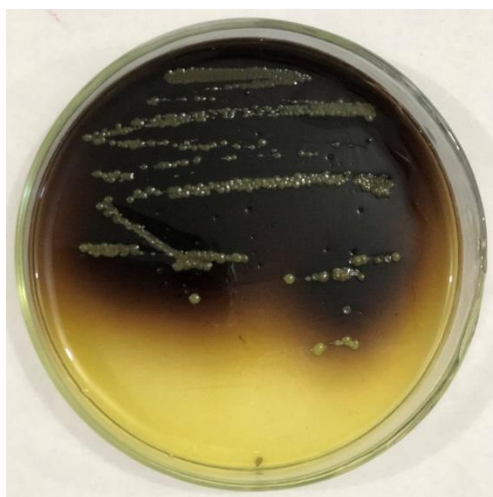


Figura 3. Colônias características de *Listeria monocytogenes* (colônias pretas rodeadas por halo escuro) em ágar Oxford.

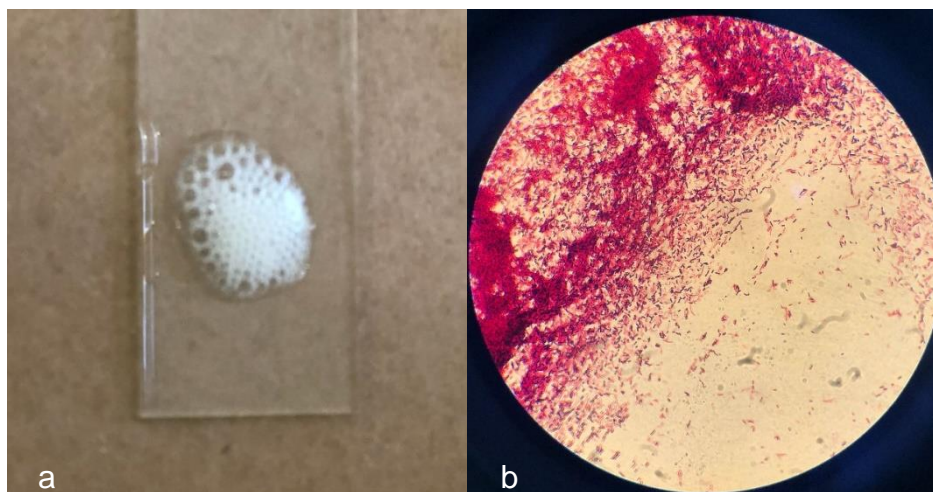


Figura 4. Resultados das provas de confirmação de *Listeria monocytogenes*: a) Reação positiva à prova da catalase; b) Bacilos Gram-positivos à coloração de Gram (100x).

Esses resultados demonstraram que 40% das amostras de Matipó (1 e 2) e 80% das amostras de Manhauçu (6, 7, 8 e 10) foram positivas para *L. monocytogenes*, estando, então, 60% do total de amostras analisadas fora do padrão sanitário exigido pela atual RDC nº12/2001, a qual preconiza a ausência do patógeno em questão em 25g desse tipo de alimento. (BRASIL, 2001) (TABELA 1).

Em seu estudo, Mantilla *et al.* (2007) ao pesquisarem a presença de *Listeria* spp. em 30 amostras de carne bovina moída comercializadas no município de Niterói, Rio de Janeiro, encontraram 50% de resultados positivos para *Listeria* spp., sendo que desses, 6,7% foram positivas para *L. monocytogenes*. Ainda concordando com os resultados dispostos na Tabela 1, Rocha *et al.* (2011) e Monteiro *et al.* (2013) também analisaram 30 amostras de carne bovina moída em cada estudo, com resultado positivo em 10% das amostras de Salvador, Bahia, e 16,7% das amostras da região Norte do Brasil, respectivamente.

Resultados positivos para *L. monocytogenes* nesse tipo de produto pode ser consequência de contaminação cruzada, uma vez que o mesmo é excessivamente manipulado (HANGUI *et al.*, 2015). Coelho *et al.* (2016) ao realizarem a pesquisa de *Listeria* spp. em utensílios de quatro diferentes açougues localizados em um município da Zona da Mata mineira, concluíram que a presença desse patógeno é dependente do utensílio amostrado (amaciador, faca, gôndola, mesa e moedor). Nesse estudo, as maiores frequências de resultados positivos foram observadas no amaciador e no moedor de carne, com 62,5% e 50,0% de amostras positivas, respectivamente (COELHO *et al.*, 2016). Portanto, o ato de moer a carne pode causar a contaminação

da mesma no estabelecimento comercializador, uma vez que se trata de um equipamento de difícil higienização, o que favorece a formação de biofilmes bacterianos. (CARPENTIER & CERF, 2011).

A alta capacidade de formação de biofilmes por *L. monocytogenes*, foi comprovada em um estudo realizado por Bonsaglia (2012), no qual a autora observou essa capacidade em 32 cepas isoladas de diferentes alimentos. Como resultado, 25 isolados foram capazes de formar biofilme, correspondendo a 78,1% das cepas estudadas. (BONSAGLIA, 2012).

A presença de ambos os patógenos estudados em amostras de carne moída, representam um enorme risco à saúde pública. Em pesquisa realizada por Oliveira *et al.* (2010), verificou-se que entre os surtos notificados nos Estados Unidos de 1998 a 2002, *Salmonella* spp. foi responsável pelo maior número de surtos, porém *L. monocytogenes* foi a causa da maioria das mortes nesse mesmo período. Os autores relatam também que *L. monocytogenes* apresenta dose infectante muito baixa, permitindo que a simples contaminação e a ausência de alguma etapa do processo que elimine esses micro-organismos possam ocasionar surtos. (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Por fim, segundo Anjos e Santos (2010), a carne moída é um alimento com grande potencial para causar DTA, podendo resultar em graves infecções ao homem. E entre os fatores que contribuem para a sua contaminação por micro-organismos patogênicos, destacam-se as práticas inadequadas de manipulação, a limpeza e a desinfecção ineficientes dos equipamentos, além do saneamento também deficiente. (CARSTENS, 2006).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença de *Salmonella* spp. e de *L. monocytogenes* na carne bovina moída representa grandes riscos à saúde pública, uma vez que se tratam de importantes agentes causadores de doenças transmitidas por alimentos. Além disso, o alimento contaminado pode ocasionar, também, a contaminação cruzada de outros produtos dentro das residências dos consumidores.

A higienização inadequada dos moedores provavelmente é o principal fator responsável pela contaminação da carne moída. Portanto, é preciso reforçar as

medidas preventivas nos estabelecimentos estudados, principalmente no que diz respeito às boas práticas de fabricação, de forma a reduzir o risco ao consumidor.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C.O.; MERLINI, L.S.; BEGOTTI, I.L. Pesquisa de *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, coliformes totais e coliformes termotolerantes em carne moída comercializada no Município de Umuarama - PR. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, v.14, n. 1, p. 19-23, jan/jun, 2011.

ALMEIDA, C.R.; BONI, S.M. Avaliação da qualidade microbiológica de carne moída comercializada em açougues da cidade de Sarandi-PR. IX EPCC – **Encontro Internacional de Produção Científica UniCesumar**, n.9, p.4-8, 2015.

ALMEIDA, L.; WALUS, C.; BITTENCOURT, J.V.M.; PICININ, C.T. Frequência de contaminação microbiológica em frigorífico, localizado em Campos Gerais-MG. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial** v.11, n.1, p.2314-2331, 2017.

AMSON, G.V.; HARACEMIV, S.M.C.; MASSON, M.L. Levantamento de dados epidemiológicos relativos à ocorrência/surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no estado do Paraná – Brasil, no período de 1978 a 2000. **Revista Ciência e Tecnologia da Universidade Federal de Lavras**, v.30, n.6, p.1139-1145, 2006.

ANJOS, L.C.; SANTOS, P.F. Avaliação microbiológica de carne moída comercializada em açougues de Brasília, DF. **Universitas: Ciências da Saúde**, v.8, n.1, p.33-43, 2010.

AQUINO, J.S.; VASCONCELOS, J.C.; SILVA, M.S.B. Ocorrência de bactérias do gênero *Salmonella* em carne moída comercializada na cidade de Manaus-AM. **Revista UFPR**, v.10, n.2, p.194-200, 1992.

BARROS, M. A. F. *Listeria monocytogenes*: Ocorrência na carne bovina e Identificação dos Principais Pontos de Contaminação em plantas de processamento e relação com a microbiota acompanhante. **Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Estadual de Londrina – PR**. pp. 152, 2005.

BONSAGLIA, E.C.R. Produção de biofilme por *Listeria monocytogenes* isoladas de diferentes alimentos. **Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu - SP**, UNESP, 2012. 47f.

BLUM-MENEZES, D.; DELIBERALLI, I.; BITTENCOURT, C.N.; COUTO, T.A.C.; BARBOSA, N.L.; SANTOS, M.A.; PINTO, G.G. Listeriose no extremo sul do Brasil: infecção negligenciada. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.46, n.3, p.381-383, 2013.

BRASIL. 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 nº 62, de 26 de agosto de 2003. Brasília, 2003, 76p.

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: 26 de ago. 2017.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos.** Brasília : Editora do Ministério da Saúde, 2010. 158p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial da *Salmonella spp.*** 2011. Disponível em: <<http://portalquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/dezembro/15/manual-diagnostico-salmonella-spp-web.pdf>>. Acesso: 18 de fev. 2018.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil 2018.** Disponível em: <<http://portalquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/janeiro/17/Apresentacao-Surtos-DTA-2018.pdf>>. Acesso em: 15 de fev. 2018.

CARPENTIER, B.; CERF, O. Review – Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premisses. **International Journal of Food Microbiology**, v.145, p.1-8, 2011.

CARRASCO, E.; MORALES-RUEDA, A.; GARCÍA-GIMENO, R.M. Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: a review. **Food Research International**, v.45, n.2, p.545-556, 2012.

CARSTENS, T.L. Doenças transmitidas por alimentos (DTA). Relatório de estágio curricular apresentado ao curso Medicina Veterinária **Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Tuiuti - Curitiba Paraná**, 2006.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **Listeria: listeriosis.** 2018a. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/faq.html>>. Acesso: 27 de fev. 2018.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **Salmonella.** 2018b. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/general/index.html>>. Acesso em: 27 de mar. 2018.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **Salmonella and food.** 2018c. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/features/salmonella-food/index.html>>. Acesso: 27 de fev. 2018.

COELHO, D.C.; MELO, C.C.F.S.; SOUZA, S.P.; JUNIOR, M.A.A.; DUARTE, C.T.D.; SILVA, L.F. Pesquisa de *Listeria spp.* em utensílios de diferentes açougues localizados em um município da Zona da Mata Mineira. **Veterinária Notícias**, v.22, n.2, p.51-57, 2016.

COSTA, C.A.R. Avaliação da exposição do consumidor à *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* *Campylobacter spp.* e *Escheria coli* produtora de toxina de Shiga em

produtos cárneos refrigerados comercializados no município de São Paulo. **Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade São Paulo**, 2010.

COSTALUNGA, S.; TONDO, E.C. Salmonellosis in Rio Grande do Sul, Brazil, 1997 to 1999. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.33, p.342-346, 2002.

COSSI, M.V.C.; SILVA, D.A.L.; DIAS, M.R.; CASTILHO, N.P.A.; SOARES, P.F.; PINTO, P.S.A.; NERO, L.A. Identificação de *Salmonella* spp. em utensílios utilizados em Açougues de Viçosa – MG. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v.11, n.1, 2013.

DAMER, J.R.S.; DILL, R.E.; GUSMÃO, A.A.; MOERSCO, T.R. Contaminação de carne bovina moída por *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. **Revista Contexto & Saúde**, v.14, n.26, p.20-27, 2014.

DIAS, P.A.; da CONCEIÇÃO, R.C.S.; COELHO, F.J.O.; TEJADA, T.S.; SEGATTO, M.; TIMM, C.D. Qualidade higiênico-sanitária de carne bovina moída e de embutidos frescos comercializados no sul do Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.75, n.3, p.359-363, 2008.

FERREIRA, M.C.; NORBERG, A.N.; TORRES, A.C.; RIBEIRO, P.C.; SANCHES, F.G.; QUEIROZ, M.M.C.; CARVALHO, R.W. Perfil higiênico de carne bovina moída comercializada na cidade do Rio de Janeiro e adjacências, estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos UniFOA**, v.1, n.2, p.1-8, 2006.

FERREIRA, R.S.; SIMM, E.M. Análise microbiológica da carne moída de um açougue da Região Central do Município de Pará de Minas - MG. **SynThesis Revista Digital FAPAM**, n.3 p.37-61, 2012.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. 1ª Ed. Atheneu, 2005.

GUAHYBA, J.P.B. *Listeria Monocytogenes*: um perigo presente nos alimentos **UFRGS - Faculdade de Veterinária Trabalho de conclusão em Medicina Veterinária Porto Alegre – RS**, 2012. 54f.

GOMIDE, L.A.M.; RAMOS, E.M.; FONTES, P.R. **Ciência e qualidade da carne: fundamentos**. Viçosa : Editora UFV, 2013.

HANGUI, S.A.R.; FERREIRA, A.F.; DOURADO, A.T.S.; MARTINS, J.D.; VARGEM, D.S.; SILVA, J.R. Análise microbiológica da carne bovina moída comercializada na cidade de Anápolis, Goiás, Brasil. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.XII, n.2, p.30-38, 2015.

KOTTWITZ, L.B.M.; OLIVEIRA, T.C.R.M.; ALCOGER, I.; FARAH, S.M.S.S.; ABRAHÃO, W.M.; RODRIGUES, D.P. Avaliação epidemiológica de surtos de salmonelose ocorridos no período de 1999 a 2008 no Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v.32, n.1, p.9-15, 2010.

LEÃO, S.C.; BARRETO, D.M.; RIBEIRO, V.C.; SANTANA, R.F.; MELO, C.M.; LIMA, A.S.; BATISTA, M.V.A. Qualidade microbiológica e parasitológica de carne moída comercializada em Aracaju - SE. **Brazilian Journal of Food Research**, v.6, n.2, p.15-22, 2015.

LUZ, J.R.D.; ARAÚJO, J.H.L.; BATISTA, D.; SILVA, T.C.; ARAÚJO, L.B.A.; CARVALHO, C.T. Qualidade microbiológica da carne moída comercializada em Natal, Rio Grande do Norte. **NUTRIVISA – Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, v. 2, n.2, p.86-90, 2015.

LOGUERCIO, A.P.; SILVA, W.P.; ALEIXO, J.A.G. Condições higiênico-sanitárias no processamento de carne moída. **Biblioteca virtual em saúde: Campus Virtual de Saúde Pública** vol. 16, n.98, p. 63 – 66 jul 2002.

MARCHI, P.G.F. Estudo comparativo do estado de conservação de carne moída através de métodos microbiológico e físico-químico. **Dissertação apresentada à faculdade de ciências agrárias e veterinárias – UNESP Campus de Jaboticabal São Paulo** - Brasil 2006.

MANTILLA, S.P.S.; FRANCO, R.M.; OLIVEIRA, L.A.T.; SANTOS, E.B.; GOUVÊA, R. Ocorrência de *Listeria* spp. em amostras de carne bovina moída comercializada no Município de Niterói – RJ. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.4, p.1225-1230, 2007.

MELO C.F.; RESENDE, A. Quantificação de coliformes termotolerantes em carne bovina moída comercializada em açougues do Distrito Federal, Universidade Anhanguera Campo Grande. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v.16, n.3, p.91-98, 2012.

MONTEIRO, L.R.L.; MESQUITA, A.J.; ANDRÉ, M.C.D.P.B.; CARDOSO, J.L. Caracterização molecular de *Listeria monocytogenes* isolada de produtos de origem animal em uma cidade da região Norte do Brasil. **Ciência Rural**, v.43, n.8, p.1443-1448, 2013.

NASCIMENTO, M.V.D.; GUEDES, A.T.L.; SILVA, H.A.; SANTOS, V.E.P.; PAZ, M.C.F. Avaliação da Qualidade da carne moída fresca comercializada no mercado central em Campina Grande – PR. **Revista Saúde e Ciência Online**, v.3, n.1, p.56-68, 2014.

NADVORNY, A.; FIGUEIREDO, D.M.S.; SCHMIDT, V. Ocorrência de *Salmonella* sp. em surtos de doenças transmitidas por alimentos no Rio Grande do Sul em 2000. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, n.1, p.47-51, 2004.

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 HCPA**, v.30, n.3, p.279-285, 2010.

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

ROCHA, J.S.; SANTIAGO, C.C.; COSTA, W.L.R.; MELO, D.B.; FERNANDES, L.M.B.; SILVA, M.C.A. Pesquisa de *Listeria* spp. em carne moída bovina comercializada na cidade de Salvador – BA. **Revista Higiene Alimentar**, v.25, p.194-195, 2011.

ROSINA, A; MONEGO, F. Avaliação microbiológica da carne bovina moída nas redes de supermercados de Canoinhas - SC. **Saúde e Meio Ambiente Revista Interdisciplinar**, v.2, n.2, p.55-64, dez 2013.

SHINOHARA, N.K.S.; BARROS, V.B.; JIMENEZ S.M.C.; MACHADO, E.C.L.; DUTRA, R.A.F.; FILHO, J.L.L. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.13, n.5, p.1669-1674, 2008.

SILVA, F.M. *Listeria Monocytogenes*: um perigo invisível nos alimentos **Faculdade Metropolitana Unidas Medicina Veterinária São Paulo – SP**, 2009. 46f.

SILVA, R.R.L.; GOUVEIA, D.S.; ROCHA, A.P.T.; ARAÚJO, A.S. Análise de coliformes e verificação das boas práticas de fabricação de carne moída comercializada na cidade de Campina Grande - PB. **Revista Verde**, v.10, n.1, p.115-119, 2015.

TIROLI, I.C.C.; COSTA, C.A. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos recém abatidos em feiras e mercados da cidade de Manaus – AM. **ACTA Amazônica**, v.36, n.2, p.205-208, 2006.

VÄLIMAA, A.L.; TILSALA-TIMISJÄRVI, A.; VIRTANEN, E. Rapid detection and identification methods for *Listeria monocytogenes* in the food chain – a review. **Food Control**, v.55, p.103-114, 2015.

WELKER, C.A.D.; BOTH, J.M.C.; LONGARAY, S.M.; HAAS, S.; SOEIRO, M.L.T.; RAMOS, R.C. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v.1, n.8, p.44-48, 2010.

AVALIAÇÃO OFTALMOLÓGICA EM CÃES GERIÁTRICOS ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO GARDINGO

Acadêmicas: Daniela Paiva da Silva Vieira e Isadora Azevedo Colares Leitão

Orientadora: Mayara Cristini Ferreira de Aguiar

RESUMO

O processo de envelhecimento provoca diversas mudanças nas estruturas oculares que vão predispor os animais idosos a várias oftalmopatias, sendo o diagnóstico precoce dessas afecções de grande importância, e o exame oftálmico indispensável como parte deste processo. Foram atendidos vinte e três cães com idade superior a 8 anos, no Hospital Veterinário da faculdade Univértix, durante o período de agosto a dezembro de 2017 e foram submetidos a uma avaliação oftalmológica com auxílio de um oftalmoscópio e diversos testes complementares. As doenças oculares diagnosticadas foram correlacionadas com a idade dos pacientes, observando a prevalência das afecções em animais geriátricos, sendo a catarata e úlcera de córnea as alterações mais encontradas. Além de 82,6% dos cães atendidos apresentarem alguma oftalmopatia, 39,1% apresentaram patologias oculares associadas umas com as outras, devido ao acúmulo de distúrbios oculares não tratados. Assim sendo de grande importância o acompanhamento do paciente idoso como parte da rotina da clínica médica veterinária.

PALAVRAS-CHAVE: oftalmologia veterinária; cães idosos; oftalmopatias; afecções oculares.

1. INTRODUÇÃO

A crescente frequência e ocorrência de afecções oculares dos animais de companhia vêm estabelecendo a oftalmologia como um ramo de grande importância na Medicina Veterinária (PONTES, 2011).

A idade influencia na predisposição de enfermidades oculares (MARTINS e GALERA, 2011), sendo o envelhecimento um processo biológico que tem como uma das consequências redução da capacidade de regeneração, predispondo animais idosos a diversas patologias oculares degenerativas (ASSUMPÇÃO, 2010; SOUZA *et al.*, 2016). Por ser comum o aparecimento de afecções oculares em animais idosos, é de crucial importância à realização do diagnóstico dessas enfermidades, assim, a realização do exame oftalmológico é parte essencial deste processo. Este abrange anamnese completa do paciente e avaliação dos componentes do olho e demais estruturas (PATRÍCIO, 2015; TULHA, 2010).

Podem-se citar algumas doenças oftálmicas que são comuns de pacientes geriátricos como, esclerose nuclear, catarata, ceratoconjuntivite seca, úlcera de

córnea, uveíte e *Phthisis bulbi* (ASSUMPÇÃO, 2010; TURNER, 2010; SOUZA *et al.*, 2016).

A avaliação oftalmológica também é de grande importância para detectar de modo precoce as afecções que podem de curto em longo prazo, afetar a visão podendo levar a sua perda parcial ou total (ANDRADE *et al.*, 2013).

Objetivou-se com este estudo, determinar a prevalência das doenças oculares em pacientes geriátricos, através a avaliação oftalmológica e diagnóstico das afecções oculares de cães com idade maior que 8 anos, atendidos no Hospital Veterinário Univértix, localizado na cidade de Matipó, Minas Gerais, no período de Agosto a Dezembro de 2017.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ANATOMIA DO OLHO

O olho é o órgão responsável pela visão, e afecções que envolvem o bulbo ocular e seus anexos são várias e distintas. O conhecimento da anatomia e fisiologia ocular permite avaliação dos demais componentes do olho e o auxílio diagnóstico dessas patologias (CUNHA, 2008).

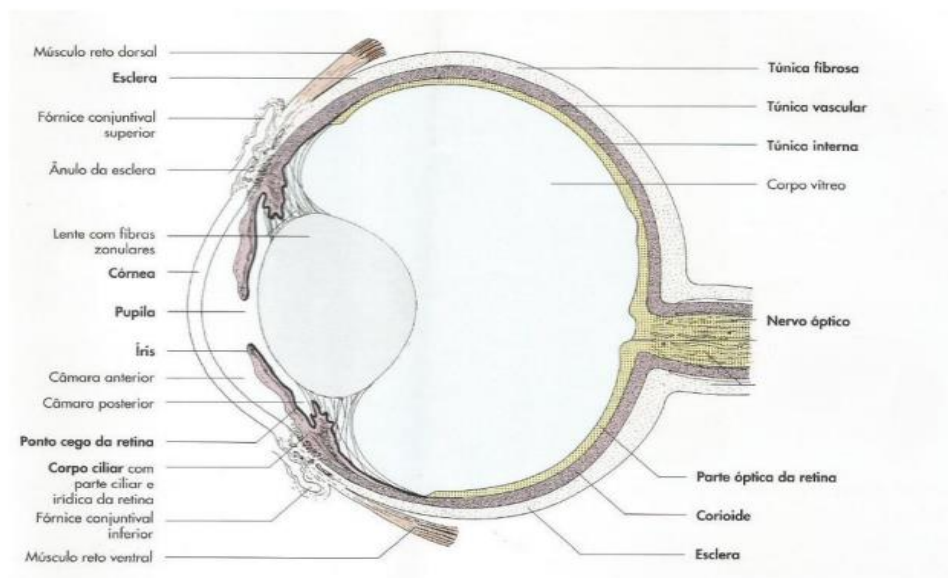


Figura 1 – Anatomia do bulbo ocular do cão.

Fonte: Patrício, 2015

2.2 CATARATA

Denomina-se catarata qualquer opacificação do cristalino ou da sua cápsula, e é considerada a mais importante causa de cegueira em cães. Essa opacificação impede que os feixes luminosos incidam sobre a retina, comprometendo a formação da visão (ALBUQUERQUE *et al.*, 2010). Pode ser congênita, hereditária, tóxica, por envelhecimento ou traumatismo (FREITAS *et al.*, 2010). As cataratas senis ocorrem nos cães como parte do processo de envelhecimento, amadurecendo de forma lenta, podendo levar anos. A média da idade de cães afetados pela catarata é de 9,4 anos (CAMARATTA, 2009).

Está comumente associada a uma série de eventos onde ocorre agregação de proteínas lenticulares, aumento de proteínas insolúveis, estresse osmótico, disfunções de metabolismo energético, mudanças na concentração de oxigênio, alterações das concentrações iônicas e doenças secundárias, como o *Diabetes Mellitus* (JEZLER, 2010).

A catarata pode ser classificada em incipiente, imatura, madura e hipermadura (PONTES, 2011). A catarata incipiente é o estágio inicial que se caracteriza pela opacificação focal do cristalino ou cápsula, que envolve menos de 10 a 15% da área, podendo progredir ou não. O estágio intermediário, pode apresentar áreas difusas de opacidade, sendo que o grau de opacificação do cristalino pode variar de 10 a 80%, denomina-se catarata imatura. Na catarata madura a lente é totalmente envolvida e a opacidade é total, já neste estágio é recomendada a cirurgia, pois a opacificação é maior que 80%. Constitui como o último estágio evolutivo a catarata hipermadura, onde ocorre uma liquefação da proteína do cristalino, comprometendo a integridade da cápsula anterior e posterior do córtex e núcleo, podendo extravasar levando a um processo inflamatório (MOTA, 2010; VODOVOZ, 2009; PONTES, 2011).

O sinal clínico evidente da catarata é o olho com uma opacificação esbranquiçada (ALBUQUERQUE *et al.*, 2010). Para o diagnóstico da catarata é realizado um exame oftalmológico que abrange anamnese completa do paciente, e avaliação dos demais componentes do olho, com o auxílio de uma lâmpada. Algumas características são observadas, como o tamanho da lente que pode estar ausente, e sua posição (PATRÍCIO, 2015).

2.3 ESCLEROSE NUCLEAR

A esclerose nuclear é um fenômeno normal que acomete animais em processo de envelhecimento e que promove uma falta de elasticidade na lente, afetando principalmente cães acima de 6 anos de idade (SOUZA *et al.*, 2016; MARTINI, 2008). É uma opacificação da lente que fica azulada através de uma compressão de células lenticulares antigas em direção ao núcleo (SOUZA *et al.*, 2016; KLEINER, 2007). Assim, o núcleo se torna denso e pesado devido a uma grande quantidade de células presentes, causando uma opacidade. O olho opaco pode estar associado com a diminuição de proteínas cristalinas e aumento de proteínas insolúveis no núcleo da lente (CAMARATTA, 2009).

O diagnóstico é feito com o auxílio de instrumentos complementares para uma melhor observação da lente, tais como a lâmpada de fenda, usada para iluminação e ampliação de diferentes estruturas internas do bulbo ocular (REGATO, 2012). Diferente da catarata, a esclerose nuclear não causa perda parcial ou total da retina e não afeta a capacidade visual do animal, podendo o fundo do olho ser facilmente observado (KLEINER, 2007; MARTINI, 2008).

2.4 ÚLCERA DE CÓRNEA

A úlcera de córnea é a patologia oftálmica mais comum em cães e é caracterizada pela perda do epitélio e do estroma superficial, podendo haver perda ou não do tecido corneano profundo (LAUS & ORIÁ, 1999). Pode ser denominada como bacteriana, fúngica, viral, indolente, química, ou traumática, sendo esta última a mais frequente. Animais braquicefálicos são mais predispostos a desenvolverem esta afecção devida uma maior exposição do olho (CUNHA, 2008).

O epitélio pode ser danificado superficialmente ou mais profundamente (BERCHT, 2009), podendo ser classificada como úlcera superficial ou úlcera profunda (CUNHA, 2008). As superficiais são úlceras pequenas que resultam de uma injúria mecânica (LAUS & ORIÁ, 1999), e cicatrizam rapidamente tendo uma mínima formação de cicatriz. São geralmente secundárias a um trauma menos agressivo como anormalidade nos cílios, na estrutura e na função palpebral, xampus, ceratoconjuntivite seca, autotraumatismo e irritação mecânica (CUNHA, 2008). Já as profundas se caracterizam pela complicação que pode levar a um prejuízo na visão devido à cicatrização corneal lenta (CUNHA, 2008; BAUNGARTEN *et al.*, 2006).

O processo cicatricial pode fazer com que haja perda da transparência local e dificuldade visual (FERREIRA *et al.*, 2013), sendo normalmente arredondadas ou ovaladas, de margem abrupta que são circundadas por edema e infiltração vascular (LAUS & ORIÁ, 1999). Sem o ambiente biológico adequado para que ocorra a cicatrização, a úlcera evolui para as camadas mais internas até que tenha uma perfuração da córnea, podendo levar á afecções mais graves como, prolapso de íris e *phthisis bulbi* (FERREIRA *et al.*, 2013).

Animais com úlcera de córnea apresentam sinais clínicos evidentes no olho como a fotofobia, descarga ocular, epífora, dor e desconforto, blefaroespasmos, perda da transparência da córnea. Ocorre também uma migração de células inflamatórias provocada por edemas, uma deposição de substâncias como cálcio, lipídios e de pigmentos sobre a córnea, podendo haver perda do olho afetado devido à perfuração (BERCHT, 2009; LAUS & ORIÁ, 1999).

Lacrimejamento, uveíte, secreção mucosa a mucopurulenta, miose, hiperemia conjuntival e neovascularização corneal, também são manifestações clínicas apresentadas por animais acometidos pela afecção (CUNHA, 2008).

Para estabelecer um diagnóstico é necessário um exame oftálmico de rotina completo, sinais clínicos e o histórico do animal. Para o auxílio é utilizado uma lâmpada de fenda que permite uma melhor visualização dos segmentos oculares, podendo observar as condições da córnea e a profundidade da lesão. Também é feito o teste de fluoresceína, que consiste em um corante com propriedades hidrofílicas que é atóxico aos tecidos oculares. Caracteriza-se pela coloração amarelo-laranja ou verde-brilhante nas células epiteliais danificadas permitindo a visualização da úlcera na córnea (CUNHA, 2008; BERCHT, 2009).

2.5 CERATOCONJUNTIVITE SECA

A ceratoconjuntivite seca (CCS), também conhecida como a “síndrome do olho seco” é uma afecção oftalmológica muito encontrada na rotina da clínica que é caracterizada como a deficiência de produção do filme lacrimal, que vai resultar em um ressecamento e inflamação crônica da córnea e da conjuntiva (PIGATTO *et al.*, 2007; FREITAS, 2009).

O filme lacrimal é uma camada importante de proteção as conjuntivas palpebrais e à superfície ocular, e é secretado pelas glândulas lacrimal principal

(porção aquosa da lágrima), da terceira pálpebra (porção aquosa da lágrima) e társicas (porção lipídica da lágrima), além das células calciformes da conjuntiva (porção mucóide da lágrima) e sua deficiência quantitativa ou qualitativa pode ser uma das causas da ceratoconjuntivite seca (PIGATTO *et al.*, 2007).

Essa afecção pode ser causada por deficiências qualitativas que causa anormalidades no componente lipídico e mucoso, ou as deficiências quantitativas que são caracterizadas pela diminuição da porção aquosa da lágrima, sendo essa deficiência a que mais resulta a afecção (FREITAS, 2009).

Há várias causas de CCS em pequenos animais, porém Freitas (2009) acredita que a causa mais comum é a doença imunomediada, sendo mais comum em cães idosos (ASSUMPÇÃO, 2010). Outros autores afirmam que existem diversas causas para essa afecção, como doenças metabólicas, terapia sistêmica com sulfas, doenças infecciosas como cinomose canina, trauma orbital ou supra-orbital, uso prolongado com atropina e neoplasias (PIGATTO *et al.*, 2007; ROCHA, 2012; FREITAS, 2009).

Os sinais clínicos da ceratoconjuntivite seca vão depender do tempo em que o animal está com essa afecção, do grau de ressecamento do olho, se é uni ou bilateral, ou se é aguda ou crônica (FREITAS, 2009). Sendo os sinais mais frequentes são desconforto ocular, fotofobia, secreção ocular mucóide ou purulenta, ressecamento da superfície ocular, blefoespaço, hiperemia conjuntival, dor ocular, neovascularização e pigmentação da córnea (PIGATTO *et al.*, 2008; ANGÉLICO *et al.*, 2011; FREITAS, 2009). Há certas lesões e complicações que um cão com ceratoconjuntivite seca pode apresentar, que consistem em úlcera de córnea, ceratites e conjuntivites crônicas, dor intensa na superfície da córnea e até redução da acuidade visual, podendo levar a cegueira (ROCHA, 2012).

O diagnóstico é dado com base nos sinais clínicos, informações da anamnese e de um exame oftalmológico, incluindo microscopia com lâmpada de fenda e com resultados obtidos com o teste lacrimal de Schirmer (PIGATTO *et al.*, 2007; LAUS & ORIÁ, 1999). O teste de Schirmer baseia-se na colocação de um tira de papel absorvente em cada olho durante 1 minuto. A produção da lágrima é medida pela extensão do papel absorvente que ficou úmida, valores entre 15 a 25 mm/min são considerados como produção lacrimal normal, já valores de 14 a 11 mm/min indicam ceratoconjuntivite seca subclínica, valores entre 6 a 10 mm/min indicam essa afecção

de forma leve ou moderada, e valores menos que 5 mm/min na sua forma severa (ROCHA, 2012; PIGATTO et al., 2007; FREITAS, 2009).

2.6 UVEÍTE

A uveíte é uma das importantes afecções oculares que acometem cães, sendo caracterizada por uma inflamação da túnica vascular do olho que é constituída pelo corpo ciliar, íris e coróide, podendo ser denominada uveíte anterior e posterior. A uveíte anterior se caracteriza pela presença de inflamação na íris e corpo ciliar, já a posterior apenas a coróide é afetada (CARDOSO, 2013; PONTES *et al.*, 2006; RIBEIRO & SCHRODER, 2015).

A barreira hematoaquosa é constituída pelo epitélio não pigmentado do corpo ciliar e endotélio dos vasos sanguíneos da íris, tendo como função impedir a passagem de fluido, células e material protéico para o humor aquoso. Se danificada terá um extravasamento dessas substâncias provocando o chamado “flare” aquoso, desencadeando um aumento da turbidez do humor devido ao acúmulo na concentração de proteínas e células inflamatórias na câmara anterior (RIBEIRO & SCHRODER, 2015; PONTES *et al.*, 2006; MARTINS & GALERA, 2011).

Essa inflamação pode ser de origem física, química ou biológica (CARDOSO, 2013) e pode estar associada a diversas causas como, doenças infecciosas ou parasitárias, ceratite ulcerativa, neoplasias, traumas e indução pela lente sendo a causa mais comum (RIBEIRO & SCHRODER, 2015).

A uveíte pode apresentar diversos sinais clínicos dependendo de sua causa, tempo e progressão da inflamação (RIBEIRO & SCHRODER, 2015; CARDOSO, 2013). Os animais podem apresentar “flare” no humor aquoso, diminuição da visão, dor ocular, blefarospasmos, edema corneano, vascularização corneal profunda, hifema, miose, hiperemia conjuntival, epífora, mudança da coloração da íris, granulomas, deslocamento de retina e opacidade vítrea. Dependendo da gravidade do problema pode ocorrer a manifestação de glaucoma secundário, formação de catarata e luxação da lente levando ao *phthisis bulbi* (RIBEIRO & SCHRODER, 2015; CARDOSO, 2013; PONTES *et al.*, 2006).

O diagnóstico se dá por meio de uma anamnese completa, histórico e sinais clínicos do animal. A realização do exame oftálmico é estritamente importante para

diagnosticar o problema, e se faz com o uso do teste de Shirmer, da fluoresceína e inspeção visual completa (CARDOSO, 2013; PONTES *et al.*, 2006).

2.7 PHTHISIS BULBI

Phthisis bulbi é caracterizado pelo estágio final de um processo inflamatório ocular crônico em que o olho afetado está ausente da produção de humor aquoso e como consequência há retração do bulbo ocular (RIBEIRO, 2013; PERLMANN *et al.*, 2011).

Esta atrofia se refere a uma perda da organização tecidual que é substituída por fibrose difusa ou multifocal, microscopicamente, um tecido fibroso abundante ocupa e envolve as estruturas oculares. Devido à capacidade de contração dos processos inflamatórios crônicos no vítreo ou em qualquer tecido ocular, pode causar danos à retina, como o seu deslocamento por tração, ou evoluir para *phthisis bulbi* (TURNER, 2010).

O estágio terminal do bulbo ocular é caracterizado por uma injúria ocular difusa, que pode ter como causa glaucoma, uveítes, inflamação intraocular, corpos estranhos perfurantes ou outros fatores traumáticos que comprometem a integridade do bulbo ocular e trata-se de um olho cego, retraído, diminuído de tamanho e pode apresentar um aspecto enrugado (RIBEIRO, 2013; TURNER, 2010).

Outras causas dessa afecção podem incluir uveíte crônica, fibrose ou atrofia do corpo ciliar que pode ser causada pela diminuição da função secretória e da hipotonia ocular, levando a diminuição do tamanho do bulbo ocular (PONTES *et al.*, 2006).

Olhos que apresentam *phthisis bulbi* são cegos, pequenos, opacos, não sensíveis à dor e normalmente não são monitorados. Porém um monitoramento inadequado dessa patologia pode resultar em um diagnóstico tardio de neoplasia (PERLMANN *et al.*, 2011).

Um diagnóstico diferencial dessa afecção é a microftalmia, que é caracterizada por uma falha no crescimento ou pelo não preenchimento da câmara vítrea, e o olho vai se apresentar subdesenvolvido, pequeno e sem lente, porém diferente da *phthisis bulbi*, é uma alteração congênita. Essa diferenciação é feita por anamnese e um exame oftálmico (TURNER, 2010; RIBEIRO, 2013).

3. METODOLOGIA

3.1 SELEÇÃO DE ANIMAIS

Foram selecionados 23 cães, independente de raça ou sexo, para o presente estudo. Os animais tinham idade superior a 8 anos e foram atendidos entre agosto e dezembro de 2017, no Hospital Veterinário Univértix. Trata-se de um estudo transversal.

3.2 EXAMES OFTÁLMICOS

Foi realizado a anamnese, exame físico e oftálmico. Este último foi composto pelos testes, utilizando a ficha oftalmológica do Software Benvet, utilizada pelo Hospital Veterinário Gardingo. Assim, foram realizados diversos testes, dentre eles o de reflexo pupilar direito e esquerdo, teste de reflexo pupilar consensual, deambulação, avaliação do comprometimento visual, da forma de andar, movimentação da cabeça e possíveis alterações no posicionamento da cabeça e alterações na configuração física. Também foi testado o reflexo de ameaça, a produção lacrimal por meio do teste de Schirmer, além da avaliação do bulbo ocular, pálpebra, presença de secreção.

A conjuntiva e a córnea foram avaliadas quanto à presença de traumas, corpos estranhos, hemorragias, secreções, alterações de transparência, neoformações e principalmente pela congestão capilar, sendo a conjuntiva classificada como hipocorada, hiperorada e normocorada. Para avaliar a integridade da córnea e do ducto lacrimal, também foi realizada a avaliação com fluoresceína e o teste de Jones.

A avaliação de câmara anterior, íris e pupila foi realizada em busca de alterações quanto à profundidade, qualidade do humor aquoso, presença de inflamação intra-ocular e perfurações oculares, simetria, coloração e hemorragias. A pupila foi observada quanto ao tamanho, e há presença de reflexo, midríase ou miose. A lente foi observada quanto à perda da transparência e mudanças posicionais.

Todos os exames oftálmicos foram realizados de acordo com as recomendações de Cunha (2008).

3.3 ANÁLISE E PROCESSAMENTO DE DADOS

Foi realizada a estatística descritiva para determinar a prevalência de afecções oculares em animais seniores (8 a 10 anos) e animais idosos (idade maior que 10

anos em diante). Além disso, foi determinada a frequência das doenças oftálmicas nos animais geriátricos avaliados e a prevalência das doenças mais diagnosticadas. Os dados foram agrupados de acordo com o resultado de cada teste e das afecções diagnosticadas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram realizadas fichas de atendimento oftálmico de vinte e três cães com idade superior a 8 anos. Dos 23 animais avaliados, 10 (43,5%) animais eram seniores e 13 (56,5%) animais idosos.

Os resultados dos testes oftálmicos são apresentados no Quadro 1, mostrando a presença das afecções oculares diagnosticadas.

Quadro 1 – Prevalência das doenças oftálmicas diagnosticadas.

Doenças oftálmicas	Sênior:		Idosos:		Total:	
	N	%	N	%	N	%
Catarata	5	50	9	69,2	14	60,8
Esclerose nuclear lenticular	1	10	2	15,3	3	13
Úlcera de córnea	1	10	4	30,7	5	21,7
Ceratoconjuntivite seca	1	10	2	15,3	3	13
Uveíte	1	10	1	7,6	2	8,6
<i>Phthisis bulbi</i>	0	0	2	15,3	2	8,6
Sem alteração	2	20	2	15,3	4	17,3
Animais com doenças concomitantes	1	10	8	69,2	9	39,1
Total	10	100	13	100	23	100

Legenda: % Porcentagem de animais; N: Número de animais

Após a avaliação, foi visto que 80% dos animais seniores e 84,6% dos cães idosos apresentavam alguma doença oftálmica. Sendo observada assim apenas 4,6% de diferença na prevalência de afecções oculares entre seniores e idosos. De acordo com Tulha (2010), patologias oculares como ceratoconjuntivite seca, catarata e esclerose nuclear têm início em animais com idade a partir de 6 a 8 anos, sendo que essas afecções contribuem para o aparecimento de doenças como úlcera de córnea e uveíte, não havendo predileção por pacientes idosos. Em 17,3% do total de pacientes, não foram encontradas nenhuma alteração digna de nota.

Os resultados mostram que 82,6% dos animais apresentaram alguma patologia ocular. Segundo Souza *et al.*, (2016) o processo de envelhecimento provoca diversas mudanças nas estruturas oculares que vão predispor os animais idosos a várias

patologias oculares degenerativas. Na medida em que os cães envelhecem começam a aparecer mudanças em seus órgãos e sistemas, podendo afetar o globo ocular e seus anexos, sendo comum o aparecimento de oftalmopatias (ESTEBAN, 2004; TULHA, 2010). Além do acúmulo de distúrbios oculares não tratados ou parcialmente controlados nos primeiros anos, os cães idosos enfrentam problemas oftálmicos específicos que aparecem tardiamente na vida (FISCHER, 1989).

Por meio dos resultados avaliados, a catarata foi a afecção mais encontrada em animais sênior, mas principalmente em idosos, sendo diagnosticada em 60,8% dos pacientes atendidos. Segundo Gellat *et al.*, (2013), cães idosos podem desenvolver uma variedade de alterações oculares e as mais comuns são aquelas relacionadas à mudança na transparência da lente canina. A catarata senil é a causa mais comum de cegueira em cães geriátricos e ocorre a partir de 6 anos de idade sendo sua causa desconhecida, podendo estar relacionada com a velhice, mudanças sistêmicas e na composição e metabolismo da lente, no entanto, com relação a idade, pode ocorrer de forma secundária, associado a processos inflamatórios, como a uveíte (ESTEBAN, 2004; ASSUMPTÃO, 2010). De acordo com um estudo feito por Slatter, (2005) todos os cães examinados com idade de 13 anos e meio apresentam algum grau de catarata, observando que, a idade média de cães acometidos foi de 9,4 anos.

A úlcera de córnea foi a segunda afecção mais diagnosticada nos dois grupos, correspondendo a 21,7% no total de pacientes e a 69,2% da ocorrência em animais idosos. As causas do aparecimento dessa afecção são muito diversas como, traumatismos e corpos estranhos, porém existem fatores que, com a idade, podem favorecer seu desenvolvimento (ESTEBAN, 2004). Rocha (2012) citou a ceratoconjuntivite seca como uma das complicações e/ou fator predisponente para o desenvolvimento de úlceras de córnea. Outra causa para o desenvolvimento de ulceração corneana é a degeneração calcária, que pode estar associada a doenças sistêmicas, porém pode se apresentar como consequência do envelhecimento, e na maioria das vezes acomete cães acima dos 14 anos de idade (CUNHA, 2008; SAMSOM & BLUNDER, 2010). Neste caso, podem ser observadas manchas de cor branca na superfície da córnea, e em muitos casos não são notadas até que haja o desenvolvimento de úlcera de córnea (SAMSOM & BLUNDER, 2010).

Do total de animais atendidos, 13% apresentaram esclerose nuclear lenticular.

Segundo Esteban (2004), animais de 6 a 8 anos começam a apresentar mudanças fisiológicas lenticulares, gerando uma perda da transparência da lente por consequência de uma constrição de fibras antigas (ASSUMPÇÃO, 2010; GELLAT *et al.*, 2013).

A ceratoconjuntivite seca (CCS) foi diagnosticada em 13% dos animais avaliados, podendo ser explicada por Esteban (2004) que considerou ser uma das mais graves e frequentes doenças do sistema lacrimal em pacientes geriátricos. A CCS é uma patologia em que seu predomínio é de modo proporcional á idade, sendo animais acima de 10 anos os mais predispostos a desenvolverem a doença, como observado no presente estudo, em que 66,6% dos animais acometidos eram idosos. (SOUZA, *et al.*, 2016).

A *phthisis bulbi* foi diagnosticada em 8,6% dos animais atendidos, e como afirma Fischer (1989), o risco de perda da visão aumenta com a idade devido ao acúmulo de doenças oculares não tratadas, podendo evoluir para o estágio terminal do bulbo ocular. Processos inflamatórios não tratados, como a uveíte crônica, são a principal causa para o surgimento desta patologia (RIBEIRO, 2013).

A uveíte acometeu 8,6% dos animais atendidos. Segundo Esteban (2004), a inflamação da túnica vascular do olho pode ser uma das causas mais comuns da doença em animais geriátricos, pois na maioria das vezes está relacionada com doenças sistêmicas ligadas ao envelhecimento.

Dos animais avaliados, nove apresentaram mais de uma afecção. Quatro desses cães foram diagnosticados com catarata concomitante a úlcera de córnea, porém nenhum estudo comprovou a relação entre as duas doenças. Apesar de Esteban (2004) ter afirmado que a idade pode favorecer o aparecimento de úlceras de córnea, bem como da catarata, Cunha (2008) citou diversas causas para sua ocorrência, como, posição anormal de cílios, corpos estranhos e sendo processos traumáticos a causa mais comum, podendo acometer animais de todas as idades. Desses cães, dois eram braquicefálicos, podendo este ser um fator predisponente a úlcera de córnea devido a maior exposição do olho (CUNHA, 2008).

Um animal apresentou catarata e esclerose nuclear, e como citado por Gellat (2014), as cataratas relacionadas com a idade podem ocorrer concomitantemente, com ou após uma esclerose nuclear densa.

Foi diagnosticada em um animal a presença de ceratoconjuntivite seca e

catarata, não havendo correlação entre elas, e segundo Freitas (2009) e Albuquerque *et al.* (2010) são as afecções mais comuns em cães geriátricos.

Foi apresentada ceratoconjuntivite seca e esclerose nuclear em um animal, não possuindo conexão entre ambas as afecções. Apesar de Assumpção (2010) ter afirmado que a CCS é frequente em animais geriátricos, Freitas (2009) citou que nem sempre são determinadas as causas primárias dessa afecção.

Na avaliação dos pacientes, um animal foi diagnosticado com uveíte, ceratoconjuntivite seca e úlcera de córnea, tendo total relação e predisposição entre as mesmas. Como citado por Assumpção (2010) a ceratoconjuntivite seca leva a um dano da glândula lacrimal, provocando uma baixa produção de lágrimas, e conseqüentemente gera uma inflamação crônica desencadeando a formação de úlcera de córnea. Segundo Moreira (2016) as úlceras de córnea profundas são as que geralmente levam ao aparecimento de uveítes devido à entrada de toxinas na lâmina limitante posterior da córnea, que só resistem à entrada de microrganismos.

Dos animais que apresentaram doenças concomitantes, um deles apresentou catarata, uveíte crônica e *phthisis bulbi*. Segundo Assumpção (2010), apesar da etiologia da uveíte ser variada em animais idosos, a que está mais relacionada com a idade é a uveíte facolítica, geralmente quando o animal apresenta catarata hipermadura, ocorrendo uma liberação de proteínas da lente através da cápsula anterior para o humor aquoso. Porém Gellat (2014) afirmou que todas as fases da catarata podem desenvolver esse tipo de uveíte, tendo uma prevalência de 71% dos animais que apresentam catarata, concordando com os resultados, onde o paciente foi diagnosticado com catarata imatura.

A catarata também pode ser resultante de inflamações associadas à lente, onde há formação de aderências na cápsula anterior do cristalino com membranas na superfície da lente, podendo resultar nesta inflamação (TULHA, 2010; GELLAT, 2014).

A catarata secundária a inflamação, ocorre somente com uveíte grave ou crônica, e segundo Gellat (2014) essa afecção foi encontrada em 37% de 142 cães com uveíte idiopática, em um estudo realizado. De acordo com Hoskins (2008) um animal com uveíte induzida por lentes, acompanhada de catarata, pode ter uma reação uveal à proteína do cristalino, levando a uma opacidade da córnea, turbidez aquosa e risco de desenvolver *phthisis bulbi*, concordando com Fischer (1989) que

afirma que cataratas não tratadas podem evoluir para *phthisis bulbi*.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que há uma alta prevalência de doenças oftálmicas em cães acima de 8 anos de idade, sendo as mais comuns a catarata e a úlcera de córnea, entretanto podem acontecer quadros de associação entre doenças. Com isso é essencial o acompanhamento regular do paciente idoso, a fim de evitar possíveis complicações por ocorrência de enfermidades secundárias, a investigação de distúrbios oculares que ocorrem com o avançar da idade, e a atenção do médico veterinário com pacientes acima de 8 anos, realizando sempre a avaliação oftalmológica como parte da rotina na clínica médica veterinária de animais de companhia.

6 - REFERÊNCIAS:

ALBUQUERQUE, L. de; ALMEIDA, A.C.V.R.; HUNNING, P.S.; PEREIRA, F.Q.; FAGANELLO, C.S.; PIGATTO, J.A.T. Catarata em cães – revisão de literatura. **Veterinária em foco**, v.7, n.2, p.185-197, jan./jun. 2010.

ANDRADE, A.F.S.; BEZERRA, K.P.G.; BOPP, E.F.; TALIERI, I.C. Atendimento Clínico e Cirúrgico de Oftalmologia Veterinária. **Departamento de Ciências Veterinárias/ Centro de Ciências Agrárias/ PROBEX**. Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB, 2013.

ANGÉLICO, G.T.; RANZANI, J.J.T.; BRANDÃO, C.V.S.; SCHELLINE, S.A.; PADOVANI, C.R.; SERENO, M.G.; CREMONINI, D.N. Transplantes de glândulas salivares menores no tratamento da ceratoconjuntivite seca em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.63, n.5, p.1087-1092, 2011.

ASSUMPÇÃO, A.L.K. **Introdução a clínica geriátrica do cão**. 2010. 106 f. Monografia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

BAUNGARTEN, L.B.; CAMILLI, R.A.; BUSNARDO, C.A.; SALGADO, A.E.P.; FREITAS, P.M.C.; EURIDES, D.; DALECK, C.R.; SILVA, L.A.F. **Abordagem clínica de úlcera de córnea superficial associado ao blue eye em cão – Relato de caso**. Revista Veterinária Notícias. Uberlândia, v. 12, n. 2, p. 20, set. 2006.

BERCHT, B.S. **Úlcera de córnea profunda em cães**. 2009. 35 f. Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2009.

CAMARATTA, P.R. **Catarata em cães**. 2009. 60 f. Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

CARDOSO, D.D. **Uveíte de etiologia infecciosa em cães e gatos**. 2013. 116 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade de Trás-os-Montes e Alto-Douro, Vila Real. 2013.

CUNHA, O. **Manual de oftalmologia veterinária**. 2008. 88 f. Universidade Federal do Paraná – Campus Palotina. 2008.

ESTEBAN, J. **Afecciones oftalmológicas en el paciente geriátrico I**. Centro Veterinario. Madrid, v.11, nov/dic, p. 11-18. 2004.

FERREIRA, G.T.N.M; SOUZA, T.F.B; SAKAMOTO, S.S. Aspectos clínicos do enxerto conjuntival 360º e do implante da membrana amniótica criopreservada no tratamento de úlceras de córnea em cães. **Sistema de Información Científica - Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal**. Londrina, v. 34, n. 3, p. 1239-1252, mai/jun. 2013.

FISCHER, C.A. **Geriatric ophthalmology**. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, v.19, n.1, p. 103-23. 1989.

FREITAS, A.C.; LIMA, R.O.; CARVALHO, C.B.; COSTA, A.P.D.; DAHER, R.F. Ultra-Sonografia Oftálmica em Cães com Catarata. **Revista de Ciências da Vida**. Seropédica. v. 30 n. 2 p. 47- 57, jul/dez. 2010.

FREITAS, L.V.R.P. **Ceratoconjuntivite seca em cães**. 2009. 57 f. Monografia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

GELATT, K.N. **Essentials of Veterinary Ophthalmology**. 3.ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2014.

GELATT, K.N.; GILGER, B.C., KERN, T.J. **Veterinary Ophthalmology, Volumes 1 – 2.5.ed**. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2013.

HOSKINS, J. D. Doenças Oftálmicas e Seu Manejo. **Geriatrics e Gerontologia do Cão e Gato**. 2ª. ed. São Paulo: Roca, p. 285-303, 2008.

JEZLER, P.C.O. **Avaliação do papel dos elementos majoritários e traço na formação da catarata por envelhecimento na espécie canina**. 2010. 112 f. Dissertação (Mestrado em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

KLEINER, J.A. Implante de lente intra-ocular acrílica dobrável de 41d em cães após facoemulsificação. **Revista Acta Scientiae Veterinariae**. Porto Alegre. v. 35, n. 2, p. s623-s625. 2007.

LAUS, J.L.; ORIÁ, A.P. Doenças corneanas em pequenos animais. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**. São Paulo. v.2, n.1, p. 26-33. 1999.

MARTINS, B.C.; GALERA, P.D. Semiologia Oftálmica em cães e gatos – Revisão de literatura. **Medvep - Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação**. Curitiba. v.9, n.31, p. 612 – 620. 2011.

MARTINI, F.R.A. **Relatório de Estágio Curricular**. Trabalho de conclusão de curso (Relatório de estágio) - Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, 2008.

MOREIRA, M.V.L. **Frequência e aspectos patológicos das doenças oculares em animais**. 86 f. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2016.

MOTA, A.M. **Cirurgia de catarata: revisão de literatura**. 2010. 56 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Centro Universitário Formiguense, Formiga, 2010.

PATRÍCIO, A.J. **Catarata e uveíte - Relato de caso**. 2015. 49 f. Trabalho de Conclusão de curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, 2015.

PERLMANN, E.; RODARTE-ALMEIDA, A.C.V.; ALBUQUERQUE, L.; SAFLATE, A.M.V.; PIGATTO, J.A.T.; BARROS, P.S.M. Feline intraocular sarcoma associated with *phthisis bulbi*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.36, n.3, p.591-594. 2011.

PIGGATO, J. A.T.; PEREIRA, F.Q.; RODARTE, A.C.V.; REDAELI, R.; FAGANELLO, C.S.; FRANZEN, A.A. Ceratoconjuntivite seca em cães e gatos. **Acta Scientiae Veterinariae**. Porto Alegre, n.35, v. 2, p.s250-251. 2007.

PONTES, L.L. Métodos de diagnóstico por imagem em cães com catarata. **REVISTA CIENTÍFICA ELETRÔNICA DE MEDICINA VETERINÁRIA**. n.16, ano IX, jan. 2011. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque

PONTES, K.C.S.; VIANA, J.A.; DUARTE, T.S. Etiopatogenia da Uveíte Associada a Doenças Infecciosas em Pequenos Animais. **Revista Ceres**. v.53, n.309, p.618-626, Viçosa. 2006.

REGATO, J.M.C. **Estudo dos factores de risco pré-operatórios na cirurgia de cataratas por facoemulsificação em cães**. 2012. 146 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2012.

RIBEIRO, A.P.; SCHRODER, D.C. Uveíte anterior em cães e em gatos – Revisão de literatura. **Revista Investigação Medicina Veterinária**. v.14, n.2, p.21-27. 2015.

RIBEIRO, A.R.B. **Causas de Enucleação, Evisceração e Exenteração em Pequenos Animais – Estudo Retrospectivo 2002-2012**. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa, Lisboa, 2013.

ROCHA, G.L.S. **Transplante Autólogo das Glândulas Salivares Labiais, Oclusão Cirúrgica dos Pontos Lacrimais ou Associação das duas Técnicas no Tratamento da Ceratoconjuntivite Seca em Cães**. Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Cirurgia e Oftalmologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

SANSOM, J.; BLUNDEN, T. Calcareous degeneration of the canine cornea. **Veterinary Ophthalmology**. v.13, n.4, p.238-243. 2010.

SOUZA, A.C.H. de; CUNHA, D.M.S.; MARTINS, P.L.; MELLO, M.; COSTA, P.P.C. Ceratoconjuntivite seca associada a degeneração de retina e esclerose nuclear em cadela – Relato de caso. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. v.10, n.3, p. 477-483, jul/set. 2016.

SLATTER, D. H. **Fundamento de Oftalmologia Veterinária**. 3. ed. São Paulo: Roca. p. 686. 2005.

TULHA, H.R.S.S.C. **Patologia em Cães Geriátricos no Centro Veterinário de Santo Tirso**. 2010. 75f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) - Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Portugal, Vila Real, 2010.

TURNER, S.M. **Oftalmologia em pequenos animais**. 1. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier Saunders, 2010, 370 p.

VODOVOZ, E. **Focoemulsificação para correção de catarata seguida de implante de lente intraocular Acri-LentsVetH 41D - Relato de caso**. 2009. 55 f. Monografia - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Curitiba, 2009.

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE LACTATO SANGUÍNEO EM EQUINOS DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR SUBMETIDOS A PROVA DE MARCHA

Acadêmicos: Onofre Campos Neto e Hiago Ferreira Martins

Orientador: Ayla Watanabe Pereira

RESUMO

A utilização dos animais para o esporte promove novas pesquisas prevendo lesões, principalmente as relacionadas ao músculo esquelético. Um grande obstáculo para a continuidade do trabalho é o acúmulo de lactato, podendo causar fadiga muscular e diminuição da performance. Por isso, é necessário treinamento diário dos animais para melhora do rendimento físico. Com o prolongamento do exercício, resulta em um desvio metabólico onde terá formação de energia pelos processos glicolíticos com produção de ácido láctico. O limiar do lactato é representado por 4 mmol/L sangue, na medicina veterinária a concentração de lactato pode ser utilizada como indicador da gravidade de afecções. Foram avaliados 19 equinos da raça Mangalarga Marchador em uma prova de marcha realizada na cidade de Matipó/ MG. O objetivo foi avaliar os níveis de lactato em equinos antes e após prova de marcha. O resultado final dos níveis de lactato em equinos antes da prova variou de 0,75 mmol/L a 2,03 mmol/L, após a prova os níveis foram de 1,12 mmol/L a 4.66 mmol/L. Concluindo que o exercício físico determinado através da prova de marcha gerou um aumento significativo nos valores plasmáticos de lactato sanguíneo.

PALAVRAS CHAVE: Equinos; Lactato; Prova de marcha; Exercício.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho de equinos na América Latina e o terceiro mundial com 5,4 milhões de cabeças (IBGE, 2014), movimentando R\$ 7,5 bilhões por ano somente com a criação de cavalos, responsável pela geração de 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos. Parte desse número de animais é utilizado em propriedades rurais para auxílio no manejo diário; outros são utilizados em competições esportivas onde possuem valor agregado ao animal, dentre esses existem diferentes raças representadas por associações de criadores (GUERRA; MEDEIROS, 2006).

O equino atleta necessita de otimização da produção e utilização de energia, pois esta é essencial para o desempenho efetivo da sua função (EATON,1994; HARRIS & HARRIS, 1998). A utilização dos animais para o esporte promove novas pesquisas prevendo lesões, principalmente musculoesquelética (GRAMKOW; FERRAZ, 2007).

A fisiologia do exercício baseia-se em mensurações de frequência cardíaca, temperatura corporal, níveis de oxigênio, lactato e bioquímica do exercício que avalia

a resposta das células do corpo e os componentes celulares durante o exercício, como por exemplo, o suprimento de energia para contração muscular (EVANS, 2000). A principal fonte de energia para a atividade muscular é a glicose. Quando há aumento do exercício, através da respiração anaeróbia, energia é gerada, tendo como consequência a produção de ácido láctico. A medida que a intensidade do exercício aumenta, mais produção de lactato e íons H⁺ ocorrerá (EATON, 1994).

Um grande obstáculo para a continuidade do trabalho é o acúmulo de lactato, podendo causar fadiga muscular e diminuição da performance (HARRIS & HARRIS, 1998). Os níveis de lactato sanguíneo podem fornecer informações como o condicionamento atual do cavalo atleta, junto dos parâmetros clínicos e físicos (LINDNER, 2000). O presente trabalho possui como objetivo avaliar os níveis de lactato em equinos submetidos a treinamento antes e após prova de marcha.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. EQUINOS E O ESPORTE

A raça Mangalarga Marchador (M.M.) é uma das mais encontradas no país, sendo originada no sul de Minas. Os cavalos atletas dessa raça possuem, em substituição ao trote, a marcha como andamento característico (COSTA, 2005). Devido a essa aptidão são utilizados em competições esportivas, onde demonstram as individualidades da marcha e o rendimento físico do cavalo atleta. Por ser tratar de um esporte amplamente praticado no meio equestre, torna-se fundamental o bom desempenho e treinamento constante do cavalo atleta (COSTA, 2005). Por isso, é necessário treinamento diário dos animais para melhora do rendimento físico, exigindo menos das funções corporais relacionadas ao desgaste da atividade física (MARQUES, 2002).

Características psíquicas, físicas, idade e manejo são aspectos fundamentais de avaliação para alcançar um bom desempenho dos animais nos treinamentos e consequentemente nas competições (MARQUES, 2002). O aumento atual na demanda de atividades esportivas equestres, requer do cavalo atleta, um desempenho superior ao que se esperava em competições anteriores. Sendo assim, a imposição para alcançar desempenhos satisfatórios, podem ocasionar treinamentos intensos e até mesmo incorretos, propiciando o surgimento de lesões e patologias relacionadas às atividades esportivas (RESENDE, 2005).

2.2. METABOLISMO ENERGÉTICO DE EQUINOS

A contração e o relaxamento muscular são processos que necessitam de energia para sua ocorrência, sendo que esta energia tem origem através da quebra do ATP, obtido inicialmente pela clivagem da fosfocreatina – uma via anaeróbia rápida, excedida por outras formas de obtenção de energia – e posteriormente pela glicogenólise, glicólise, ciclo de Krebs, β oxidação de ácidos graxos livres e de aminação de nucleotídeos purina (MACLEAY, 2004).

No animal em repouso, a principal fonte de energia vem dos ácidos graxos livres provindos do tecido adiposo e os corpos cetônicos, produtos da quebra de ácidos graxos, provindos do fígado. Onde são oxidados e quebrados para liberar acetil-coA, que vai pro ciclo de Krebs e é oxidado até chegar a dióxido de carbono (CO₂). A transferência de elétrons do oxigênio (O₂) cede energia para a síntese de ATP pela fosforilação oxidativa (NELSON e COX, 2008^a).

Quando o animal está sob esforço máximo, a demanda de ATP é maior que a capacidade de forma-lo de forma aeróbia, por causa da limitação da capacidade respiratória (NELSON e COX, 2008a). A glicólise anaeróbia gera 4 moles de ATP a partir de um mol de glicose, porém, 2 ATP são utilizados nas fosforilações iniciais, tendo-se um valor final de 2 ATP (KANEKO, 2008). A fermentação láctica responde mais rápido que a fosforilação oxidativa à grande demanda por ATP, fornecendo a produção basal de ATP pela oxidação aeróbia de outros substratos com o ciclo de Krebs por meio da cadeia respiratória (NELSON e COX, 2008^a). O ácido láctico, produzido na glicólise anaeróbia muscular, diminui o pH do sarcoplasma, inibindo a ação de enzimas intracelulares, inclusive enzimas mediadoras da glicólise, e impedindo a excitação e contração muscular, desenvolvendo a fadiga (MACLEAY, 2004).

Quando o exercício termina, a respiração continua com alta taxa para fornecer O₂ para a fosforilação oxidativa no fígado. O ATP formado é então utilizado na gliconeogênese, onde terá glicose a partir do lactato. Este retorna ao músculo e é utilizada para repor os estoques de glicogênio, completando o chamado “ciclo de Cori” (NELSON e COX, 2008^a).

2.3. FISILOGIA DO EXERCÍCIO

A intensificação do treinamento do cavalo atleta exige maior atividade da musculatura esquelética (SILVA, 2005) e conseqüentemente maior utilização de Adenosina-Trifosfato (ATP), que representa a principal fonte de energia para a contração muscular (LEHNINGER, 2000). A energia no início é fornecida pelo metabolismo de combustíveis que ficam no interior de células musculares, se esse estoque de combustíveis cessar, o fígado é um órgão que irá fornecer esse combustível na forma de glicose e ácidos graxos livres através das miofibrilas da corrente sanguínea (SILVA, 2005). O Controle dos gradientes iônicos, orgânicos que promovem potenciais de ação e condutividade elétrica do sistema nervoso é mantido pela energia, sendo necessária sua produção, que pode ser adquirida através de nutrientes alimentares como carboidratos, lipídeos, entre outros. A intensidade e a duração do esforço durante o exercício são determinadas pela contribuição de cada nutriente (GRAMKOW; FERRAZ, 2007).

A glicose é um nutriente que é absorvido no trato gastrointestinal, transportada até o fígado através da circulação, onde é armazenada na forma de glicogênio ou metabolizada a piruvato (via glicolítica) em energia no músculo, que é convertido em ácido láctico pela via anaeróbica e no fígado sintetiza novamente em glicose (GUIMARÃES; ADELL, 1995). Durante exercícios que exigem maior intensidade em breves períodos, o uso da energia anaeróbica é mais direto que a aeróbica e libera energia de forma mais rápida (HODGSON; ROSE, 1994), através da degradação do glicogênio a lactato. (EVANS, 2000; LACERDA, 2004; LEHNINGER, 2000).

Com o prolongamento do exercício, as células utilizam mais glicose, associado com a deficiência de oxigênio para as células, irá resultar em um desvio metabólico onde terá formação de energia pelos processos glicolíticos com produção de ácido láctico desencadeando em acidose metabólica (SILVA, 2005).

Uma série de eventos fisiológicos e metabólicos acontecem durante o exercício, entre eles o aumento da temperatura corporal, muscular e estresse oxidativo (MARTINOD, 2007), aumento da taxa metabólica; taquicardia e aumento do débito cardíaco; depleção de glicogênio intramuscular com acúmulo de lactato na musculatura esquelética; etc. (GRAMKOW; FERRAZ, 2007). O aumento do lactato ocasiona uma hiperventilação compensatória a fim de reduzir as concentrações de prótons H^+ (BALDISSERA, 1997).

2.4. ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS QUE AVALIAM O DESEMPENHO ATLÉTICO

Existem enzimas que podem indicar alterações da função muscular possibilitando um resultado confiável da condição muscular e queda do desempenho durante exercícios, como a Creatina fosfoquinase (CPK); Aspartato Aminotransferase (AST) e Lactato desidrogenase (LDH) (GARCIA, 2000). A frequência cardíaca e temperatura corporal também auxiliam a avaliação do condicionamento do atleta, analisando a resposta do coração e vasos de um cavalo durante treinamento intenso (FERRAZ, 2007)

O nível de lactato sanguíneo é utilizado para avaliar o condicionamento físico, detectar adaptações da prática de exercício, determinar intensidade de tratamento, onde a determinação do limiar do lactato fornece diagnóstico da capacidade aeróbica que está relacionado com a resistência (ERCK, 2007).

O aumento do potencial aeróbico do músculo esquelético e a melhora da capacidade respiratória são esperados quando realiza-se treinamento com exercícios constantes e repetitivos, que deste modo o lactato se acumula (limiar anaeróbico) (FERRAZ, 2010). Esse aumento do lactato plasmático também é um indicativo da capacidade atlética do cavalo, sendo indiscutível para determinar métodos de treinamento para cavalos atletas e avaliação da eficiência de algum determinado treinamento (GODIN, 2009).

2.5. MENSURAÇÃO DO LACTATO E SEUS VALORES

O lactato pode ser mensurado por espectrofotometria com sangue coletado em tubo de fluoreto-oxalato e por aparelhos portáteis como o Lactímetro (MIRIAN, 2008). As concentrações de lactato aumentam em média 1 mmol/L de sangue em exercícios com intensidade contínua, em cavalos em repouso é de aproximadamente 0,5 a mmol/L de sangue. O limiar do lactato é representado por 4 mmol/L sangue (FERRAZ, 2007; FERRAZ, 2008).

O intenso aumento do lactato, está relacionado à diminuição do pH sanguíneo, isso faz com que a capacidade enzimática muscular fique com eficácia de trabalho limitada (THOMASSIAN, 2005).

2.6. USO CLÍNICO DO LACTATO E ALTERAÇÕES RELACIONADAS

Na medicina veterinária a concentração de lactato pode ser utilizada como indicador da gravidade de afecções. Estudos feitos em cães identificaram uma hipoperfusão subjacente e posteriormente avaliaram a resposta do tratamento através das concentrações de lactato (LAGUTCHIK 1998, DE PAPP, 1999). Segundo relatos mais recentes o aumento da concentração de lactato sanguíneo (hiperlactatemia) em indivíduos com quadros graves, devido ao acúmulo do lactato, apresentam esse aumento devido ao estímulo adrenérgico que esses indivíduos estão sujeitos, e não a hipóxia tissular. A fadiga muscular é uma alteração que pode ser ocasionada pelo acúmulo do lactato que em resposta ao exercício intenso, a produção excede sua eliminação (SIMÕES, 2003; LELEU, 2005), e possui grande importância na alteração da performance do equino para o exercício sendo também causada pela combinação de efeitos de exaustão do suprimento de energia, hipertermia e desidratação (PICCIONE, 2005).

Também se faz o uso do lactato como indicador de prognóstico de cólica (Moore, Owen, & Lumsden, 1976; Magdesian, 2004). Os cavalos com concentrações sanguíneas de lactato superiores a 11.2 mEq/L têm um prognóstico pior em relação a pacientes com concentrações até 8.3 mEq/L (Magdesian, 2004).

3. METODOLOGIA

Foram avaliados 19 equinos da raça Mangalarga Marchador em uma prova de marcha realizada na cidade de Matipó/ MG, sendo 7 fêmeas e 12 machos. Os animais estavam associados à presença do cavaleiro montado e mantiveram um andamento em marcha por aproximadamente 30 minutos.

Duas amostras de sangue foram coletadas de cada animal, após antissepsia local, por meio de venopunção da jugular, utilizando-se sistema a vácuo em tubos BD Vacutainer® com anticoagulante fluoreto/EDTA. Sendo a primeira coleta realizada antes do animal iniciar a prova, identificado como momento zero (M0) e a segunda coleta realizada entre dois a cinco minutos após a saída do animal da prova de marcha, identificada como momento um (M1).

As amostras, após serem homogeneizadas, foram armazenadas imediatamente em caixa térmica contendo gelo reciclável e encaminhadas ao laboratório de patologia clínica do Hospital Veterinário da Faculdade Univértix em Matipó/MG. Posteriormente foi realizada centrifugação das amostras para obtenção

do plasma e análise dos valores de lactato. As análises foram realizadas no aparelho semi-automático de bioquímica Cobas Mira Plus®, no laboratório de patologia clínica do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFMG) com o reagente Bioclin® pelo método UV enzimático.

Concomitante à coleta de sangue dos animais nos momentos M0 e M1, foram avaliados parâmetros clínicos dos mesmos. Sendo eles frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), escore corporal (EC), turgor cutâneo (TC) e tempo de preenchimento capilar (TPC). Em acréscimo, foram registrados idade, sexo e condições de manejo, indicadas pelo proprietário, como tipo de alimentação, uso de suplementos e frequência de treinamento. Todos os dados e amostras dos animais foram adquiridas com o consentimento dos proprietários.

3.1. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A normalidade dos dados foi avaliada com o teste Shapiro-Wilk. Para a comparação dos valores basais de lactato com os valores após o exercício foi aplicado o teste T de Student. Foi realizado a correlação de Pearson entre os valores de lactato e o manejo de treinamento e os valores de lactato e a idade dos animais. Todos os testes foram realizados no programa computacional Sigma Plot 12.0 e para todas análises realizadas, estabeleceu-se como nível de significância $p \leq 0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Dentre os animais avaliados houve predomínio de machos (63%) em relação às fêmeas (37%). A idade dos animais variou de três a 16 anos, com uma média de seis anos. Em relação ao manejo dos animais, a alimentação foi composta de volumoso e concentrado, sendo que apenas quatro animais utilizaram suplementação. Os animais que utilizaram suplementação, não apresentaram valores de lactato diferente da média encontrada, nesse trabalho. Os proprietários submeteram os animais a treinamento na frequência de 15 em 15 dias, uma vez na semana, duas vezes na semana e até três vezes na semana, por aproximadamente 60 minutos.

O escore corporal variou de 2,5 a 4. Esse método de avaliação foi utilizado por CARTER (2009) os animais com esse escore apresentam pescoço firme e sem cristas, costelas e processos espinhosos cobertas e facilmente sentidas, pelve coberta por gordura e arredondada.

A média da frequência cardíaca (FC) antes da prova, foi de 41 batimentos por minutos (bpm) e logo após a prova, a média foi de 61 bpm apresentado na tabela 1. O aumento da FC é esperado após a realização de atividade física, essa elevação pode chegar até 140 bpm em prova de marcha (MANSO FILHO, 2010). Sendo essa elevação necessária para o adequado transporte de oxigênio e componentes energéticos para a musculatura esquelética, além de remover resíduos metabólicos como lactato e dióxido de carbono (CLAYTON, 1991).

Os valores entre a FC anterior à prova a após a prova demonstraram um aumento de 48%, segundo FERRAZ (2009), é comum a frequência cardíaca dos cavalos apresentar um aumento antes da prova de até 100% devido a fatores psicogênicos como ansiedade do movimento a sua volta e pelo início da atividade que estão acostumados a fazer, acompanhado de elevação de aproximadamente 100% da frequência respiratória (FR).

Ao final da prova, a maioria dos animais apresentavam-se ofegantes e com a FR em média de 35 movimentos por minuto (mpm), de acordo com a tabela 2, já que em momentos de atividade física ocorre elevação da ventilação pulmonar para facilitar as trocas gasosas e dissipação do calor (AINSWORTH, 2008). Levando em consideração que os valores de referência de FR para equinos são de 10 a 20 mpm (SILVA, 2005), os animais do presente trabalho tiveram uma exigência física para a realização da prova de marcha, sendo essa considerada um exercício predominantemente aeróbico, de intensidade moderada (JORDÃO, 2009).

Não foram encontradas diferenças estatísticas fazendo divisões entre machos e fêmeas e entre dois grupos de idades maiores e menores de 6 anos, não foi encontrado literatura que abordasse essas diferenças a título de comparação.

Também não foi encontrado diferença entre animais que treinavam uma vez na semana e três vezes na semana, Santiago (2010) citou que certos treinamentos enfatizam mais a parte técnica e menos preparação física dos cavalos não demonstrando alterações significativas como apresentado na tabela 4.

O resultado final dos níveis de lactato em equinos antes da prova variou de 0,75 mmol/L a 2,03 mmol/L, após a prova os níveis foram de 1,12 mmol/L a 4.66 mmol/L conforme descrito na tabela 3, em outro trabalho realizado por AGUILERA-TEJERO (1998) animais que também realizaram provas da mesma duração obtiveram o valor máximo de lactato de 5,3 mmol/L, segundo FERRAZ (2009) animais com 8

minutos de exercício apresentaram 0,4795 mmol/L , aos 10 minutos apresentaram 0,78 mmol/L (GAMA 2012) concluiu que animais em repouso obtiveram 0,41 a 1,02 mmol/L que comparados com animais deste trabalho também estão dentro dos padrões achados. Já em animais de corrida esse mesmo autor encontrou níveis de lactato sanguíneo pós prova 2,43 a 2,73mmol/l que comparados aos animais pós prova de marcha também ficaram com a mesma média.

Animais mal condicionados podem demonstrar fadiga muscular após exercício físico, atingindo valores de lactato plasmático relativamente baixos, demonstrando a incapacidade de produção de energia para aquele nível de atividade. Este fato foi comprovado por (MIRIAN, 2008) que demonstrou valores de 8,57 mmol/L nos cavalos de Hipismo Clássico bem condicionados que completaram o percurso, e de somente 4,97 mmol/L, nos animais mal condicionados. Concluimos assim que os animais da nossa pesquisa ficaram dentro dos padrões em comparação aos outros trabalhos.

TABELA 1 – Valores de frequência cardíaca (FC) em 19 equinos da raça Mangalarga Marchador, antes (M0) e após (M1) prova de marcha e respectivas médias e desvio padrão.

Animal	FC (bpm) M0	FC (bpm) M1
1	39	60
2	40	50
3	36	50
4	38	60
5	48	60
6	36	72
7	35	52
8	40	60
9	44	52
10	45	62
11	42	72
12	39	75
13	42	72
14	42	68
15	39	42
16	45	72
17	36	68
18	52	55
19	48	68
Média	41	62
Desvio Padrão	5	9

TABELA 2 – Valores de frequência respiratória (FR) em 19 equinos da raça Mangalarga Marchador, antes (M0) e após (M1) prova de marcha e respectivas médias e desvio padrão.

Animal	FR (mpm) M0	FR (mpm) M1
A	18	26
B	15	22
C	16	28
D	13	42
E	14	Ofegante
F	21	36
G	14	28
H	14	36
I	36	42
J	24	38
K	12	32
L	16	42
M	16	32
N	16	36
O	20	28
P	14	44
Q	15	39
R	16	36
S	16	40
Média	17	35
Desvio Padrão	5	6

TABELA 3 –Avaliação plasmática de lactato em 19 equinos da raça Mangalarga Marchador no momento antes (M0) e após (M1) prova de marcha e respectivas médias e desvio padrão.

Animal	Lactato M0 (mmol/L)	Lactato M1 (mmol/L)
1	0.75	2.28
2	1.03	1.12
3	1.69	2.57
4	1.03	3.62
5	0.81	2.33
6	1.05	1.81
7	1.77	2.21
8	0.92	1.59
9	1.08	1.83
10	2.03	3.55

11	1.03	3.34
12	0.98	4.31
13	1.16	3.27
14	1.44	2.37
15	0.87	2.38
16	0.69	2.32
17	0.49	1.38
18	1.52	2.86
19	1.19	4.66
Média	1,13	2,64
Desvio Padrão	0,39	0,98

TABELA 4 - Avaliação plasmática de lactato em 15 equinos da raça Mangalarga Marchador, divididos em sete animais com manejo de treinamento de uma vez por semana e oito com treinamento de três vezes na semana, antes (M0) e após término (M1) da prova de marcha e respectivas médias e desvio padrão.

Treinamento	Animal	Lactato M0 (mmol/L)	Lactato M1 (mmol/L)
Uma vez por semana	1	0.75	2.28
	4	1.03	3.62
	7	1.77	2.21
	10	2.03	3.55
	14	1.44	2.37
	16	0.69	2.32
	17	0.49	1.38
Média		1,17Ab	2,59Aa
Desvio padrão		0,58	0,85
Três vezes por semana	5	0.81	2.33
	6	1.05	1.81
	8	0.92	1.59
	11	1.03	3.34
	13	1.16	3.27
	15	0.87	2.38
	18	1.52	2.86
19	1.19	4.66	
Média		1,07Ab	2,78Aa
Desvio padrão		0,22	0,98

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna não houve diferença entre os grupos de treinamento no mesmo momento, segundo teste t ($p>0,05$). Letras minúsculas iguais nas linhas não houve diferença entre os momentos dentro do mesmo grupo de treinamento ($p>0,05$).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do presente trabalho permitem concluir que o exercício físico determinado através da prova de marcha gerou um aumento significativo nos valores plasmáticos de lactato sanguíneo em todos os animais. Entretanto, comparando animais com menos de seis anos e com mais de seis anos os níveis de lactato sanguíneo foram similares antes e após a prova de marcha, ou seja, a idade não influenciou na quantidade de lactato produzida após exercício de intensidade moderada. Assim como o animal possuir manejo de treinamento uma ou três vezes na semana, não demonstrou diferença estatística com relação aos níveis de lactato. Também foi possível concluir que os animais obtiveram um aumento da frequência cardíaca e frequência respiratória após prova de marcha, mas com valores registrados dentro de limites fisiológicos para o tipo de exercício imposto.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AINSWORTH, D.M. Via aérea inferior função: respostas ao exercício e treinamento. Em: HINCHCLIFF, K.W. ; KANEP, A.J. ; GEOR, R.J. (Ed.) **Medicina esportiva equina 75 e cirurgia: ciências básicas e clínicas de atleta equino**. Oxford: W.B. Saunders, 2004. p.599-612.

BALDISSERA, V. Fisiologia do exercício para equinos. **Caderno Técnico da Escola de Veterinária da UFMG**. n. 19. 1997. 39- 48 p.

CARTER, RA, GEOR, RJ, BURTON STANIAR, W., CUBITT, TA E HARRIS, PA 2009. adiposidade aparente avaliada por sistemas de pontuação padronizados e medições morfométricas em cavalos e pôneis. **O Veterinary Journal**, 179: 204-210.

CLAYTON, H.M. Condicionamento de cavalos de esporte. Mason - **Sport Horse Publications**, 1991. 271p.

COSTA, M. D.; BERGMANN, J. A. G.; RESENDE, A. S. C.; FONSECA, C. G.; FARIA, F. J. C. Estudo da subdivisão genética da raça Mangalarga Marchador. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.2, p.272-280, 2005.

DE PAPP E., DROBATZ K.J., HUGHES D. Concentração de lactato plasmático como preditor de necrose gástrica e sobrevida em cães com dilatação gástrica-vólvo: 102 casos (1995-1998). **Geléia. Veterinario. Med. Assoc.** 2: 49-52, 1999.

EATON, M.D. **Energética e performance**. Em: HODGSON, D.R. ; ROSE, R.J. O cavalo atlético: princípios e prática da medicina esportiva equina. Filadélfia: Saunders. 1994. p.49-62

ERCK, E. ; VOTION, D. M. ; SERTEYN, D. ; ART, T. Avaliação do consumo de oxigênio durante testes de campo em trotadores Standardbred. **Fisiologia do**

Exercício Equino e Comparativo, v.4, p. 43-49, 2007. <http://dx.doi.org/10.1017/S1478061507776466>. Acesso em 29 de outubro de 2017.

EVANS, D.L. Treinamento e condicionamento físico em cavalos atléticos. Sydney: University of Sydney. **Departamento de Ciência Animal**, 2000.

FERRAZ, G. C. Respostas endócrinas, metabólicas, cardíacas e hematológicas de equinos submetidos ao exercício intenso e a administração de cafeína, aminofilina e clenbuterol. **Dissertação**. UNESP, Jaboticabal, 2006.

FERRAZ, G.C. **Fisiologia do exercício e performance equina**. In SEMANA ACADÊMICA DE ZOOTECNIA DA UFPR. Curitiba, 2007. Disponível em: <<http://www.gege.agrarias.ufpr.br/Anais/Fisiologia.pdf>>. Acesso em: 24 outubro de 2017.

FERRAZ, G.C. et al. O limiar de lactato sanguíneo reflete as respostas de glicose no teste de submissão ao teste de exercício incremental. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 60, n. 1, 2008.

FERRAZ G.C., TEIXEIRA-NETO A.R., LACERDA-NETO J.C., PEREIRA M.C. & QUEIROZ-NETO A. Respostas ao exercício de intensidade crescente em equinos: alterações na glicose, insulina e lactato. **Cienc. Anim. Bras.**, 10:1332-1338, 2009.

FERRAZ, G. C.; TEIXEIRA-NETO, A. R.; PEREIRA, M. C.; LINARDI, R. L.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Influência do treinamento aeróbio sobre o cortisol e glicose plasmáticos em equinos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.62, n.1, p.23-29, 2010.

FERRAZ, G.C. et al. O limiar de lactato sanguíneo reflete as respostas de glicose no teste de submissão ao teste de exercício incremental. **Brazilian Arquivo de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 60, n. 1, 2008.

GARCIA, M. et al. Evaluación del entrenamiento tradicional del caballo criollo chileno de rodeo mediante el análisis de variables fisiológicas y bioquímicas sanguíneas. *Archivos de Medicina Veterinária*, vol.32, no.2, p.171-183, 2000

GONDIM, F. J; ZOPPI, C. C; SILVEIRA, L.R .; SILVA, L. P .; MACEDO, D.V. Possível relação entre desempenho e estresse oxidativo em equinos de resistência. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 29, n. 4, p. 206-212, 2009

GRAMKOW, H.L.; FERRAZ, G.C. Fisiologia do exercício em equinos. **Vet. Polo Clínica Veterinária**, 2007

GUERRA, P.; MEDEIROS, S.A.F. **Estudo mostra que mercado equino gera R\$ 7,5 bilhões**. Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil. (s/l), 2006. Disponível em: <<http://www.cna.org.br/site/noticia.php?n=13894>>. Acesso em: 01 set. 2017.

GUIMARÃES, J.L.; ADELL, E.A.A. **Estrutura e bioquímica do músculo**. Unicamp, 1995. 34 p. (Apostila do Laboratório de Carnes)

HARRIS, P.A .; HARRIS, R.C. Ajuda ergogênica nutricional no cavalo - usos e abusos. In: CONFERENCE ON EQUINE SPORTS MEDICINE AND SCIENCE, 1998, Córdoba, Espanha. **Anais...** Holanda: WageningenPers, 1998. 272p. p.203-218

HODGSON, D.R .; ROSE, R.J. **O cavalo atlético**: princípios e prática da equineMedicine. Filadélfia: Saunders, 1994. 497 p.

IBGE Banco de dados agregados/IBGE **sistema IBGE de recuperação automática-SIDRA**. Disponível em:<https://serieestatisticas.ibge.gov.br/series.aspx?vcodigo=PPM01>. Acessado em 14 de setembro de 2017.

JORDÃO, L. R. Manejo nutricional e suplementação dietética com cromo em equinos Mangalarga Marchador em prova de marcha. 2009. 101f. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia)** – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais(UFMG)

KANEKO, J. J. Carbohydrate metabolism and its diseases. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. New York: Elsevier, 6. ed, 2008, p.45-80.

LACERDA, J.C.N. **Respostas orgânicas ao exercício físico**. In: SIMPÓSIO DENUTRIÇÃO DE EQUINOS, 1. Campinas, 2004.

LAGUTCHIK M.S., OGILVIE G.K., HACKETT T.B. & WINGFIELD W.E. Aumento das concentrações de lactato. em III e cães feridos. **J. Vet. Emerg. Crit. Care**, 8: 117-127, 1998

LANCHA Jr, AH. **Nutrição e metabolismo aplicados à atividade motora**. São Paulo: Atheneu; 2004.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 2000. 552 – 557 p.

LELEU, C; COTREL, C; COUROUCE-MALBLANC, A. Relações entre variáveis fisiológicas e desempenho de raça em trotters standardbred franceses. **Registro Veterinário**, v. 156, n. 11, p. 339-342, 2005.

LINDNER, A. Uso de bioquímica do sangue para diagnóstico de desempenho positivo de cavalos esportivos na prática. **Revue Médecine Vétérinaire**, v.151, n.7, p.611-618, 2000.

MACLEAY, J. M. Diseases of the musculoskeletal system. In: REED, S. M.; BAYLY, W. M; SELLON, D. C. Equine Internal Medicine. 3. ed., St. Louis: W. B. Saunders Company, 2004, p. 461- 522

Magdesian K.G. (2004). Monitoring the critically ill equine patient. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice, 20, 11-39

MANSO FILHO, H.C .; MANSO, H.E.C.C.C. et al. Alterações metabólicas em quatro cavalos de corrida após a simulação de marcha. **Equine Veterinary Journal, Cambridge**, v. 42, p. 105-109, 2010.

MARQUES, M. S. Influência do exercício físico sobre os níveis de lactato plasmático e cortisol sérico em cavalos de corrida. 70 f. **Dissertação** (Mestrado em Clínica Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2002

MARTINOD, S.R. et al. Liberação da proteína de choque térmico Hsp 72 após exercício e suplementação com extrato naopuntiaficusindica TEX-OE. Em: ANUAL CONVENÇÃO DA ASSOCIAÇÃO AMERICANA DE EQUINIZADORES, 53. **Proceedings ...** Orlando, Flórida, EUA, 1-5 de dezembro de 2007. p.72-76.

MIRIAN, M.; BONOMO, C. C. M.; SALOMÃO, C. R.; CAROLI, A. M. C.; MICHIMA, L. E. S.; FERNANDES, W. R. Determinação do lactato – comparação entre fotometria de reflexão (Accutrend®) e UV enzimático. In: 9º CONFERÊNCIA ANUAL DA ABRAVEQ E 4º CONGRESSO INTERNACIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA FEI/CBH, 2008, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Abraveq, 2008.

MIRIAN, M. **Padronização de teste incremental de esforço máximo a campo para cavalos que pratiquem “hipismo clássico”**. 2008. 72 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

Moore J.M., Owen R., & Lumsden J.H. (1976). Clinical evaluation of blood lactate levels in equine colic. *Equine Veterinary Journal*, 8, 49-54.

NABHOLZ, T.V. **Nutrição Esportiva**. Aspectos relacionados à suplementação nutricional. 1ª ed. São Paulo: Sarvier, p. 193-199, 2007

NELSON, D. L.; COX, M. M. Lipid biosynthesis. In: Lehninger: Principles of Biochemistry. 5. ed., New York: W.H Freeman and Company, 2008a, p.805-850.

PICCIONE, G. et al. Fadiga central e alteração nictemeral de triptofano e serotonina séricos no cavalo atlético. **JournalofCircadianRhythms**, Italia, 2005.

RESENDE, A. M.; Miosites no cavalo atleta. **Anais do II Simpósio do Cavalo Atleta – IV Semana do Cavalo**, BH/UFMG, p.56-75, 2005.

SANTIAGO, T.A. Metabolismo Energético em cavalos durante simulação de prova de vaquejadas. 2010. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 2010

SILVA, L.Q.P. **Fisiologia do exercício no cavalo atleta**. 2005. 50 f. Monografia.Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal.

SILVA LAC, SANTOS SA, MCMANUS C, SILVA RAMS, COSTA ACO, SERENO JRD, et al. Tolerância ao calor dos cavalos Pantaneiros utilizados na luta diária do gado no pantanal brasileiro. **Arch Zootec**. 2005; 54 (206-207): 515-21.

SIMÕES H. G .; CAMPBELL, C. S .; KUSHNICK, M. R .; NAKAMURA, A .; KATSANOS, C. S .; BALDIS-SERA, V .; MOFFATT, R. J. Limiar de glicose no sangue e as respostas metabólicas aos testes de exercício incremental com e sem a prévia indução de acidose láctica. **Revista Européia de Fisiologia Aplicada**, v. 89, p. 603-611, 2003.

SIZER, FS; WHITNEY, E.N. **Nutrição: conceitos e controvérsias**. São Paulo: Manole; 2003.

COMPARAÇÃO DOS VALORES DE GLICOSE DO SANGUE CAPILAR E VENOSO EM CÃES POR MEIO DO GLICOSÍMETRO PORTÁTIL HUMANO E MÉTODO ENZIMÁTICO-COLORIMÉTRICO

Acadêmica: Mariana Arantes Cardoso

Orientadora: Vanessa Guedes Pereira

RESUMO

Manter a quantidade de glicose sanguínea dentro dos limites fisiológicos do animal se torna importante para reduzir complicações associadas à alterações nesses valores, que gerem a hiperglicemia ou hipoglicemia. A mensuração da glicose tem destaque para o diagnóstico dessas alterações e também para monitoração de determinada patologia como o Diabetes, por exemplo. Neste estudo, foram utilizados 20 cães para mensurar a glicemia em amostras do sangue capilar e venoso, através do glicosímetro portátil humano, e correlacionar seus resultados com aqueles alcançados com o método laboratorial. Os resultados obtidos pelo glicosímetro obtiveram média de 80,65 mg/dL com sangue capilar e 84,7 mg/dL com sangue venoso central. No método laboratorial com sangue venoso central, a média glicêmica foi de 87,5 mg/dL. Na análise comparativa houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre todos os métodos. Conclui-se que a dosagem de glicose do sangue venoso ou do sangue capilar utilizando o glicosímetro portátil em cães, apresenta resultado semelhante ao método laboratorial, sendo considerada clinicamente útil em animais hospitalizados.

PALAVRAS-CHAVE: cão; glicosímetro; mensuração; espectrofotometria.

1. INTRODUÇÃO

Os carboidratos são a fonte mais importante de energia no organismo. Eles são divididos quanto ao número de unidades básicas em monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos (MOTTA, 2009). A glicose é um tipo de monossacarídeo definido como a principal fonte de energia celular para todos os mamíferos, nos quais é responsável pelo provimento de ATP de forma anaeróbica ou aeróbica (MACHADO, 1998).

Manter a quantidade de glicose sanguínea em valores normais se torna importante para reduzir complicações associadas a alterações nesses valores (PICA *et al.*, 2003). Em condições que levam à hipoglicemia ou hiperglicemia a mensuração da glicose tem destaque para o diagnóstico e também para monitoração de determinada patologia (COHN *et al.*, 2000).

A glicemia é obtida pelo método enzimático-colorimétrico, também chamado de metodologia de Trinder, através do espectrofotômetro de luz, um equipamento de bancada laboratorial (OLIVEIRA *et al.*, 2015). Na década de 70 surgiram os medidores

portáteis de glicose para humanos, com o intuito de auxiliar pessoas diabéticas na automonitorização (MAELE *et al.*, 2005).

Atualmente as análises automáticas laboratoriais e os aparelhos portáteis são as técnicas utilizadas para mensurar a glicose sanguínea (PICA *et al.*, 2003). Estudos demonstram que aparelhos portáteis apresentam resultados próximos aos obtidos pelo método laboratorial, entretanto, alguns modelos foram mais precisos que outros (CASELLA *et al.*, 2002). Estudos também já constataram que podem existir diferenças entre os resultados obtidos por glicosímetros humanos quando se utilizam amostras de sangue capilar ou total em animais (WESS & REUSCH, 2000b).

O presente trabalho teve por objetivo mensurar a glicemia em amostras do sangue capilar e venoso de cães através do glicosímetro portátil humano, e correlacionar seus resultados com aqueles alcançados com o método laboratorial, avaliando-se a eficácia dos exames nesta espécie.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Glicose sanguínea

Nos animais, o suprimento constante de glicose é essencial para tecidos como o cérebro e as células vermelhas do sangue, que dependem da glicose como fonte primária de energia. Ela é mobilizada a partir dos estoques de glicogênio, principalmente no fígado, para suprir os demais tecidos (VOET *et al.*, 2014) sendo o principal substrato utilizado pelo organismo para a realização de diferentes funções biológicas (GONZÁLES & SILVA, 2006). A glicemia é o nível de glicose que está presente no sangue, apresentando valores de referência de 65 a 118 mg/dL em cães (TECSA, 2017).

A hemácia ou eritrócito, também conhecido como célula vermelha sanguínea (CVS), representa 40-45% do volume sanguíneo. No processo de maturação a CVS perde todas as suas organelas e subcelulares, sendo possível utilizar somente a glicose e a glicólise como sua única fonte de energia, durante um processo de metabolização totalmente anaeróbico (BAYNES & DOMINICZAK, 2015).

A glicemia é regulada por uma complexa inter-relação de muitas vias e modulada por vários hormônios. A conversão de glicose a glicogênio é chamada de glicogênese, enquanto a glicogenólise é a quebra do glicogênio em glicose. Na gliconeogênese ocorre formação de glicose a partir de outras fontes não carboidratos.

A conversão da glicose ou outras hexoses em lactato ou piruvato é chamada glicólise (MOTTA, 2009).

Vários agentes atuam para aumentar a quantidade de glicose circulante, como o hormônio glucagon e o hormônio do crescimento (GH), além de um processo de retroalimentação. A diminuição da concentração da glicemia é determinada pelo hormônio pancreático insulina (KERR, 2003).

A glicemia é controlada através da junção de vários fatores, tais como: tempo após a última refeição, influência hormonal e nervosa e o uso de glicose pelos tecidos periféricos, como músculo esquelético. O tempo após a última refeição é importante apenas em animais monogástricos, nos quais a ingestão de alimento é seguida pelo aumento da glicemia (LASSEN, 2007). Dentro de cada espécie animal ocorrem variações da glicemia principalmente em função da idade, dieta e das condições fisiológicas (GONZÁLES & SILVA, 2006).

Quaisquer alterações fisiopatológicas que decorram em desequilíbrio de pelo menos um dos fatores que regulam sua concentração na corrente sanguínea, podem resultar em hipoglicemia ou hiperglicemia, de forma contínua ou intermitente (NELSON, 2015).

A hipoglicemia é caracterizada por uma redução da concentração de glicose plasmática para níveis de glicemia inferiores do intervalo de referência (DAVISON, 2012). Ela tipicamente resulta da captação excessiva de glicose por células normais ou por células neoplásicas, pelo comprometimento de gliconeogênese e glicogenólise hepática por uma deficiência em hormônios diabetogênico, por uma ingestão inadequada de glicose e de outros substratos necessários para a gliconeogênese hepática, ou ainda por uma combinação desses mecanismos como na sepse, por exemplo. A hipoglicemia iatrogênica é um problema comum, resultante de administração excessiva de insulina em cães e gatos diabéticos (NELSON & COUTO, 2015).

Já na hiperglicemia, têm-se o aumento da concentração de glicose plasmática para níveis superiores que ocorre de forma fisiológica ou patológica em resposta às alterações no metabolismo da glicose (deficiência de insulina relativa ou absoluta; redução do consumo periférico de glicose; aumento da glicogenólise ou gliconeogênese) ou ao excesso de hormônios hiperglicemiantes (cortisol, ACTH, GH, glucagon e adrenalina) entre outros fatores (RABELO, 2012).

2.2. Mensuração dos níveis glicêmicos

A avaliação precisa e eficiente da concentração de glicose no sangue de um animal, ajuda no manejo clínico de muitas condições patológicas que causam hiperglicemia ou hipoglicemia, bem como, na avaliação pré-anestésica do paciente, e por este motivo, a dosagem da glicemia é amplamente utilizada em cães e gatos hospitalizados (GUIMARÃES *et al.*, 2007; JOHNSON *et al.*, 2009; TAUKE *et al.*, 2015). Além disso, estudos demonstraram que um controle glicêmico ruim em pacientes hospitalizados, mesmo em não diabéticos, está associado ao aumento de efeitos adversos e mortalidade (SBPC/ML, 2012).

Resultados de diversos estudos que utilizaram diferentes medidores de glicose indicaram que valores de hematócrito abaixo do normal podem resultar em superestimação dos níveis de glicose em laboratório. (LACARA *et al.*, 2007). Quando o valor de hematócrito se encontra elevado, há maior atividade metabólica dos eritrócitos, posterior redução de glicose (SERÔDIO *et al.*, 2008) e isso resultará em valores subestimados de glicemia em relação aos valores do laboratório (LACARA *et al.*, 2007).

Na maioria dos pacientes, a mensuração da glicose sanguínea pode ser realizada por dois métodos: pela técnica laboratorial ou técnica portátil.

2.2.1. Técnica laboratorial

A mensuração da glicose sanguínea pela técnica laboratorial é mais confiável, mas por gerar maiores custos, o seu uso fica restrito aos laboratórios de análises clínicas. A técnica laboratorial permite maior precisão, e por isso é adotada como glicosímetros de referência (PICA *et al.*, 2003).

Os analisadores automatizados são considerados o método padrão para avaliar a glicemia, mas apresentam como desvantagem maior volume de amostra de sangue e maior tempo para mensurar os resultados em relação à técnica portátil (SACKS, 2006).

Para a mensuração da glicemia laboratorial, o soro ou o plasma destinado à análise da glicemia deve ser separado das hemácias em até 30 minutos, pois a glicólise causa perda de 10% do conteúdo de glicose por hora, caso o soro ou o plasma permaneça em contato com elas. Quando não for possível separar o plasma

ou soro das células nesse tempo, o fluoreto de sódio deve ser utilizado para a inibição da glicólise (LASSEN, 2007).

A medição de glicemia em laboratório é mais precisa. Contudo, é mais demorada, pois não só envolve a venopunção do animal para colheita de amostras de sangue, como também, a preparação das amostras em plasma ou soro e posterior análise pelo equipamento automatizado (DOMORI *et al.*, 2014).

A determinação da glicemia em espectrofotômetro baseia-se no método colorimétrico enzimático, que tem como princípio básico a oxidação da glicose sob a ação catalisadora da glicose-oxidase. A partir desta reação forma-se o peróxido de hidrogênio, que em presença da peroxidase como enzima catalisadora sofre reação oxidativa de acoplamento com a 4-aminoantipirina e fenol, formando um cromógeno vermelho cereja. A intensidade da cor é proporcional à concentração de glicose (LUPPI *et al.*, 2007).

2.2.2. Técnica portátil

Testes laboratoriais remotos (TLR), do inglês *Point-of-care testing – POCT*, são testes realizados por meio de um equipamento laboratorial situado, fisicamente, fora da área de um laboratório clínico, em geral, em locais próximos ao paciente (SBPC/ML, 2012).

O glicosímetro portátil é um dos métodos recomendados pelo *College of American Pathologists* (PASCALI, 2004). Na década de 70 foram criados os primeiros monitores portáteis da glicemia para facilitar a realização do teste de glicose. Tais monitores, inicialmente, foram fabricados para pacientes humanos com diabetes monitorarem sua glicose ao longo do dia (MAELE *et al.*, 2005). Na Medicina Veterinária os glicosímetros portáteis auxiliam na rotina de forma fácil, rápida e com baixo custo, a monitoração da glicemia em uma variedade de condições médicas dos animais (ALEIXO *et al.*, 2006).

Estes aparelhos mensuram a glicose através de reações eletroquímicas que geram um impulso elétrico a ser interpretado pelo aparelho, resultando na concentração de glicose na amostra (PICA *et al.*, 2003). Segundo a *Food and Drug Administration* (FDA), os glicosímetros portáteis não podem apresentar taxa de erro maior que 20% na concentração de glicose sanguínea para valores entre 30 e 400mg/dL. A precisão desses aparelhos portáteis é fundamental para o sucesso nas decisões terapêuticas e diagnósticas (FRECKMANN *et al.*, 2012).

As vantagens dessa técnica em relação ao método convencional são o menor tempo de processamento da amostra, o que permite maior rapidez na decisão médica quanto ao tratamento, assim como o baixo volume de amostra biológica utilizada (LODE, 2005).

As instruções para operação do glicosímetro portátil sugerem que os níveis de hematócrito precisam estar entre 25 a 55% para fornecerem valores fidedignos de glicemia capilar. Mesmo com essa recomendação, os glicosímetros geralmente são utilizados sem considerar os níveis de hematócrito dos pacientes (LACARA *et al.*, 2007).

3. METODOLOGIA

Foi mensurada a glicose no sangue de 20 cães de raças, sexos, idades e pesos variados atendidos no Hospital Veterinário da Faculdade Univértix em Matipó – MG. Após o consentimento do proprietário foram realizadas as seguintes mensurações:

3.1. Método laboratorial enzimático-colorimétrico

O teste laboratorial enzimático-colorimétrico (GOD-POD) foi realizado no Laboratório Clínico do Hospital Escola Gardingo. Previamente, foi realizada a depilação e antissepsia da região de coleta do sangue. Foram coletadas 4mL de amostras sanguíneas das veias cefálicas, safena ou jugular, dependendo da facilidade de acesso da mesma em cada paciente. O sangue venoso foi coletado em seringa descartável de 5mL com agulha 25x0,7mm e armazenado em tubo de ensaio com fluoreto de sódio e imediatamente centrifugado por 6 a 8 minutos a 1500 rotações por minuto (rpm) para obtenção do plasma.

O plasma foi separado com uma pipeta de precisão e acondicionado no tubo eppendorf para posterior armazenamento na geladeira até a hora de realização do teste, que não excedia o tempo de 2h.

O teste foi executado com o kit reagente bioquímico de glicose enzimática líquida da Doles® de acordo com as recomendações do fabricante. Após o tempo necessário a leitura da amostra foi realizada em espectrofotômetro em analisador químico clínico semiautomático Mindray® BA-88A devidamente calibrado.

Nos animais em que foi autorizado, foram coletadas também amostras de sangue venoso em tubo contendo EDTA para posterior avaliação do volume globular (VG) feito com microhematócrito.

3.2. Glicosímetro portátil Accu-Chek® Active empregando-se sangue capilar e periférico

Para dosar a glicemia dos pacientes com glicosímetro portátil foram coletadas amostras de sangue capilar e venoso, sendo utilizado o glicosímetro portátil Accu-Check® Active (Roche Diagnóstica Brasil) e tiras teste validadas para este modelo de aparelho.

Previamente à coleta do sangue capilar, foi realizado a antisepsia e depilação da orelha. Realizou-se também a punção na face interna do pavilhão auricular do animal com uma agulha hipodérmica descartável calibre 25x0,7mm e a tira teste do glicosímetro foi encostada na gota de sangue, após aproximadamente 5 segundos, o monitor fornecia a quantidade de glicose sanguínea em mg/dL.

Para a mensuração da glicemia no sangue venoso, foi utilizada a amostra coletada anteriormente para a análise bioquímica. Após a amostra ser depositada no tubo de ensaio contendo fluoreto de sódio, uma pequena quantidade de sangue era mantida na seringa, sendo em seguida, depositada na tira teste já acoplada ao glicosímetro.

3.3. Análise estatística

A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Foi aplicado o teste t e também realizado o coeficiente de correlação de Pearson e regressão linear com $p < 0,05$, para a comparação da glicemia pelo glicosímetro e o método de referência (laboratorial), bem como, da glicemia com o hematócrito, utilizando o programa Sigma Plot 12.0.

Também foi avaliado o coeficiente de variação das médias de glicemia mensurada pelo glicosímetro e pelo método laboratorial.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de glicemia alcançados com Accu-Chek® Active variaram entre 64 a 110 mg/dL utilizando amostras de sangue venoso, e 60 a 102 mg/dL com sangue

capilar, enquanto que empregando o método laboratorial que realiza leituras no plasma, os valores obtidos estavam entre 53 a 128 mg/dL (Figura 1)

Tabela 1: Valores de glicemia mensurados em glicosímetro e método enzimático colorimétrico de 20 cães atendidos no Hospital Veterinário Gardingo – Matipó-MG.

Animal	Método enzimático (mg/dL)	Sangue venoso (mg/dL)	Sangue capilar (mg/dL)
1	110	82	92
2	97	93	79
3	107	87	87
4	92	93	69
5	66	84	91
6	70	83	70
7	80	88	97
8	82	97	102
9	53	64	64
10	78	65	71
11	128	110	99
12	96	81	101
13	88	76	70
14	81	69	65
15	82	89	77
16	80	78	60
17	91	100	84
18	82	80	64
19	84	83	85
20	103	92	86

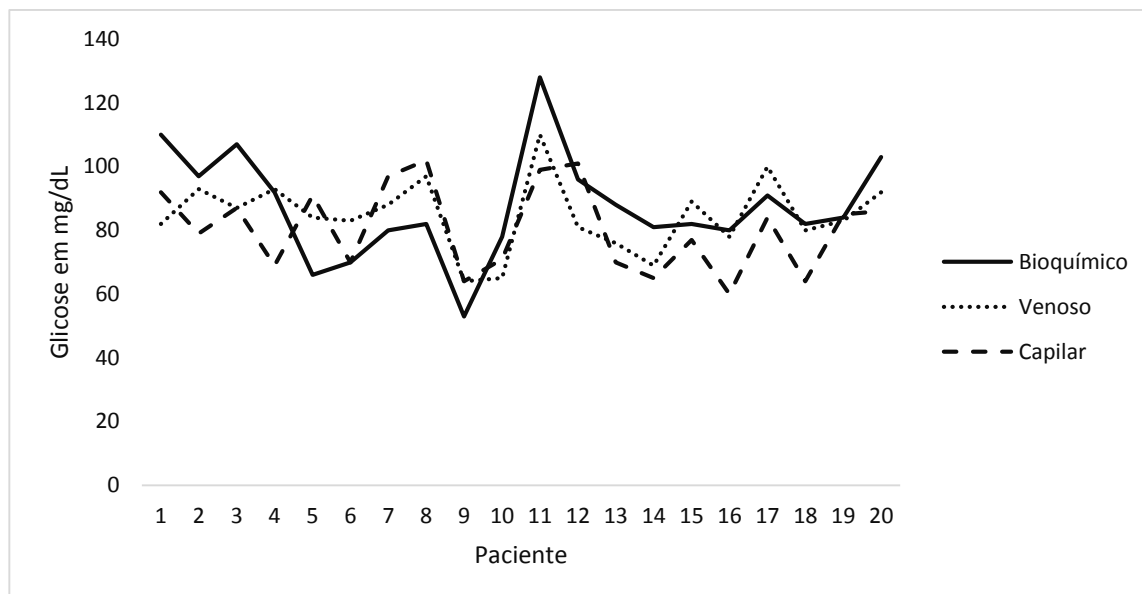


Figura 1: Resultados da glicemia em mg/dL obtidos por método bioquímico e glicosímetro utilizando o sangue venoso e o sangue capilar.

O valor de hematócrito dos animais também foi avaliado, porém somente 15 animais realizaram o hemograma. Os resultados variaram de 20% a 49% nas amostras de sangue venoso e não houve correlação significativa entre este parâmetro com o exame bioquímico ($p=0,59$), com o sangue venoso ($p=0,58$) e com sangue capilar ($p=0,89$).

A média, desvio padrão e coeficiente de variação da glicemia mensurada pelo glicosímetro e método laboratorial, bem como, do hematócrito, estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 2: Média, desvio padrão e coeficiente de variação da glicemia mensurada pelo glicosímetro com sangue capilar, glicosímetro com sangue venoso, pelo método enzimático colorimétrico. Média, desvio padrão e coeficiente de variação do valor do hematócrito em 20 cães atendidos no Hospital Veterinário Gardingo – Matipó-MG.

	GSC (mg/dL)	GSV (mg/dL)	GOD-POD (mg/dL)	Ht (%)
\bar{X}	80,65	84,7	87,5	37,8
S_x	13,58	11,43	16,65	9,27
CV%	16%	13%	19%	24%

Na tabela: GSC = glicosímetro com sangue capilar; GSV = glicosímetro com sangue venoso; GOD-POD = método enzimático colorimétrico; Ht = hematócrito; \bar{X} = média do método considerado para todos os animais; S_x = desvio padrão; CV% = coeficiente de variação em porcentagem para todos os animais.

Não houve diferença estatística na comparação da glicemia no sangue capilar e

sangue venoso, mensuradas pelo glicosímetro portátil e da glicemia mensurada pelo método enzimático. Resultado semelhante foi observado por Vandresen *et al.* (2009) em um estudo realizado com 36 pacientes humanos onde os valores glicêmicos foram mensurados em quatro momentos através do glicosímetro digital portátil (sistema capilar) e comparados com o método laboratorial, onde foi observado que não houve diferença estatística significativa entre os métodos.

A média da glicemia do sangue capilar avaliadas com o glicosímetro (80,65; \pm 13,58) foi menor quando comparado com a glicemia avaliada em plasma venoso através do método laboratorial enzimático (87,5 \pm 16,65) (TABELA 1). Este resultado corrobora com Oliveira *et al.* (2015) que avaliou a glicemia em 20 gatos. Essa diferença pode ocorrer devido à natureza densa do sangue pelas hemácias, pois a concentração de glicose no sangue total é aproximadamente 10 a 15% menor do que no plasma, o qual é utilizado para análise bioquímica laboratorial (OLIVEIRA *et al.*, 2015). Nos estudos realizados por Wess e Reusch (2000a), as concentrações de glicose existentes no sangue capilar de 221 cães e gatos mensurado por um glicosímetro, Elite® (Bayer), foram inferiores aos valores de glicose contidos no sangue total.

Comparando-se a média da glicemia do sangue venoso avaliada com o glicosímetro (84,7; \pm 11,43) com o método laboratorial (87,5 \pm 16,65) (TABELA 1), a média glicêmica mensurada com glicosímetro foi inferior. Resultado diferente foi relatado por Santos *et al.* (2008), com 50 cães e Oliveira *et al.* (2015) com 20 gatos.

Na comparação da glicemia do sangue venoso (84,7; \pm 11,43) com sangue capilar (80,65; \pm 13,58), ambos utilizando o glicosímetro, observou-se que a média glicêmica com sangue capilar foi inferior, quando comparada à média com sangue venoso central. Dos 20 pacientes incluídos neste estudo, 2 apresentaram valores idênticos entre as duas glicemias medidas.

Resultados diferentes entre os valores glicêmicos do sangue capilar e venoso podem ser justificados pela influência da pressão parcial de oxigênio (pO₂) nos glicosímetros, que funcionam por sistema amperométrico glicose-oxidase dependente. A energia gerada pela reação eletroquímica, através dos impulsos elétricos, é interpretada no aparelho como a concentração de glicose (WESS e REUSCH, 2000b).

Quando há maior competição do oxigênio durante a reação, menos elétrons são formados ao final, reduzindo a intensidade da corrente elétrica e, conseqüentemente, o resultado glicêmico. O sangue capilar possui pO₂ maior que o sangue venoso e, por isso, há maior competição do oxigênio durante a reação e menos elétrons são formados ao final, reduzindo assim o valor glicêmico mensurado (GINSBERG, 2009; TANG *et al.*, 2001). Da mesma forma que a elevada pO₂ pode subestimar a glicemia, a reduzida pO₂ na amostra pode elevar o resultado (TANG *et al.* 2001).

As afirmações anteriores podem justificar os resultados encontrados através do glicosímetro do tipo amperométrico glicose-oxidase dependente, onde a média glicêmica do sangue capilar foi menor que a do sangue venoso central. Uma vez que a influência do oxigênio existe, não se recomenda a utilização desses aparelhos em pacientes críticos ou em oxigenioterapia (GINSBERG, 2009; TANG *et al.*, 2001; FRECKMANN *et al.*, 2013).

Além disso, coeficiente de variação das médias de glicemia do sangue capilar foi de 16%, do sangue venoso foi de 13%, enquanto o do método enzimático foi de 19%, demonstrando que o método laboratorial apresenta maior coeficiente de variação que o glicosímetro assim como observado por Zini *et al.* (2009) e Aleixo *et al.* (2010). Aleixo *et al.* (2010) relataram coeficientes de variação de 9,4% entre os valores da glicemia capilar obtida em aparelho portátil e 10,4% da venosa através do método enzimático laboratorial. No estudo realizado com 39 gatos hiperglicêmicos, cuja glicemia era superior a 162 mg/dL, foram observados maiores coeficientes de variação na mensuração com glicosímetro (3,5%) em relação aos obtidos pelo método laboratorial (0,9%) (ZINI *et al.*, 2009).

No presente estudo, tanto a glicemia do sangue venoso como a do sangue capilar, ambas mensuradas com o glicosímetro digital, apresentaram correlação positiva e significativa ($p < 0,05$) com o método laboratorial enzimático de referência ($r^2 = 0,39$ e $r^2 = 0,22$, respectivamente) (FIGURAS 2 e 3). Com isso foi demonstrado que um aumento nos níveis de glicose no sangue venoso ou no sangue capilar, corresponde a um aumento na mensuração do método laboratorial e conseqüentemente, o glicosímetro pode ser utilizado para a mensuração da glicemia em cães, com resultados semelhantes ao método laboratorial.

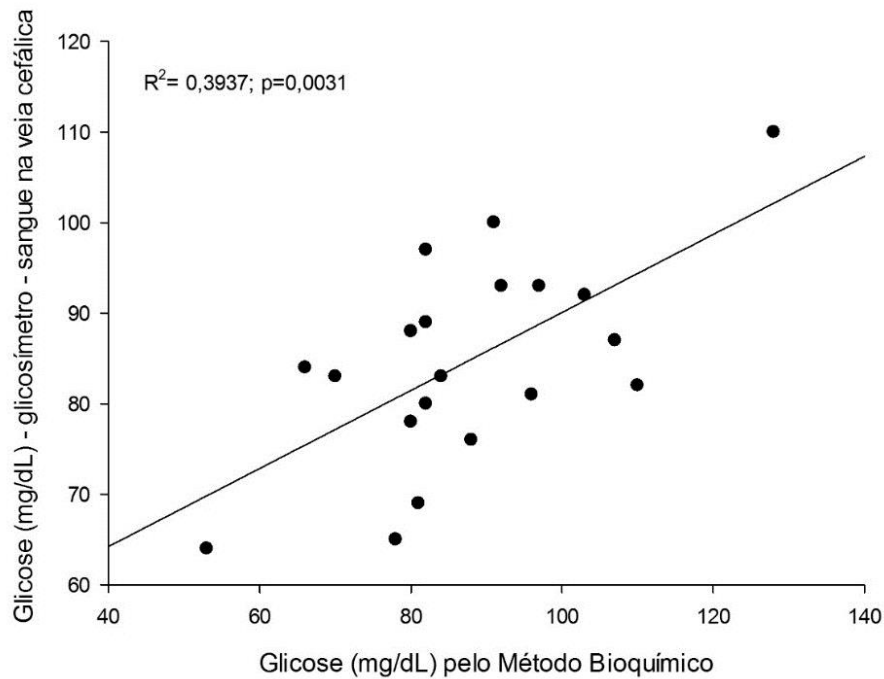


Figura 2: Variação da glicose mensurada pelo glicosímetro utilizando-se sangue venoso em função do método enzimático

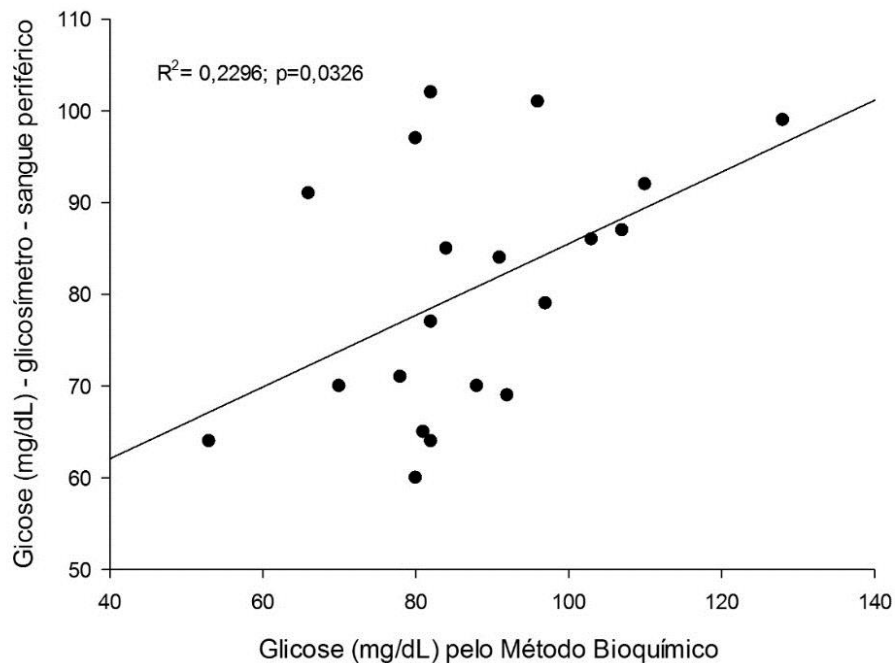


Figura 3: Variação da glicose mensurada pelo glicosímetro utilizando-se sangue capilar em função do método bioquímico.

Estudos avaliaram uma variedade de glicosímetros portáteis onde constataram que os resultados obtidos são próximos aos encontrados com o método de referência, embora alguns tenham sido mais precisos que outros (CASELLA, 2002).

Corroborando os resultados alcançados neste estudo com cães em que não houve diferença estatística significativa entre os diferentes métodos.

O método que utiliza sangue venoso ou capilar permite uma rápida estimativa da glicemia no glicosímetro portátil e pode funcionar como referência até que os resultados laboratoriais sejam liberados para auxiliarem na direção das decisões terapêuticas a serem abordadas (KUMAR *et al.*, 2004). A mensuração da glicemia capilar pelo glicosímetro foi realizada em amostra de sangue puncionado na face interna da orelha dos cães, procedimento esse, que revelou-se de fácil e rápida realização. Utilizar essa região para coleta, causa menos desconforto para o paciente e mantém as veias periféricas preservadas (THOMPSON *et al.* 2002).

Já naqueles pacientes que estão internados e com acesso venoso, Oliveira *et al.*, (2015) sugere-se a utilização de amostra coletada a partir do catéter, e posterior mensuração em glicosímetro portátil, uma vez que foi observado uma variação de 5,1% entre o sangue do acesso venoso e o método padrão (colorimétrico-enzimático).

Utilizar amostras de sangue capilar ou venoso permite a obtenção mais rápida dos resultados através do método portátil, também minimiza os custos do procedimento quando comparado ao método enzimático. Coletar amostra direto do acesso venoso torna-se relevante, visto que os animais internados estão sendo sempre monitorados e passam por coletas periódicas para serem realizados outros exames, permitindo-se que dessa mesma amostra sanguínea, uma pequena alíquota seja avaliada no glicosímetro portátil com resultado imediato (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

Muitos fabricantes têm lançado novos modelos de glicosímetros portáteis no mercado, com o anúncio de melhorias como: maior precisão, rapidez na mensuração, redução na quantidade de volume sanguíneo requerido e redução na necessidade de um técnico para realizar o teste (WESS & REUSCH, 2000a).

Fatores que podem interferir a precisão de glicosímetros no sangue incluem: altitude, temperatura, umidade, concentrações de triglicerídeos (BRIGGS & CORNELL, 2015). Outro fator que também pode afetar os resultados é o incorreto manuseio do glicosímetro digital portátil, visto que Aleixo *et al.*, (2006) já relataram descarte de amostras a interferência destes fatores. Por isso as instruções do fabricante do glicosímetro digital portátil e fitas-teste devem ser estritamente seguidas. O glicosímetro também é o método mais indicado para mensurações em amostras de

sangue lipêmicas ou hemolisadas, pelo fato de a opacidade interferir nos métodos laboratoriais (KERR, 2003).

A Organização Internacional para Padronização (ISO) recomendou, em 2013, que mais de 95% das mensurações devem estar ± 15 mg/dL das análises automáticas laboratoriais para concentrações de glicose abaixo de 100 mg/dL e dentro de $\pm 15\%$ para valores de glicose maiores ou iguais que 100 mg/dL. De acordo com a *Food and Drug Administration* (FDA) todos os glicosímetros devem ter uma taxa de erro $< 20\%$ na concentração de glicose sanguínea para valores entre 30 e 400 mg/dL (BRIGGS & CORNELL, 2004).

Ao avaliar a acurácia dos aparelhos utilizando sangue capilar, o glicosímetro apresentou 4 (20% ≥ 100 mg/dl) e 9 (45% < 100 mg/dl) leituras que diferiram respectivamente $\pm 15\%$ e ± 15 mg/dl das análises automáticas laboratoriais, totalizando 7 mensurações dentro dos limites requeridos pela ISO. Nesse estudo, 7 (35%) das mensurações se encontram dentro dos valores recomendados, o que pode ser justificado pela diversidade dos animais que foram utilizados e número amostral pequeno.

Torna-se importante compreender as limitações dos TLR para definir o valor clínico dos resultados obtidos. Na comparação dos resultados do desempenho de glicosímetros com equipamento laboratorial, é importante considerar o tipo de paciente em que foi coletada a amostra. Grupos de pacientes como: neonatos prematuros, pacientes em choque, hemodiluídos ou hemoconcentrados ou aqueles utilizando em uso de medicamento vasoativos ou soluções expansoras de volume, as variações em alguns parâmetros laboratoriais são muito rápidas e lábeis. Por isso, o emprego do TLR deve ser criterioso em razão de possíveis diferenças que possam ser encontradas em relação ao equipamento laboratorial (SBPC/ML, 2012).

5. CONCLUSÃO

A dosagem de glicose do sangue venoso ou do sangue capilar utilizando o glicosímetro portátil Accu-Chek® Active em cães, apresenta resultado semelhante ao método laboratorial, sendo considerada clinicamente útil em animais hospitalizados. Sendo assim o glicosímetro utilizado no presente estudo pode ser indicado no monitoramento da glicemia em cães que não apresentam alterações hematológicas importantes, como alternativa ao método laboratorial.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEIXO, G. A. S.; COELHO, M. C. O. C.; GUIMARÃES, A. L. N.; ANDRADE, M. B.; JÚNIOR, C. G. L.; SILVA, R. A. A.; CAVALCANTI, H. B. Fatores que podem invalidar os resultados da mensuração dos níveis glicêmicos em cães utilizando o glicosímetro portátil. **Ciência Animal Brasileira**. v.7, n.4 (4). p.448-450. 2006.

ALEIXO, G. S.; COELHO, M. C. O. C.; TENÓRIO, A. P. M.; GUIMARÃES, A. L. N.; ANDRADE, M. B.; CAVALCANTI, H. B. Uso do glicosímetro portátil para determinar a concentração de glicose no sangue de cães. **Ciência Animal Brasileira**. v.11, n.3. p. 537-545. 2010.

BAYNES, J. W.; DOMINICZAK, M. H. **Bioquímica Médica**. 2ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

BRIGGS, A.L; CORNELL, S. Self-monitoring blood glucose: now and future. **Journal of Pharmacy Practice**, v.17, n.1. p. 29-38. 2004.

CASELLA, M.; WESS, G.; REUSCH, C. E. Measurement of capillary blood glucose concentrations by pet owners: a new tool in the management of diabetes mellitus. **Journal of the American Animal Hospital Association**. v.38, n.3. p. 239-245. 2002.

COHN, L.A.; MACCAW, D.L.; TATE, D.J.; JOHNSON, J. C. Assessment of five portable blood glucose meters, a point-of-care analyzer, and color test strips for measuring blood glucose concentration in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.216, n.2. p.198-202. 2000.

DAVISON, L. L. Canine Diabetes mellitus. In: MOONEY, C.T. & PETERSON, M. E. P. **BSAVA Manual of Canine and Feline Endocrinology**. 4ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association. p.116-132. 2012.

DOMORI, A.; SUNAHARA, A.; TATENO, M.; MIYAMA, T. S.; SETOGUCHI, A.; ENDO, Y. The clinical utility of two human portable blood glucose meters in canine and feline practice. **Veterinary Clinical Pathology**, v.43, n.1. p.55-62. 2014.

FRECKMANN, G.; SCHMID, C.; BAUMSTARK, A.; PLEUS, S.; LINK, M.; HAUG, C. System Accuracy Evaluation of 43 Blood Glucose Monitoring Systems for Self-Monitoring of Blood Glucose according to DIN EN ISO 15197. **Journal of Diabetes Science and Technology**. v.6. p.1060-1075. 2012.

FRECKMANN, G.; SCHMID, C. BAUMSTARK, A.; PLEUS, S.; LINK, M.; HAUG, C. pressure of oxygen in capillary blood samples from the fingertip. **Journal of Diabetes Science and Technology**. v.7. p.10648-1649. 2013.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bioanalytical Method Validation. Guidance for Industry**. 2013.

GINSBERG, B. H. Factors affecting blood glucose monitoring: sources of errors in measurement. **Journal of Diabetes Science and Technology**. v.3. p.903-913. 2013.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006. 357p.

GUIMARÃES, S. M.; OLIVA, V.N.L.S.; MAIA, C.A.A.; CIARLINI, L.D.R.P.; PERRI, S.H.V.; SILVA, A.R.S.; OLIVEIRA, D.B.; VIVIAN, M.C.R. Correlação de diferentes períodos de jejum com níveis séricos de cortisol, glicemia plasmática, estado clínico e equilíbrio ácido-base em cães submetidos à anestesia geral inalatória. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.44. p.96-102. 2007.

JOHNSON, B.; FLATLAND, B.; FRY, M.; KIRK, C. Comparison of a human portable blood glucose meter, veterinary portable blood glucose meter, and automated chemistry analyzer for measurement of blood glucose concentrations in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.235, n.11. p.1309-1313. 2009.

KERR, M. G. Exames práticos na clínica. In: **Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária (Bioquímica Clínica e Hematologia)**. 2ed. São Paulo: Roca, 2003. p. 327-338.

KUMAR, G.; LEONG, B.; KUMAR, S. Correlation of capillary and venous blood glucometry with laboratory determination. **Prehospital Emergency Care**, v.25, n.4. p.378-383. 2004.

LACARA, T.; DOMAGTOY, C.; LICKLITER, D.; QUATTROCCHI, K.; SNIPES, L.; KUSZAJ, J. PRASNIKAR, M. Comparison of point-of-care and laboratory glucose analysis in critically ill patients. **American Journal of Critical Care**. v.16, n.4. p.336-346. 2007.

LASSEN, E.D. Avaliação laboratorial das proteínas do plasma e do soro sanguíneo. In: **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 1ed. São Paulo: Roca, 2007, p.376-390.

LODE, P. V. Point-of-care immunotesting Approachinh the analytical performance of Central Laboratory methods. **Clinical Biochemistry**. v.38. p.591-606. 2005.

LUPPI, M. M.; BASTOS, J. A. B.; MALTA, M. C. C.; COSTA, M. E. L. T.; PEREIRA, M. M. Estudo comparativo entre métodos de determinação da glicemia em macacos-prego (*Cebus apella*) mantidos em cativeiro. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.102. p.75-79. 2007.

MACHADO, U. F. Transportadores de glicose. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**. v.42, n.6. p.413-421. 1998.

MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica para o laboratório – princípios e interpretações**. 5ed. Rio de Janeiro: MedBook, 2009. p. 43 – 46.

MAELE, I.V.; ROGIER, N.; DAMINET, S. Retrospective study of owner's perception on home monitoring of blood glucose in diabetics dogs and cats. **Canadian Veterinary Journal**. v.46, n.8. p. 718-723. 2005.

NELSON R. W. Canine Diabetes Mellitus. In: FELDMAN, E. C.; NELSON R. W. **Canine and Feline Endocrinology and Reproduction**. 4ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company. p.214-258. 2015.

NELSON, R.W., COUTO, C.G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 5ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

OLIVEIRA, Y. S. G.; JÚNIOR, J. D. C.; LEONARDO, A. S.; MORAIS, K. S. Comparação entre os métodos laboratorial e portátil na análise da glicemia em felinos com amostras de sangue venoso central e capilar. **Ciência Animal brasileira**. v.2, n.2. p. 279-286. 2015.

PASCALI, P.M. Monitorização da glicemia capilar. **BD Terapêutica em Diabetes**. ano 9, n.31. p.4-5. 2004.

PICA. C.Q.; MENEZES, J. R.; ALBERTAZZI, J. A., CAMIÑA, R. M. Avaliação comparativa de glicosímetros portáteis através de curva glicêmica induzida. **CONGRESSO BRASILEIRO DE METROLOGIA**. n.3. Anais. Recife: Sociedade Brasileira de Metrologia, 2003. p.1-7.

RABELO, R. C. **Emergências de pequenos animais: condutas clínicas e cirúrgicas no paciente grave**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. 1184p.

SACKS, D. B. Carbohydrates. In: BURTIS C. A.; ASHWOOD, C. A.; BRUNS D. E. **Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics**. 4ed. St Louis: Elsevier Saunders, 2006. p.837–901.

SANTOS, T. F.; RUBIO M. S.; NEVES E. T. V.; SILVA J. E. S.; GUERRA C. R. S. B.; COELHO W. M. D.; FONZAR, J. F. Avaliação comparativa entre o glicosímetro portátil e o método laboratorial enzimático colorimétrico na dosagem glicêmica em cães. **Ciências Agrárias e da Saúde**. v.8. p.7-11. 2008.

SERÔDIO, A. T.; CARVALHO, C. B.; MACHADO, J. A. Glicemia em cães (*Canis familiaris*) com glucômetro digital portátil e teste laboratorial convencional. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, v.1, n.1. p.25-34. 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. **Diretriz para a Gestão e Garantia da Qualidade de testes laboratoriais remotos (TLR) da SBPC/ML**. São Paulo, 2012. 286p.

TAUK, B. S.; DROBATZ, K. J.; HESS, R. S.; WALLACE, K. A. Correlation between glucose concentrations in serum, plasma, and whole blood measured by a point-of-care glucometer and serum glucose concentration measured by an automated biochemical analyser for canine and feline blood samples. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.246, n.12. p.1327-1333. 2015.

TANG, Z.; LOUIE, R. F.; LEE, J. H.; LEE, D. M.; MILLER, E. E.; KOST, G. J. Oxygen effects on glucose meter measurements with glucose dehydrogenase- and oxidase-based test strips for point-of-care testing. **Critical Care Medicine**. v.29, n.5. 2001. p.1062-1070.

TECSA – Tecnologia em Sanidade Animal. **Manual de coletas pet 2017**. Belo Horizonte, 2017. 211 p.

THOMPSON, M. D.; TAYLOR, S. M.; ADAMS, V. J.; WALDNER, C. L.; FELDMAN, E. C. Comparison of glucose concentrations in blood samples obtained with a marginal ear vein nick technique versus from a peripheral vein in healthy cats and cats with diabetes mellitus. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 221, n.13. p.389-392. 2002.

VANDRESEN, L. T. S.; SCHNEIDER, D. S. L. G.; BATISTA, M. R.; CROZATTI, M. T. L.; TEIXEIRA, J. J. V. Níveis glicêmicos de pacientes diabéticos segundo estudo comparativo entre duas técnicas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.30, n.1. p.111-113. 2009.

VOET, D.; VOET, J.; PRATT, C. W. **Fundamentos de bioquímica: a vida em nível molecular**. 4ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

WESS, G.; REUSCH, C. Evaluation of five portable blood glucose meters for use in dogs. **American Journal of Veterinary Research**. v.61, n. 12. p.203-209. 2000a.

WESS, G.; REUSCH, C. Capillary blood sampling from the ears of dogs and cats and use of portable meters to measure glucose concentration. **Journal of Small Animal Practice**. v.41. p.60-66. 2000b.

ZINI, E.; MORETTI, S.; TSCHUOR, F.; REUSCH, C. E. Evaluation of a new portable glucose meter designed for he use in cats. **Clinic for small animal internal medicine**, German, v.151, n.9, p.448-51, 2009.

COMPARAÇÃO ENTRE CLOREXIDINA E *Aloe vera* NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS ABERTAS PROVOCADAS CIRURGICAMENTE EM COELHOS

Acadêmicos: Juliana Rodrigues Freitas Costa Pereira e Vivian Duelli Avelar

Orientadora: Mayara Cristini Ferreira de Aguiar

RESUMO

A *Aloe vera*, também conhecida como babosa, é comumente utilizada na medicina humana e em cosméticos. Já a clorexidina, é bastante utilizada na rotina de clínicas e hospitais em limpeza das mãos, de ambientes e de feridas devido a sua ação antisséptica e desinfetante. Sabe-se que as lesões na pele comprometem funções importantes de proteção e barreira física contra traumas, invasão bacteriana, substâncias estranhas, tornando o tratamento de feridas um tema relevante dentro da medicina veterinária, bem como a busca de terapias cicatrizantes alternativas. O objetivo do presente trabalho foi comparar a eficácia da mucilagem de babosa e clorexidina 2% na cicatrização de feridas abertas, provocadas cirurgicamente em coelhos. Foram utilizados 9 coelhos da raça Nova Zelândia, sob anestesia geral e induzidas 4 feridas no dorso de cada animal com o auxílio de um punch 0,5 cm, somando um total de 36 feridas, sendo 18 tratadas com *Aloe vera* e 18 com clorexidina durante 15 dias. Foi possível observar que o uso tópico da babosa proporcionou uma boa reepitelização macroscopicamente visível, livre de reações adversas, diferente das tratadas com clorexidina 2% que proporcionou feridas com crostas ressecadas e reações adversas.

PALAVRAS-CHAVE: Babosa; Cicatrização; Fitoterapia

1. INTRODUÇÃO

A pele dos mamíferos é um órgão complexo, que possui funções importantes, protegendo o corpo contra meios adversos, criando uma barreira física contra traumas, invasão bacteriana ou viral e outras substâncias estranhas (MARTINS, 2010). A ocorrência de lesões nessa estrutura pode comprometer essas funções, o que torna o tratamento de feridas um tema relevante dentro da medicina veterinária, bem como a busca de terapias cicatrizantes alternativas (SERAFINI *et al.*, 2012).

A *Aloe vera*, mais conhecida como babosa, é uma planta pertencente da família Liláceas (BOZZI *et al.*, 2007). Bastante utilizada na medicina humana há mais de 5.000 anos (BLANES, 2004), a babosa tem crescente emprego em cosmética e medicina e possui uma forte ação cicatrizante (CASTRO & RAMOS, 2002). Além destas, a *Aloe vera* tem sido utilizada como um recurso de alimento funcional (MAAN, 2018). Conforme relatado por Langmead *et al.* (2004), o potencial medicinal da babosa

encontra-se nos 70 diferentes compostos biologicamente ativos descritos que atribuem a ela propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antidiabéticas, imunoestimulantes e outras.

A clorexidina é uma bis-biguanida de ação antisséptica e desinfetante (SILVA, 2009), também conhecida como digluconato de clorexidina. É amplamente utilizada na rotina de clínicas e hospitais, na limpeza de pele e de mucosas antes de procedimentos invasivos ou cirúrgicos e na desinfecção de mãos e feridas (AMORAS, 2013; PEREIRA, 2006). Suas propriedades antimicrobianas são atribuídas a sua estrutura bicatiônica, possuindo ação bacteriostática e bactericida contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (SILVA, 2009).

Diante do exposto e da constatação acerca do baixo custo da *Aloe vera* e da facilidade de sua aquisição no Brasil, o objetivo deste trabalho foi testar a eficiência de aplicações diárias da mucilagem obtida da babosa, comparadas ao uso de clorexidina a 2% na recuperação tecidual de feridas induzidas cirurgicamente.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Feridas

As feridas são caracterizadas pela separação dos tecidos do corpo ou qualquer lesão tecidual, seja no epitélio, mucosas ou órgãos, com prejuízo de suas funções básicas (WENDT, 2005).

Uma das formas de serem classificadas está relacionada ao tempo necessário de reparação tissular, em agudas e crônicas. As feridas agudas podem ocorrer devido a cirurgias ou traumas e a reparação destas ocorrem em tempo adequado e sem complicações. Já as feridas crônicas, são aquelas que não são reparadas em tempo esperado e que apresentam complicações (BLANES, 2004).

Wendt (2005) afirmou que, em termos simples, os ferimentos podem ser abertos e fechados. Sendo os ferimentos abertos lacerações ou perdas de pele. E os ferimentos fechados, lesões por esmagamento ou contusão. As feridas abertas, pela etiologia, podem ser classificadas em: abrasão (lesão à pele, constituindo da perda da epiderme e parte da derme); avulsão; incisão (normalmente causada por objeto corante em que as bordas da ferida são regulares e ocorre mínimo traumatismo tecidual nos tecidos vizinhos); laceração e, finalmente, ferimento por punção.

2.2. Processo cicatricial

A reparação tissular é constituída por dois mecanismos: a regeneração e a cicatrização. Na regeneração, ocorre uma substituição do tecido lesado por um tecido semelhante ao que foi perdido na lesão. Ao passo que o processo de cicatrização ou reparo consiste em substituir os defeitos teciduais por uma cicatriz não funcional (MARTINS, 2010). O trauma inicial gera uma resposta inflamatória aguda, manifestada por meio de edema e formação de exsudato seroso, rico em leucócitos, que cessa em menos de 24 horas. As células epidérmicas das margens da ferida e das invaginações epidérmicas dos folículos pilosos e glândulas sudoríparas e sebáceas começam a proliferar e migrar no leito da ferida, ocluindo rapidamente sua superfície (BLANES, 2004).

Descrito por Dorneles *et al.* (2003), a cicatrização é resultado de um processo que possui eventos que ocorrem, simultaneamente, restaurando o tecido afetado, sendo classificados em quatro estágios: inflamatório, debridamento, reparação e maturação. Durante o estágio inflamatório e de debridamento ocorrem respostas celulares e vasculares fundamentais para a eliminação de antígenos e tecido desvitalizados

O estágio de reparação consiste na proliferação de fibroblastos que são responsáveis pela síntese de colágeno e infiltração capilar, que em conjunto com os fibroblastos darão origem ao tecido de granulação em feridas abertas, não permitindo que haja proliferação de micro-organismos e auxiliando na migração do epitélio. Dessa maneira, é fornecido oxigênio para produção de colágeno e proliferação epitelial, que ocorre com a estimulação de células da camada basal que migram em direção à área lesada e passam por um intenso processo mitótico, tendo início entre o terceiro e quinto dia após a lesão (DORNELES *et al.*,2003).

Ainda no estágio de reparação, a área a ser epitelizada é diminuída em consequência ao tecido de granulação que se contrai, empurrando as bordas da ferida para seu próprio centro. Esse processo de contração da ferida é completamente independente do processo de epitelização, ocorrendo abaixo do novo epitélio formado e desaparecendo, gradualmente, à medida que as margens da ferida se movem para o centro até se encontrarem (DORNELES *et al.*,2003).

O processo de cicatrização de uma ferida pode ocorrer por três formas distintas, sendo elas por primeira, segunda ou terceira intenção. Deve-se levar em consideração

o agente causador da lesão, a quantidade de tecido perdido e o conteúdo microbiano ali presente (BAJAY e ARAUJO, 2006).

A cicatrização por primeira intenção ocorre quando não há perda tecidual e as extremidades da pele ficam justapostas. Normalmente, está associada a feridas limpas, quando a pele foi cortada por meios assépticos (NITZ *et al.*, 2006). Já a cicatrização por segunda intenção, ocorre em feridas em que houve perda de tecido e as extremidades da pele estão distantes uma da outra, sendo necessária a formação de tecido de granulação até que a contração e epitelização aconteçam. A cicatrização por terceira intenção acontece quando há fatores que interferem e retardam a cicatrização de um ferimento que inicialmente foi fechado por primeira intenção (CAMARGO, 2011).

2.3. *Aloe vera*

A *Aloe vera* é uma planta pertencente da família Liliaceae e do gênero *Aloe sp.* (BOZZI *et al.*, 2007; SILVA, 2009), é conhecida popularmente como babosa. É reconhecida devida a sua utilização generalizada que vai desde o uso medicinal, alimentar e até cosmético, sendo a mais comercializada de sua espécie (HAMMAN, 2008).

De origem noroeste africana e ocorrência em regiões subtropicais e tropicais (DEBIASE *et al.*, 2007), a babosa é caracterizada por possuir caule curto e estolonífero. Suas raízes são abundantes, longas e carnosas. As folhas são grossas, carnosas, rosuladas, eretas, ensiformes e podem chegar a medir de 30 cm a 60 cm de comprimento (MARTINS, 2010) e são constituídos de 96% de água e 4% de complexas moléculas de carboidratos, ácidos orgânicos, sulfato, ferro, vitaminas, entre outras (VIANA, 1997). Possui coloração verde-branca, com manchas claras, quando novas, e formato lanceolado, agudo e com margens de dentes espinhosos. Sua face ventral é plana, enquanto sua face dorsal é convexa, cerosa e lisa (MARTINS, 2010).

No interior de suas folhas, há um líquido de aparência clara, viscosa e macia, semelhante a uma geleia (SILVA, 2008) que, segundo Martins (2010), possui odor pouco agradável e sabor amargo. Esse tecido parenquimático gelatinoso é rico em polissacarídeos (mucilagem) em que se concentram seus princípios ativos, constituídos de tecidos orgânicos, vitaminas, enzimas, aminoácidos e sais minerais

(BACH *et al.*, 2007). Depois de colhida, sua mucilagem torna-se de coloração violácea e aroma forte e desagradável (MARTINS, 2010).

O potencial medicinal da babosa encontra-se nos 70 diferentes compostos biologicamente ativos descritos que atribuem a ela propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antidiabéticas, imunoestimulantes, e outras (LANGMEAD *et al.*, 2004). Já como cicatrizante, Patrocínio & Machilha (2012) relataram que há comprovações “*in vitro*” por estimular a produção de colágeno e proteoglicanos aumentando a resistência da pele, inibindo a inflamação e sentimento da dor.

2.4. Clorexidina

Sintetizada, em 1950, na Inglaterra, a clorexidina, também é conhecida como digluconato de clorexidina (AMORAS, 2013). Sua estrutura bicatiônica faz dela um antimicrobiano (SILVA, 2009) de ação bacteriostática ou bactericida, sendo definidas quando em baixas e elevadas concentrações respectivamente (AMORAS, 2013). Além disso, o digluconato de clorexidina age bem sobre fungos e vírus (MARUO, 2007).

Segundo Pereira (2006), o mecanismo de ação da clorexidina consiste em exercer atividade germicida, destruindo a membrana citoplasmática das bactérias. Possui ação eficiente contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sendo mais efetiva contra as Gram-positivas, como algumas espécies de *Pseudomonas sp.* e *Proteus sp.*, entretanto, é ineficaz contra micobactérias.

Sua ação antisséptica e desinfetante (SILVA, 2009) contribui para a utilização na rotina de clínicas e hospitais, na limpeza de pele e de mucosas antes de procedimentos invasivos ou cirúrgicos e na desinfecção de mãos e feridas. Embora alguns trabalhos alertem sobre a toxicidade do uso de anti-sépticos, eles continuam sendo utilizados para o tratamento de feridas, sendo a clorexidina o segundo anti-séptico mais utilizado, perdendo somente para o Polivinilpirrolidona Iodo (PVPI). Isso porque uma solução de continuidade da pele, provocada por uma ferida, permite que micro-organismos residentes ou transitórios que nela se encontram — e até mesmo de superfícies e outras fontes com as quais a ferida possa ter entrado em contato — multipliquem-se de forma a causar uma infecção na pele. (PEREIRA, 2006; SILVA, 2004).

De acordo com Paganela *et al.* (2009), os resultados obtidos de trabalhos que relatam a utilização da clorexidina não são suficientes para afirmar uma eficiência sobre a cicatrização, principalmente quando se trata de feridas abertas.

Segundo Amoras (2013), os efeitos colaterais do uso de clorexidina incluem reações tardias como dermatite de contato, fotossensibilidade, toxicidade e, em casos mais raros, choque anafilático.

Silva (2009) afirma que as indicações clínicas do uso da clorexidina demonstram que sua utilização é baseada em formulações tópicas, líquidas, semissólidas e já existindo o desenvolvimento de formulações sólidas de uso em cavidades e superfícies externas.

3. METODOLOGIA

3.1. Obtenção da mucilagem de *Aloe vera*

As folhas da babosa foram cortadas e levadas ao Laboratório do Hospital Veterinário Univértix onde foram lavadas com água corrente em abundância. Utilizando-se de luvas de látex, foi feito um corte vertical na folha. A mucilagem foi fracionada por igual em forma plástica, medindo 3,5 cm x 3,5 cm x 2 cm, que, em seguida, foi armazenada no congelador. Antes de sua utilização, o cubo de mucilagem foi retirado e descongelado a temperatura ambiente.

3.2. Animais

Foram selecionados de forma aleatória nove coelhos da raça Nova Zelândia, de ambos o sexo, com peso médio de 2 kg, adquiridos e mantidos no Hospital Veterinário Univértix. Para que os animais não interferissem na aplicação das drogas nas feridas um dos outros, os coelhos permaneceram alojados em gaiolas individuais durante todo o processo de cicatrização, à temperatura ambiente, onde receberam alimentação e água à vontade.

3.3. Indução das feridas

Foi realizada a tricotomia do dorso de cada animal e antissepsia com clorexidina 2%. Em seguida, os animais foram sedados com midazolam 5 mg/kg por via intramuscular na região do quadríceps. Posteriormente, os animais foram

anestesiados com isoflurano por via inalatória e mantidos sobre anestesia geral com o uso de máscara.

Com os coelhos em plano anestésico adequado, foram realizadas quatro feridas no dorso de cada animal, paralelamente à coluna vertebral, entre as escápulas de cada membro torácico, equidistantes 2 cm umas da outra. As feridas foram promovidas com o auxílio de um punch de 0,5 cm, retirando-se um fragmento de pele e tecido subcutâneo, preservando a integridade do tecido muscular. A identificação das lesões foi feita de acordo com sua localização. Dessa forma, foram denominadas: cranial direito (CRD), cranial esquerdo (CRE), caudal direito (CAD) e caudal esquerdo (CAE).

Foi administrado cloridrato de tramadol 5 mg/kg associado à dipirona 25 mg/kg a cada 8 horas para promover analgesia aos animais por via subcutânea.

3.4. Organização dos grupos experimentais

O dia da produção das feridas foi considerado como dia zero (d-0) e os dias seguintes foram denominados d-1 a d-15, sucessivamente. Durante as primeiras 36 horas, nenhum tratamento foi realizado para se obter feridas contaminadas. Em d-2 todas as feridas foram lavadas com solução salina 0,9% e, em seguida, iniciado o tratamento em que as feridas CRD e CAD receberam aplicação de babosa e as feridas CRE e CAE de clorexidina 2%. Foram administradas quantidades iguais de cada tratamento nas lesões, de acordo com sua localização, com o auxílio de uma pipeta de pasteur de forma a preencher toda sua superfície. Esse protocolo de tratamento foi repetido nos 15 dias posteriores, duas vezes ao dia.

No d-11, houve uma segunda limpeza de todas as feridas com solução salina 0,9%, com remoção das crostas que atrapalhavam a visualização de seu real tamanho. Durante esse procedimento, não houve ocorrência de sangramento, o que poderia contribuir para um retardo na cicatrização.

3.5. Avaliação das feridas

Foram feitas análises macroscópicas diariamente, observando a presença ou ausência de hiperemia (quando se limitava apenas as bordas das feridas), edema, crostas ao redor e sobre a ferida, umidade, eritema e cicatrização. Esses mesmos parâmetros foram avaliados quanto à quantidade de lesões que demonstraram tais

parâmetros ou que tivesse cicatrizado. Para análise, as feridas foram graduadas como (-), 1 a 6 feridas, (+) 7 a 12 (++) e 13 a 18 feridas (+++). As avaliações foram subjetivas e realizadas por um único observador.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em d-2 a evolução da cicatrização foi considerada clinicamente normal. Havia presença de coágulo e as feridas encontraram-se avermelhadas indicando a fase inflamatória do processo cicatricial (Foto 1).

Foto 1: Ferida produzida cirurgicamente em dorso de coelho, com punch de 0,5cm, no segundo dia de experimento.



Legenda: As lesões identificadas CRE e CAD, tratadas com clorexidina 2% e as lesões identificadas CRD e CAD, tratadas com *Aloe vera*.

Conforme Mandelbaum (2003), a formação de coágulo sobre feridas atuam na coaptação de suas bordas para cruzar a fibronectina e, dessa forma, oferecer uma matriz provisória que permite o ingresso de fibroblastos, queratinócitos e células endoteliais nas feridas, auxiliando no processo cicatricial e atuando em conjunto como uma barreira de proteção para a lesão, sendo de grande importância para impedir que haja contaminação. Mas, quando há presença de coágulo, possui a desvantagem de retardar o processo cicatricial, caso não haja a remoção do coágulo ressecado.

As características das lesões tratadas com clorexidina e seu processo cicatricial foram acompanhados e descritos, como representado na Tabela 1:

Tabela 1: Características apresentadas pelas feridas tratadas com Clorexidina a 2%, avaliadas nos dias d-3, d-5, d-9, d-11, d-13 e d-15.

Características	d-3	d-5	d-9	d-11	d-13	d-15
Hiperemia	+++	++	-	-	-	-
Edema	+	+	-	-	-	-
Crostas ao redor da lesão	-	+++	+	+	+	-
Crosta sobre a lesão	+++	+++	+++	+	-	-
Umidade	++	-	-	-	-	-
Eritema	+	++	-	-	-	-
Cicatrização	-	-	+	++	+++	+++

Legenda: - ausente; + leve; ++ moderado; +++ intenso.

Durante o experimento, notou-se a cicatrização de duas feridas tratadas com clorexidina 2% no d-9. Já nas feridas tratadas com babosa, somente uma cicatrizou no mesmo período. No dia final de avaliação (d-15), 16 feridas, no total de 18, tratadas com clorexidina haviam cicatrizado provavelmente devido a sua ação antimicrobiana (SILVA, 2009).

Como demonstrado na Tabela 1, as lesões tratadas com clorexidina apresentaram crostas intensas por volta do d-3. De acordo com Ribeiro (2008) a formação de crosta é um sinal positivo na cicatrização, apresentando uma maior formação de vasos sanguíneos, infiltrado inflamatório e fibras colágenas.

Por outro lado, Andrade (2006) afirmou que a formação de crostas em uma lesão não é um pré-requisito para uma boa cicatrização, podendo apresentar tanto vantagens quanto desvantagens sobre o processo. A presença da crosta e sua espessura podem interferir no processo cicatricial por dificultar a oxigenação da lesão e a migração do epitélio que desenvolve abaixo dela, de modo que as células epidérmicas precisem secretar enzimas proteolíticas com o intuito de dissolver a base da estrutura da crosta e prosseguir a epitelização, retardando o processo cicatricial (MARTINS, 2010).

No d-13, já não havia mais presença de crostas ressecadas, provavelmente devido à limpeza que foi feita com solução salina 0,9% no d-11 e à evolução do processo cicatricial que já estava se concretizando.

Além da presença de crostas ressecadas, houve presença de hiperemia já no dia seguinte ao início do tratamento (d-3) e edema. A vermelhidão intensa foi

observada no d-3, ao passo que, no d-5, apresentou-se de forma moderada. Já a presença de edema tanto no d-3 quanto no d-5 apresentou-se de forma leve. Ambas as características indicam a ocorrência de inflamação diante do contato do tratamento em uso às feridas. Isso porque conforme Pinheiro *et al.* (2002), edema, vermelhidão e dor caracterizam um processo inflamatório que, seguindo seu curso natural, não conta com a presença de supuração inicialmente. Para que isso ocorra, é necessário que haja infiltração de células vermelhas, histiócitos, leucócitos, macrófagos e bactérias piogênicas no tecido para, dessa forma, ocorrer o processo supurativo que resulta na liquefação do tecido e formação de pus.

Acredita-se que o processo inflamatório das lesões acometidas não evoluiu para a presença de pus pela ação antimicrobiana da clorexidina, já que enzimas proteinases e proteolíticas bacterianas colaboram nesse processo, e pelo fato dos animais terem sido mantidos em ambiente controlado (PINHEIRO *et al.*, 2002).

Características como eritema ocasionando um aumento de temperatura (calor) também é um dos sinais que compõem uma reação inflamatória (SANTOS, 2013). Essa ocorrência foi demonstrada de forma leve e intensa, no d-3 e d-5 respectivamente.

Como efeito colateral em função de sua toxicidade (AMORAS, 2013), o surgimento de crostas ao redor das lesões foi notável a partir do d-5 de forma intensa e persistiu, de forma leve, durante todo o processo de cicatrização como demonstrado na Tabela 1. O surgimento dessas características provavelmente se deu em resposta à concentração utilizada (2%) e pelo possível excesso de substância que foi aplicada com intenção de preencher a superfície de cada lesão, que possa ter entrado em contato com a pele. Isso porque, conforme Rossi *et al.* (2010), o potencial citotóxico da clorexidina é dependente da concentração em uso e do tempo de exposição. Além disso, como os antissépticos possuem citotoxicidade comprovada, devem ser indicados reservadamente para uso em feridas nas quais não haja presença de tecidos viáveis ou que o risco de alguma infecção supere o objetivo de promover reparação tecidual.

De acordo com Silva (2009), a concentração de formulações líquidas de clorexidina para tratamento de desordens cutâneas deve variar em 0,05%, em que, conforme Rossi *et al.* (2010), não provoque danos aos fibroblastos.

No d-9, não se observou tais características (Tabela 1), provavelmente devido ao cuidado que foi tomado no momento da aplicação do tratamento sobre a ferida,

havendo remoção manual do excesso que pudesse entrar em contato com a pele e dar continuidade à inflamação e irritação.

Em trabalhos como o de Silva (2004), observou-se um maior atraso na reparação tecidual das feridas lavadas com clorexidina 2%, quando comparadas com o uso de PVP-I e soro fisiológico, embora tenha sido demonstrado uma melhor proteção contra infecção no estudo. Em outro estudo, foi realizada a comparação histológica do efeito da clorexidina e do laser CO₂ na limpeza de feridas contaminadas por *Staphylococcus aureus* em ratos, constatando-se que o uso de clorexidina a 4% demonstrou reação inflamatória mais evidente (PINHEIRO *et al.*, 2002). Segundo Carmo *et al.* (2017) a clorexidina é capaz de induzir reações alérgicas quando em contato com a pele ou na conjuntiva ocular, porém são consideradas reações alérgicas de menor gravidade.

Quanto aos resultados obtidos na avaliação das feridas tratadas com *Aloe Vera*, observou-se maior umidade do que as lesões tratadas com clorexidina, como descrito na Tabela 2.

Tabela 2: Características das feridas tratadas com *Aloe vera* avaliadas nos dias d-3, d-5, d-9, d-11, d-13 e d-15.

Características	d-3	d-5	d-9	d-11	d-13	d-15
Hiperemia	-	-	-	-	-	-
Edema	-	-	-	-	-	-
Crostas ao redor da lesão	-	+	-	-	-	-
Crosta sobre a lesão	-	+	-	-	-	-
Umidade	+++	+++	+++	+	-	-
Eritema	-	-	-	-	-	-
Cicatrização	-	-	+	++	+++	+++

Legenda: - ausente; + leve; ++ moderado; +++ intenso.

A presença de umidade sobre a ferida pode ter sido responsável por proporcionar uma boa cicatrização perceptível a olho nu. Isso porque, de acordo com Santos (2011), uma ferida úmida traz efeitos benéficos para o processo de cicatrização e redução da dor, e sua presença permite epitelização 50% mais rápida e com mínima formação de crostas. Segundo Sarandy (2007), feridas superficiais abertas e ressecadas reepitelizam mais lentamente quando comparadas às feridas úmidas.

Essa umidade presente na lesão é proveniente dos constituintes mucilaginosos da *Aloe vera*, que atuam como um potente agente hidratante (MARTINS, 2010), permitindo às lesões um menor ressecamento, e o surgimento de crostas mínimas sobre a ferida, principalmente quando comparadas às lesões dos animais tratados com clorexidina. Este menor ressecamento contribui na migração dos queratinócitos, fibroblastos e angiogênese necessários para o processo de cicatrização não ficassem em desvantagens, pois, também são determinadas pelo conteúdo de água nas feridas e não somente pela formação de coágulo (MARTINS, 2010).

De acordo com Sousa (2013), a cicatrização eficiente observada macroscopicamente nas feridas, utilizando babosa, está relacionada às mais de duzentas moléculas biologicamente ativas presentes na planta, que atuam em sinergismo sobre os fibroblastos durante a formação de um novo epitélio.

Além disso, as feridas tratadas com *Aloe vera* mantiveram-se livres de reação inflamatória, comprovando sua ação anti-inflamatória, citada por Paganela *et al.* (2009), devido principalmente aos seus constituintes mucilaginosos, que segundo Semenoff *et al.* (2008), possuem vários componentes potencialmente ativos como aminoácidos, minerais, vitaminas, açúcares e enzimas. Esses componentes contribuem para a presença de propriedades importantes, além da ação anti-inflamatória, tal como maior penetração em tecidos, função imuno-reguladora e propriedades antimicrobianas.

Por outro lado, conforme Ferreira *et al.* (2013), as propriedades que levam a *Aloe vera* a possuir ação anti-inflamatória são as enzimas bradiquinase, o açúcar C-glucosil cromona, os ácidos graxos (colesterol, campesterol, β -sisosterol e lupeol), o aminoácido essencial ácido salicílico e os hormônios auxinas e giberelinas — estas duas últimas além de promover ação anti-inflamatória à babosa, auxiliam no processo de cicatrização.

No último dia de avaliação (d-15), 17 feridas tratadas com babosa encontravam-se cicatrizadas. Resultados positivos também foram obtidos em outros trabalhos em que a *Aloe vera* foi utilizada como terapia para cicatrização de lesões cutâneas. Em um trabalho publicado por Semenoff *et al.* (2008), o uso de *Aloe vera* em feridas provocadas em rato também acelerou a reparação das feridas. Martins (2010) constatou que o uso de babosa em feridas provocadas em coelhos

proporcionou a melhor reepitelização, além de seu uso estimular a migração de células epiteliais e evitar a formação de crostas na ferida. O estudo de Dorneles *et al.* (2003) avaliou a aplicação de mucílago de babosa 50% e solução de mucilagem seca a 25% na cicatrização de feridas em pele de coelho.

Pôde-se concluir que as diferentes concentrações e posologias de *Aloe vera* não aceleraram o processo de cicatrização, porém não inibiram o processo de epitelização e contração das feridas. Dessa forma, a solução da mucilagem seca a 0,25% pareceu favorecer a epitelização das feridas, ao passo que o mucílago de babosa 50% pareceu favorecer a contração delas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se concluir que o uso tópico da mucilagem de *Aloe vera* proporcionou uma boa reepitelização macroscopicamente visível, evitando a formação de crostas ressecadas e não manifestando reações adversas como hiperemia, edema e eritema, além de proporcionar umidade na ferida. As feridas tratadas com clorexidina a 2% apresentaram cicatrização precoce, porém seu uso apresentou reações adversas. A utilização da babosa por via tópica é uma alternativa de fácil acesso, manuseio e aplicação para o tratamento de feridas cutâneas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORAS, L. S. **Uso da clorexidina na medicina: revisão de literatura**. Piracicaba SP, 2013. 36f. Monografia. Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas

ANDRADE, L. S. S. de. **Avaliação terapêutica das pomadas do polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. e do extrato em pó da *Jacaratia corumbensis* O. KUNTZE em feridas cutâneas produzidas experimentalmente em caprinos (*Capra hircus* L.): aspectos clínicos, bacteriológicos e histopatológicos**. Recife, 2006. 82f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco.

BACH, D. B.; LOPES, M. A. Estudo da viabilidade econômica do cultivo da babosa (*Aloe vera* L.). **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1136-1144, jul./ago., 2007

BAJAY, H. M.; ARAÚJO, I. E. M. Validação e confiabilidade de um tratamento de avaliação de feridas. **Acta Paulista de Enfermagem**, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 290-295, jul./set. 2006.

BANKS, W.J. **Histologia Veterinária Aplicada**. São Paulo, 2ª ed. Manole, 1992, 629p.

BLANES, L. Tratamento de feridas. **Cirurgia vascular: guia ilustrado**. São Paulo. 2004. Disponível em: <http://files.artedecuidar.webnode.com.br/200000015-0ad7c0b337/Tratamento%20de%20Feridas.pdf>. Acesso em 12.02.2017

BOZZI, A. *et al.* Quality and authenticity of commercial aloe vera gel powders. **Food Chemistry**. Pg. 22–30. 2007. Disponível em: <http://www.beauty-review.nl/wp-content/uploads/2014/06/Quality-and-authenticity-of-commercial-aloe-vera-gel-powders.pdf>. Acesso em: 12.02.2017

CAMARGO, M. C. **Applicability of a film in natural biological treatment of skin wounds induced in Wistar rats**. 2011. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2011.

CARMO, B. R. G. do.; ALBUQUERGUE, G. O. **O uso do hipoclorito de sódio e clorexidina: como solução irrigadora de canais radiculares**. Macapá, 2017. 32f. Trabalho de Conclusão de Curso. Faculdade de Macapá-FAMA.

CASTRO, L. O. de.; RAMOS, R. L. D. Cultivo de três espécies de babosa: descrição botânica e cultivo de *Aloe arborescens* Mill. babosa-verde, *Aloe saponaria* (Aiton) Haw. babosalistrada e *Aloe vera* L. Burm. f., babosa verdadeira ou aloe-de-curaçau (ALOEACEAE). Porto Alegre: **Secretaria da Ciência e Tecnologia Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária- FEPAGRO**, 2002, 12 p. (Circular Técnica, nº20)

DEBIASI, C.; SILVA, C.; PESCADOR, R. Micropropagação de Babosa (*Aloe vera* L). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.9, n.1, p.36-43, 2007.

DORNELES, D. *et al.* Efeito de *Aloe vera* Linné sobre a cicatrização de feridas de pele em coelhos. **Visão acadêmica**. Curitiba. v.4, n.1, p.39-46, jan./jun. 2003.

FERREIRA, F. V.; PAULA, L B de. Sulfadiazina de prata *versus* medicamentos fitoterápicos: estudo comparativo dos efeitos no tratamento de queimaduras. **Rev Bras Queimaduras**. Campinas. 12(3): p.132-139, 2013.

HAMMAN, J. H. Composition and Applications of *Aloe vera* Leaf Gel. **Molecules**. 2008. Disponível em: <http://www.mdpi.net/molecules/papers/13081599.pdf>. Acesso em: 12.fev.2017

LANGMEAD, L. *et al.* Antiinflammatory effects of Aloe vera gel in human colorectal mucosa in vitro. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, n.19, p.521–7, 2004.

MAAN, A. A. *et al.* **Journal of Herbal Medicine**. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2018.01.002>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/322376384_The_therapeutic_properties_and_applications_of_Aloe_vera_A_review. Acesso em: 30.mai.2018

MANDELBAUM, S. H.; SANTIS, É. P. di.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. **An bras Dermatol**. Rio de Janeiro, 78(4): p.393-410, jul./ago. 2003.

MARTINS, J. M.. **Uso da babosa (*Aloe vera*) na reparação de feridas abertas provocadas cirurgicamente em cães**. Patos. 2010. 56f. Monografia. Universidade Federal de Campina Grande Centro de Saúde e Tecnologia Rural.

MARUO W. Y. G. **Tratamento de feridas**. Curitiba, 2007. 129f. Monografia, Curso de Medicina Veterinária Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Tuiuti do Paraná.

NITZ, A. C. *et al.* Estudo morfométrico no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos, usando: *Coronopu didymus* e *Calendula officinali*. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 35, n. 4, p.74-79, 2006.

PAGANELA, J. C. *et al.* Abordagem clínica de feridas cutâneas em equinos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. Pelotas, 104 (569-572) p.13-18. 2009.

PATROCÍNIO, A. F.; MANCILHA, M. *Aloe vera* – abordagem técnica. **Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento – Synthron Especialidades**. 2011. Disponível em: http://www.freedom.inf.br/artigos_tecnicos/03072006-2/Aloe_vera.asp. Acesso em: 13.fev.2018

PEREIRA, A. L. **systematic literature review about products utilized in the treatment of wounds**. Goiânia, 2006. 131f. Dissertação (Mestrado em Cuidado em Enfermagem) - Universidade Federal de Goiás.

PINHEIRO, A. L. B. *et al.* Comparison of the Effects of the CO 2 Laser and Chlorohexidine on the Decontamination of Infected Cutaneous Wounds: A Histologic Study in Rats. **Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery**, v. 20, n. 3, p. 123–127, 2002.

RIBEIRO, R. V. Influencia do sumo de *Chenopodium Ambrosioides* L. (erva de Santa Maria) na contração de feridas cutâneas induzidas em dorso de ratos da linhagem Wistar. **Conection Line**. N.3 p.64-74. 2008.

ROSSI, L. A. *et al.* Cuidados locais com as feridas das queimaduras. **Rev Bras Queimaduras**. Ribeirão Preto. 9(2): p.54-59. 2010.

SANTOS, E. S. dos. **Avaliação da reparação de feridas cirúrgicas em coelhos, tratadas ou não com plasma rico em plaquetas autólogo em gel**. Presidente Prudente – SP, 2013. 44f. Dissertação. Pós-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista.

SANTOS J. B. dos. *et al.* **Avaliação e tratamento de feridas: orientações aos profissionais de saúde**. Manual do Hospital de Clínicas de Porto Alegre – RS 2011.

SARANDY. M. M. **Avaliação do efeito cicatrizante do extrato de repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*) em ratos wistar**. Viçosa MG, 2007. 59f. Dissertação. Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural Universidade Federal de Viçosa.

SEMENOFF, T. A. D. V. *et al.* Efetividade in vitro de Aloe Vera in natura, gel de clorexidina a 0,12% e gel de clorexidina a 2% sobre *Enterococcus faecalis*. **Rev. odonto ciênc.** 23(3): p.283-286. 2008.

SERAFINI, G. M. C. *et al.* Açúcar granulado ou em gel no tratamento de feridas em cães. **Ciência Rural.** Santa Maria. v.42, n.12, p.2213-2218, dez. 2012.

SILVA, L. F. J. S. da. **Nova associação de Digluconato de Clorexidina e Cloridrato de Lidocaína em Gel Urogenital. Desenvolvimento farmacotécnico, avaliação da qualidade e da estabilidade da formulação.** Rio de Janeiro, 2009. 176f. Dissertação. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro

SILVA, M. T. **Análise da cicatrização após o uso de três diferentes agentes para a limpeza de feridas infectadas.** Estudo experimental. Florianópolis, 2004. 62f. Dissertação. Curso de Pós-Graduação em Ciências Médias da Universidade Federal de Santa Catarina.

SILVA, N. da. *et al.* Aloe vera: Extrato a base de seu Gel e Usos. **VII EEPA – UNESPAR.** 2008. Disponível em: http://www.fecilcam.br/anais/vii_eepa/data/uploads/artigos/12-08.pdf.

SOUSA M. K. M. de. *et al.* Produção do gel da babosa (*Aloe vera*) para cicatrização de feridas cutâneas de cães e gatos. **XIII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX 2013 – UFRPE.** Disponível em: <http://www.eventosufrpe.com.br/2013/cd/resumos/R0293-1.pdf>.

SWAIN, S. F. **Surgery of traumatized skin: Management and reconstruction in the Dog and Cat.** Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1980.

VIANA, Paulo. **Aloe vera “A planta milagrosa”.** 1997. Disponível em: http://www.nossosaopaulo.com.br/AloeVeraForever/FLP_AloePlantaMilagrosa.htm. Acesso em: 15.fev.2017

WENDT, S. B. T. **Comparação da eficácia da calendula e do óleo de girassol na cicatrização por segunda intenção de feridas em pequenos animais.** Curitiba, 2005, 83f. Dissertação. Universidade Federal do Paraná setor de Ciências Agrárias
Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias

CONDENAÇÕES DE CARÇAÇAS BOVINAS EM ABATEDOURO FRIGORÍFICO LOCALIZADO EM MINAS GERAIS

Acadêmicos: Byanka Lopes e Silva e Eduardo Almeida Tavares

Orientadora: Letícia Ferreira da Silva

RESUMO

O Brasil é um grande produtor e exportador de carne bovina *in natura*. Uma das formas de manter essa participação no mercado externo é garantindo a qualidade do produto por meio da inspeção *post mortem*, realizada nos estabelecimentos de abate. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a prevalência das principais causas de condenação de carcaças bovinas em um abatedouro frigorífico sob Serviço de Inspeção Federal, situado na Zona da Mata mineira, no período compreendido entre janeiro de 2007 e dezembro de 2013. Para isso, foram utilizadas, como fonte de informação, fichas relativas ao movimento mensal de abate de bovinos no referido estabelecimento. Durante esse período, foram abatidos 150.752 bovinos e desses 1.288 tiveram suas carcaças condenadas, correspondendo a uma prevalência de 0,85%, mas com uma tendência de redução de 0,21% ao ano. Ainda, as principais causas de condenações identificadas foram tuberculose, cisticercose, brucelose e peritonite, com prevalências de 0,76%, 0,09%, 0,005% e 0,002%, respectivamente. Tais achados evidenciam a importância da inspeção *post mortem* em assegurar a inocuidade da carne que chega ao consumidor e, também, a qualidade final desse produto.

Palavras-chave: brucelose, cisticercose, impacto econômico, peritonite, tuberculose.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de carne bovina (ROSSI *et al.*, 2014) e vem apresentando crescimento constante nas suas exportações. Dados da Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne (Abiec), divulgados sobre o mês de fevereiro de 2018, mostram que foram exportadas 98.103 toneladas de carne *in natura*, 19.607 toneladas a mais quando comparado ao mesmo mês de 2017. As estatísticas também indicam que a carne *in natura* é responsável por 78% do total de produtos exportados em toneladas (ABIEC, 2018).

Para manter esta participação no mercado externo, é necessário atender às exigências cada vez maiores dos países importadores, quanto à qualidade e à segurança da carne. Prova disso, carcaças desviadas ao Departamento de Inspeção Final (DIF), independentemente do motivo, não podem ser exportadas (BRASIL, 2017). Contudo, algumas etapas da cadeia produtiva da carne 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 a indústria (SILVA *et al.*, 2016).

Atualmente, em decorrência da globalização do suprimento alimentar e das mudanças de hábitos adotadas pelos consumidores, as doenças transmitidas por alimentos, muitas vezes são negligenciadas (BRASIL, 2010). Como consequência, a maior preocupação dos consumidores e da indústria é a garantia da inocuidade e higiene da carne e seus derivados (HAJIMOHAMMADI *et al.*, 2014). Para isso, os estabelecimentos de abate adotam, no controle de doenças transmitidas pela carne, duas estratégias principais: a inspeção oficial e a fiscalização dos procedimentos de higiene (BLAGOJEVIC & ANTIC, 2014).

Sendo assim, neste trabalho foi avaliada a prevalência das principais causas de condenação de carcaças bovinas em um abatedouro frigorífico sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), situado na Zona da Mata Mineira, no período compreendido entre janeiro de 2007 e dezembro de 2013. O conhecimento dessas informações permitirá a gerência do frigorífico sugerir aos produtores medidas de controle a serem tomadas com o intuito de promover a melhoria da sanidade do rebanho, evitando, assim, perdas econômicas para ambos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. IMPORTÂNCIA E OBJETIVOS DA INSPEÇÃO *post mortem*

Segundo o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal (RIISPOA), a inspeção *post mortem* consiste no exame realizado por visualização, palpação, olfação e incisão (quando necessário) da carcaça, das partes da carcaça, das cavidades, dos órgãos, dos tecidos e dos linfonodos. Todos os órgãos e as partes das carcaças devem sempre ser inspecionados assim que removidos das carcaças, mantendo a correspondência entre eles (BRASIL, 2017).

A rotina da inspeção de carnes é dividida em duas etapas: linhas de inspeção e inspeção final — realizadas de maneira sistêmica e, quando necessário, respectivamente (PINTO, 2014). Sempre que for identificada, nas linhas de inspeção, qualquer lesão ou anormalidade que possa ter comprometimento sistêmico, a carcaça e suas partes devem ser desviadas para o DIF para que sejam examinados, julgados e destinados por um Auditor Fiscal Federal Agropecuário (AFFA) com formação em Medicina Veterinária, de forma apropriada (BRASIL, 2017).

A inspeção *post mortem* se baseia, portanto, no diagnóstico anatomopatológico (macroscópico) e tem como um de seus objetivos identificar carcaças de animais que

não estão aptas ao consumo humano, removendo suas carcaças e vísceras da cadeia produtiva (DUPUY *et al.*, 2014; PINTO, 2014; STÄRK *et al.*, 2014). Além disso, o registro adequado das prevalências de condenações de um abatedouro frigorífico 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).

2.2. BRUCELOSE

A brucelose bovina é uma zoonose cujo agente etiológico é *Brucella abortus*. Nessa patologia, os animais infectados apresentam os seguintes sinais clínicos: abortamento no terço final da gestação, natimortos, nascimento de bezerras fracas, corrimento vaginal e retenção de placenta nas fêmeas; nos machos, pode causar orquite e epididimite, levando à infertilidade (FAVERO *et al.*, 2008). Os animais reagentes positivos em provas diagnósticas, são marcados com um “P” dentro de um círculo de oito centímetros no lado direito da cara. Após essa identificação, os mesmos devem ser isolados do restante do rebanho, afastados da produção e destinados ao abate em estabelecimento sob serviço de inspeção oficial, num prazo máximo de 30 dias após o diagnóstico. No estabelecimento, esses animais são mantidos apartados no curral de observação e abatidos ao final da matança normal (BRASIL, 2017). Durante a inspeção *post mortem*, na linha de inspeção “I”, é obrigatório o exame do ligamento cervical dos bovinos, tendo em mira eventuais lesões secundárias de brucelose, denominadas higromas (BRASIL, 1971; PINTO, 2014).

Em geral, a frequência de bovinos com brucelose é baixa nos estabelecimentos de abate. Baptista (1999), ao avaliar as condenações de carcaças bovinas em abatedouros frigoríficos de Minas Gerais, entre os anos de 1993 e 1997, verificou que apenas dois (0,0026%) dos 76.167 animais abatidos apresentaram lesões sugestivas de brucelose. Assim como Martinho *et al.* (2011) que encontraram uma prevalência de 0,033% de brucelose, entre os 39.955 bovinos abatidos em um abatedouro frigorífico municipal em Imperatriz, Maranhão.

O artigo 138 do RIISPOA, alterado pelo Decreto nº 9.069, de 29 de maio de 2017, traz os critérios de julgamento e destinação de carcaças e órgãos de animais com brucelose (BRASIL, 2017). Segundo esse artigo, as carcaças de bovinos

reagentes positivos a testes diagnósticos para brucelose podem ser liberadas para consumo *in natura*, desde que não apresentem lesões indicativas ao exame *post mortem*. Ainda, caso seja observada lesão localizada, sendo os bovinos reagentes ou não ao teste diagnóstico, a carcaça também pode ser liberada para consumo humano direto, desde que isso ocorra após a retirada da lesão. Em ambos os casos descritos anteriormente, condena-se, obrigatoriamente, os órgãos, o úbere, o trato genital e o sangue. Já as carcaças e os órgãos de animais com sorologia positiva para brucelose devem ser condenadas quando estes apresentarem hipertermia no exame *ante mortem* (BRASIL, 2017).

2.3. CISTICERCOSE BOVINA

A cisticercose bovina é uma zoonose parasitária, causada pelo estágio larval de *Taenia saginata*, que apresenta distribuição mundial (VICENTINI-OLIVEIRA *et al.*, 2010; GAJADHAR, 2015). No Brasil, essa é a doença de maior ocorrência em estabelecimentos de abate de bovinos com SIF (FUKUDA, 2003; SOUZA *et al.*, 2007). Entre os anos de 2007 a 2010, foram abatidos 75.983.590 bovinos em estabelecimentos sob SIF, e a prevalência média dessa parasitose no país foi 1,05%, variando entre os Estados e o período de avaliação (DUTRA *et al.*, 2012). Ainda, o Sudeste é a região que registra a maior concentração de casos de cisticercose bovina no Brasil, seja pelo abate de animais provenientes de áreas endêmicas, ou pela escassez de estudos nas demais regiões brasileiras (ROSSI *et al.*, 2014).

Ao exame anatomopatológico, a pesquisa da cisticercose bovina é realizada por meio de cortes nos músculos da mastigação, língua, coração, porção muscular do diafragma e seus pilares, esôfago e fígado, considerados os sítios de predileção do parasito (BRASIL, 2017). Os cisticercos caracterizam-se por vesículas esféricas ou ovais, com dimensão de aproximadamente 0,5 a 1,0 cm de diâmetro. Esses podem variar desde a forma viva, até as formas degeneradas ou calcificadas; sendo possível a identificação concomitante das três formas na mesma carcaça, estando esse fato relacionado ao grau da resposta imunológica do animal (PINTO, 2014).

Os critérios de julgamento e destinação de carcaças bovinas com cisticercose estão dispostos no Artigo 185 do RIISPOA (BRASIL, 2017). As carcaças com infecção intensa (com, pelo menos, quatro cisticercos detectados nos sítios de predileção, examinados nas linhas de inspeção, e, no mínimo, mais quatro cisticercos detectados no DIF, na inspeção do quarto dianteiro e do quarto traseiro) devem ser condenadas. Já as carcaças que apresentarem mais de um cisto e menos do que oito devem ser

destinadas ao tratamento pelo calor, após a remoção e condenação das áreas afetadas. Aquelas que apresentem apenas um cisticerco viável devem ser destinadas ao tratamento pelo frio ou pelo sal, ao passo que aquelas com apenas um cisto calcificado são liberadas para o consumo humano. Ambos os destinos são dados após a remoção e condenação da parte afetada (BRASIL, 2017).

2.4. PERITONITE

A peritonite consiste em uma inflamação do peritônio acompanhada por dor abdominal, hipertermia, toxemia e redução do volume fecal, sendo que a sua gravidade pode variar de acordo com a intensidade e a extensão da lesão. Geralmente essa inflamação ocorre como resultado de agressões às superfícies serosas do trato gastrointestinal, da perfuração traumática da parede abdominal por ferimento externo, da introdução de agentes patogênicos durante injeção na cavidade peritoneal ou, ainda, como consequência da laparotomia exploratória (RADOSTITS *et al.*, 2012).

Em um estudo realizado em um abatedouro frigorífico, sob Serviço de Inspeção Municipal (SIM), localizado em Santarém, Pará, verificou-se que das 296 carcaças bovinas condenadas no ano de 2016, apenas uma foi por apresentar peritonite, correspondendo a 0,34% das condenações (PEREIRA *et al.*, 2017). Os autores ressaltaram, apesar da baixa frequência encontrada, a importância dessa patologia nos animais de produção que apresenta, como um dos primeiros sinais clínicos, a sensibilidade abdominal (PEREIRA *et al.*, 2017).

Segundo o artigo 137 do RIISPOA, qualquer carcaça que apresente sinais de septicemia, piemia, toxemia ou viremia e possa causar alguma doença transmitida por alimento ao ser consumida deve sempre ser condenada. Entre os quadros clínicos incluídos em tal artigo, destaca-se a inflamação aguda do peritônio (BRASIL, 2017).

2.5. TUBERCULOSE

A tuberculose bovina é uma doença infectocontagiosa de caráter zoonótico, causada por *Mycobacterium bovis*. A principal porta de entrada para esse patógeno nos bovinos é a via respiratória. Contudo, também é possível a infecção pela via digestiva, por meio da ingestão de água, pastagens ou leite contaminados (SANTOS & ALESSI, 2011). A doença apresenta evolução crônica, em que se pode observar o

desenvolvimento progressivo de lesões nodulares denominadas tubérculos, podendo ser encontrados em qualquer órgão ou tecido (FIGUEIREDO, 2010).

O foco primário — geralmente o sistema respiratório (parênquima pulmonar, linfonodos bronquiais, mediastínicos ou da cabeça) em decorrência da via de entrada da bactéria — é estabelecido pelas lesões tuberculósicas iniciais. Os tubérculos, dependendo do estágio de evolução da doença, têm diâmetro variável e apresentam-se como nodulações com área central necrótica, geralmente branco-amareladas, de consistência caseosa, calcificada ou mole (abscesso). Nem sempre é observada a sensação de “ranger da faca” na incisão do tubérculo, isso só acontece quando a doença já está em estados mais avançados, quando são depositados cristais na lesão (PINTO, 2014).

Segundo Pinto (2014), a tuberculose juntamente com a cisticercose são as principais zoonoses diagnosticadas em abatedouros frigoríficos de bovinos. Corroborando essa informação, Baptista (1999) verificou em seu estudo que a principal causa de condenação de carcaças bovinas, em estabelecimentos de abate em Minas Gerais, foi a tuberculose.

De acordo com o artigo 171 do RIISPOA, as carcaças de animais com tuberculose podem ter diferentes destinos, como a condenação, a esterilização pelo calor e a liberação (BRASIL, 2017). Assim, devem ser condenadas as carcaças dos animais com tuberculose que apresentem hipertermia ou caquexia no exame *ante mortem*. Já na inspeção *post mortem*, as carcaças devem ser condenadas quando apresentarem: lesões tuberculósicas nos músculos, nos ossos, nas articulações ou nos linfonodos que drenam as linfas dessas áreas; lesões caseosas concomitantes em órgãos ou serosas do tórax e do abdômen; lesões miliares ou perláceas de parênquimas ou serosas; lesões múltiplas, agudas e ativamente progressivas, identificadas pela inflamação aguda nas proximidades das lesões, necrose de liquefação ou presença de tubérculos jovens; linfonodos hipertrofiados, edemaciados, com caseificação de aspecto raiado ou estrelado em mais de um local de eleição; ou quando existirem lesões caseosas ou calcificadas generalizadas, e sempre que houver evidência da entrada do bacilo na circulação sistêmica (BRASIL, 2017).

3. METODOLOGIA

Para a realização deste estudo, contou-se com a colaboração de um abatedouro frigorífico — situado na região da Zona da Mata mineira sob o regime de SIF — o qual aprovou e forneceu dados para o estudo retrospectivo, realizado por um levantamento epidemiológico de dados no referido estabelecimento.

Foram utilizadas, como fonte de informação, fichas relativas ao movimento mensal de abate de bovinos, no período compreendido entre janeiro de 2007 e dezembro de 2013, no abatedouro frigorífico em questão. Essas fichas forneceram os registros das atividades de abate realizadas durante a rotina de inspeção *post mortem*, proporcionando informações como data do abate, número de animais abatidos, parte animal, diagnóstico e destinação das peças. Foram considerados os dados relativos às alterações diagnosticadas nas diversas linhas de inspeção, em exame *post mortem*, responsáveis por condenação total.

Os animais foram abatidos e inspecionados seguindo as normas dispostas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) (BRASIL, 1971; BRASIL, 2017). As carcaças nas quais foram detectadas alterações ou lesões durante a inspeção foram condenadas pelo AFFA com formação em Medicina Veterinária e encaminhados à unidade de beneficiamento de produtos não comestíveis, para elaboração de subprodutos não comestíveis. Os achados foram anotados em papeleta específica de condenação do DIF e, em seguida, transferidos para o sistema *online* de notificação do Mapa, o Sistema de Informações Gerenciais do Serviço de Inspeção Federal.

Todos os dados coletados foram processados em planilhas do *Microsoft Office Excel* e, para analisar a tendência da série histórica da prevalência das condenações, foi realizada a análise de regressão linear no programa *Sigma Plot 14.0*.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período de janeiro de 2007 a dezembro de 2013 foram abatidos 150.752 bovinos no estabelecimento em questão, sendo que foram condenadas 1.288 carcaças nesse período, o que corresponde a uma prevalência de 0,85% de carcaças condenadas na Zona da Mata mineira (TABELA 1). Além disso, também pode ser observado, na Tabela 1, que houve uma redução de condenações de 1,58% em 2007 para 0,43% em 2013.

Tabela 1: Número de bovinos abatidos e prevalência das condenações de carcaças, em um abatedouro frigorífico da região da Zona da Mata mineira, nos anos de 2007 a 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal

Ano	Número de bovinos abatidos	Carcaças condenadas	
		N	%
2007	17.820	281	1,58%
2008	31.094	465	1,50%
2009	21.413	132	0,62%
2010	22.193	165	0,74%
2011	19.424	102	0,53%
2012	21.906	70	0,32%
2013	16.902	73	0,43%
Total	150.752	1.288	0,85%

Os resultados observados podem ser considerados altos em comparação aos obtidos por Silva *et al.* (2016), que encontraram percentual de condenação total de carcaças em 0,15% dos bovinos abatidos, no Estado do Paraná, em um abatedouro frigorífico sob Serviço de Inspeção Estadual (SIE), entre os anos de 2012 a 2014. Pereira *et al.* (2017), ao analisarem dados de um abatedouro frigorífico sob SIF, localizado no município de Santarém, no Pará, verificaram que 0,56% das carcaças bovinas foram condenadas no período de janeiro a dezembro de 2016.

Tais condenações constituem prejuízo direto para a indústria e para o produtor rural (SODRÉ *et al.*, 2011) e representaram perda econômica considerável ao longo do período estudado. Levando-se em consideração o total de carcaças condenadas (TABELA 1), o peso médio da carcaça bovina (225 kg) e o valor atual da arroba do boi no estado de Minas Gerais (R\$ 135,00), foram perdidos R\$ 2.608.200,00, o que daria em média R\$ 372.600,00 por ano. Assim é importante estar sempre em busca de melhorias no manejo a fim de prevenir tais perdas e garantir a qualidade dos produtos (PEREIRA *et al.*, 2011).

Durante o período de 2004 a 2008 no estado do Paraná, foram perdidos R\$ 119.626.428,00 devido a condenações de carcaças (GUIMARÃES-PEIXOTO *et al.* 2012).

Entre as causas de condenações de carcaças bovinas ilustradas na Figura 1, a tuberculose apresentou a maior prevalência (0,76%), seguida da cisticercose (0,09%) e brucelose (0,005%). Porém, também foram diagnosticadas, embora em menor proporção, condenações por peritonite (0,002%) e outras causas (0,003%),

como carbúnculo sintomático, contaminação, contusão e edema, que não foram contabilizadas individualmente (FIGURA 1).

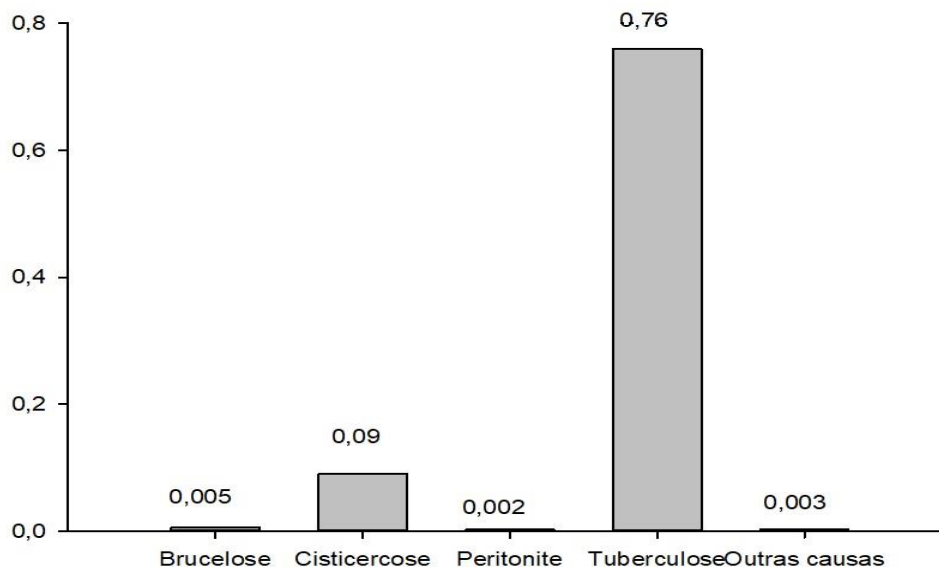


Figura 1. Prevalência (%) das causas de condenações de carcaças bovinas diagnosticadas em um abatedouro frigorífico da Zona da Mata Mineira, entre os anos de 2007 a 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal.

Corroborando com os resultados expressos na Figura 1, Alvin e Bermejo (2007), ao estudarem dados de um abatedouro frigorífico sob SIF, localizado no município de São Félix do Xingu - PA, entre o período de junho de 2003 a maio de 2004, também encontraram a tuberculose como a principal causa de condenação de carcaças bovinas, com prevalência de 1,51%; levando-os a sugerir que tal doença é bastante difundida naquela região. Ainda, Baptista (1999), analisando dados de estabelecimentos de abate de bovinos localizados neste estado, observou que a tuberculose e a cisticercose foram as principais responsáveis por condenações, com prevalências de 15,64% e 0,27%, respectivamente; concluindo que ambas as doenças se encontravam amplamente disseminadas em Minas Gerais no período estudado.

Tiveron (2014), por sua vez, ao avaliar dados de um abatedouro frigorífico sob SIF em Barretos, São Paulo, no período de 2007 a 2012, observou que as principais causas de condenação foram cisticercose, abscessos hepáticos, tuberculose e pneumonia. Já Pereira *et al.* (2017) encontraram a tuberculose, seguida da brucelose e de hematomas, como as principais causas de condenação de carcaças bovinas em

Santarém - PA. Mas, observaram, também, embora em menor frequência, casos de condenações por caquexia e peritonite (PEREIRA *et al.*, 2017).

Discordando dos resultados expostos na Figura 1, Silva *et al.* (2016) observaram que as três principais causas de condenação de carcaças bovinas, em um abatedouro frigorífico no Paraná, em ordem decrescente de importância, foram magreza, contusão e contaminação. Segundo esses autores, a magreza pode ser atribuída à condição sexual, nutrição ou doenças; ao passo que a contusão foi atribuída exclusivamente ao manejo pré-abate e a contaminação, a erros no manejo pré-abate ou em etapas durante o abate dos animais. No entanto, diferente deste trabalho, a cisticercose foi a quarta principal responsável pela condenação de carcaças bovinas (SILVA *et al.*, 2016).

A cisticercose bovina é uma doença amplamente distribuída no Brasil, sendo que, entre os anos de 2007 a 2010, a prevalência média desta parasitose no país foi 1,05%, variando entre os estados e o período de avaliação (DUTRA *et al.*, 2012). Ainda, segundo esses mesmos autores, a maior parte dos casos se concentra na região Sudeste, onde o estado de São Paulo é responsável pelo maior número de casos (DUTRA *et al.*, 2012).

Guimarães-Peixoto *et al.* (2012) em seu estudo retrospectivo avaliaram a ocorrência da cisticercose no estado do Paraná durante o período de 2004 a 2008, encontrando uma prevalência de 2,23% de carcaças condenadas dos 5.917.950 animais abatidos.

Com relação à tuberculose, Baptista *et al.* (2004) determinaram que a prevalência dessa doença em abatedouros frigoríficos de bovinos em Minas Gerais foi de 0,7% no período de 1993 a 1997, em consonância com os resultados deste trabalho e mostrando que o número de casos permaneceu constante entre esses anos. Por outro lado, Pereira (2011) ao analisar dados de cinco estabelecimentos de abate de bovinos, todos registrados no SIF e localizados no estado do Maranhão, observou que apenas 0,02% das carcaças foram condenadas por tuberculose, entre os anos de 2002 e 2009, resultado bastante inferior ao descrito na Tabela 1.

Quanto a brucelose, segundo Chagas *et al.* (2013), dados coletados de seis abatedouros frigoríficos sob SIE, localizados no estado do Pará, apontaram que 0,30% das carcaças bovinas foram condenadas somente em decorrência de brucelose no ano de 2008. Ao passo que Pereira (2011) encontrou uma prevalência

de 0,06% para as condenações por essa causa no estado do Maranhão. Ambos os resultados bastante superiores ao do presente trabalho. Já em um estudo realizado por Martinho *et al.* (2011), a brucelose foi responsável por 0,03% das condenações em um estabelecimento de abate em Imperatriz, Maranhão.

Tabela 2. Quantitativo e percentual das causas de condenações de carcaças bovinas, em um abatedouro frigorífico da Zona da Mata Mineira, nos anos de 2007 a 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal

Causa	2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013	
	n	%	N	%	N	%	n	%	n	%	N	%	n	%
Brucelose	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	1,2	1	1,0	0	0,0	4	5,5
Cisticercose	133	47,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Peritonite	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	1,2	1	1,0	0	0,0	0	0,0
Tuberculose	148	52,7	465	100,0	132	100,0	158	95,8	99	97,0	70	100,0	69	94,5
Outras	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	1,8	1	1,0	0	0,0	0	0,0
Total	281	100,0	465	100,0	132	100,0	165	100,0	102	100,0	70	100,0	73	100,0

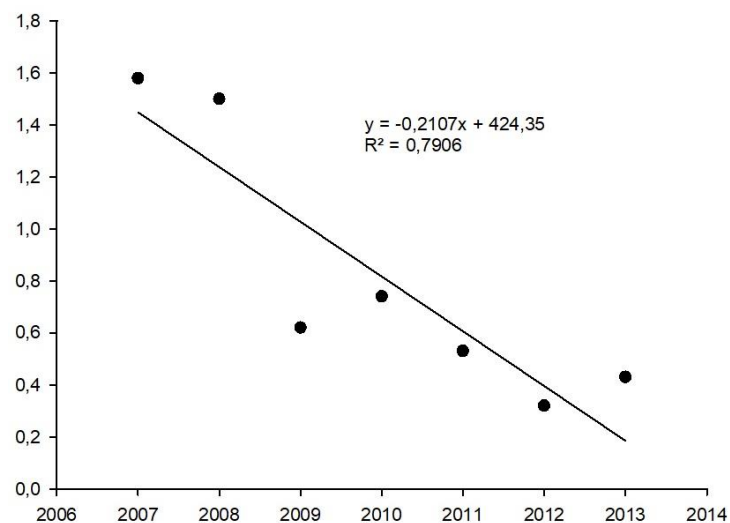


Figura 2. Análise de regressão linear da prevalência (%) das condenações de carcaças bovinas, em um abatedouro frigorífico da Zona da Mata mineira, entre 2007 e 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal.

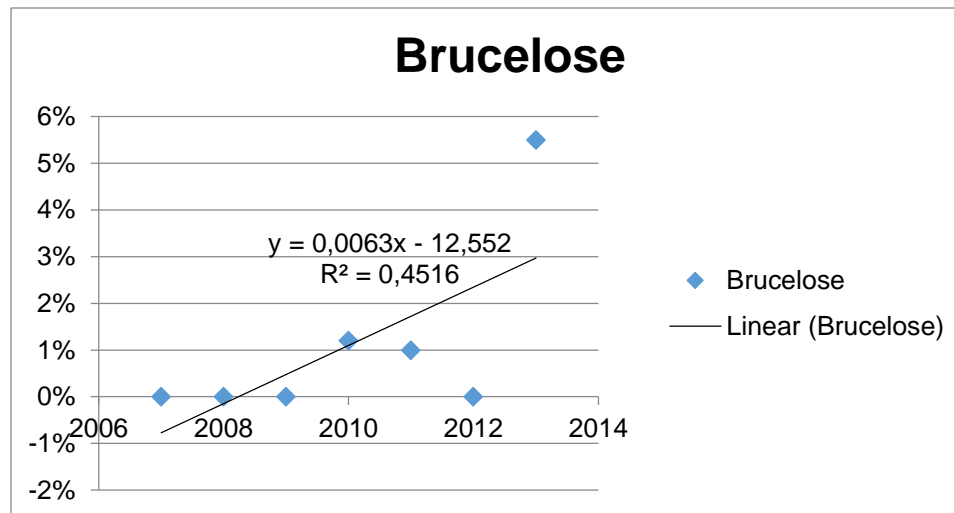


Figura 3. Análise de regressão linear da prevalência (%) da Brucelose como causa de condenações de carcaças bovinas, em um abatedouro frigorífico da Zona da Mata mineira, entre 2007 e 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal.

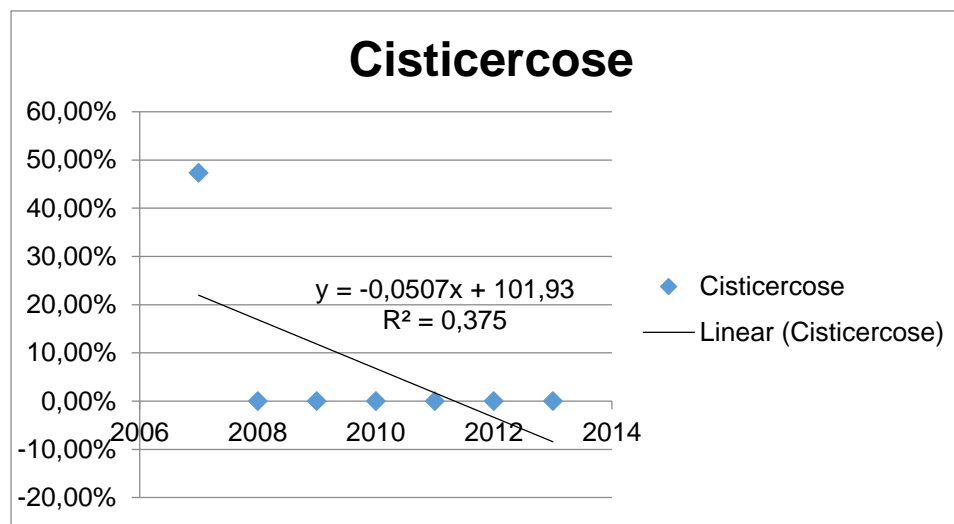


Figura 4. Análise de regressão linear da prevalência (%) da Cisticercose como causa de condenações de carcaças bovinas, em um abatedouro frigorífico da Zona da Mata mineira, entre 2007 e 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal.

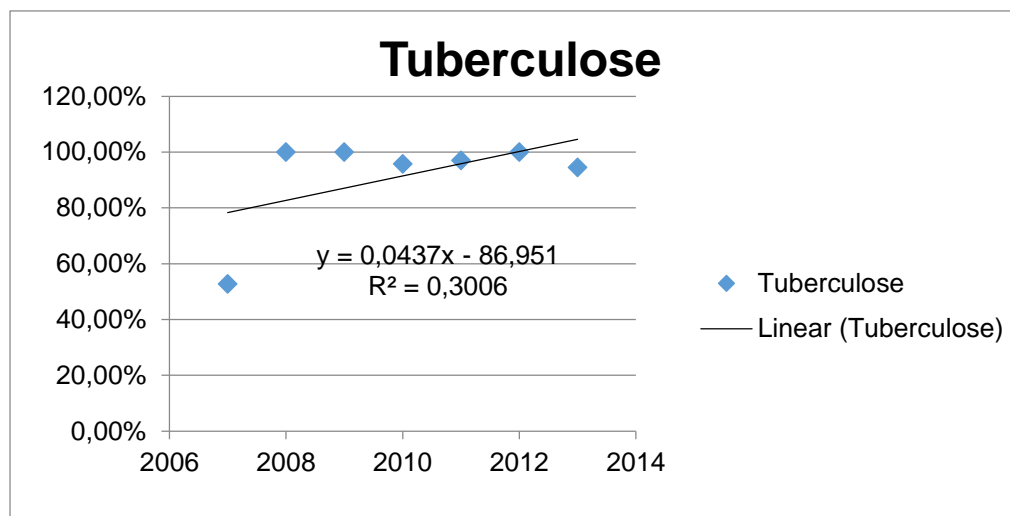


Figura 5. Análise de regressão linear da prevalência (%) da Tuberculose como causa de condenações de carcaças bovinas, em um abatedouro frigorífico da Zona da Mata mineira, entre 2007 e 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal.

Segundo a Tabela 2, o percentual de condenações de carcaças bovinas por tuberculose variou de 52,7% a 100,0% durante os sete anos estudados, com média final de 88,6%. Outros estudos reportaram frequências inferiores a deste trabalho. Na pesquisa realizada por Oliveira *et al.* (2014), a frequência de condenações por tuberculose foi de 41,82%. Por outro lado, concordando com o presente trabalho, Pereira *et al.* (2017) relataram frequência de 72,30% de participação da tuberculose em condenações de carcaças bovinas.

A cisticercose foi responsável por 0,0% a 47,3% das condenações de carcaças de 2007 a 2013 na região da Zona da Mata mineira (TABELA 2), com média de 10,3%. Silva *et al.* (2016) encontraram, em seu estudo, a cisticercose como quarta principal causa de condenação, representando 11,34% do total de condenações.

Ainda, pode ser observado também na Tabela 2, que o percentual de condenação por brucelose variou de 0,0% a 5,5% entre os anos estudados, com participação total de 0,5%. Resultado superior foi encontrado por Pereira *et al.* (2017), onde a brucelose foi responsável por 24,66% das condenações em um estabelecimento sob SIM.

Por fim, com base ainda nos dados fornecidos pela Tabela 1, foi realizada análise de regressão linear das condenações de carcaças na Zona da Mata mineira, podendo observar que a prevalência dessas condenações decresceu ao longo dos sete anos pesquisados, conforme mostra a Figura 2. Observa-se, portanto, na tendência histórica exposta nessa figura, decréscimo no percentual de condenações de carcaças entre os anos de 2007 a 2013, com redução da frequência de 0,21% ao ano, com 79,0% de confiança (em decorrência de ligeiro aumento observado no ano de 2013).

Segundo Silva *et al.* (2016) o manejo adequado desde a criação até o abate é fundamental para reduzir as perdas econômicas. O desenvolvimento de estudos para identificação das causas de condenações fornece informações para melhorias em todo o processo produtivo da carne, visando minimizar também os riscos à saúde pública (SILVA *et al.*, 2016).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante o período estudado, as principais causas de condenação de carcaças bovinas foram tuberculose, cisticercose, brucelose e peritonite. Tratam-se todas de

doenças que apresentam riscos à saúde do consumidor, comprovando que a inspeção *post mortem* é imprescindível para o diagnóstico definitivo de tais doenças, assegurando, assim, a inocuidade e a qualidade do produto.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC. **Exportações brasileiras de carne bovina**. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/download/Anual%20jan%20a%20abr%202016.pdf>>. Acesso em: 08 jun. 2016.

ALVIN, N.C.; BERMEJO, V.J. Incidência e destino de carcaças de bovinos acometidos por brucelose no município de São Felix do Xingu – PA no período de outubro de 2003 a maio de 2004. **Revista científica de medicina veterinária**. n. 08. 2007.

BAPTISTA, F. Tuberculose e outras causas de condenação de bovinos em frigoríficos de Minas Gerais, Brasil. **Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte**. 50f. 1999.

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. **FoodControl**, 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**, 183p, 1971.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Brasília, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual Integrado de Vigilância, Prevenção e Controle de Doenças transmitidas por alimentos**. Brasília, 2010.

CHAGAS, A.M.; FARIA, P.B.; COSTA, G.M. Prevalência de lesões sugestivas de brucelose em bovinos abatidos no Estado do Pará, Brasil. **PUBVET**, Londrina, V. 7, n. 24, ed. 247, art. 1632, Dezembro, 2013.

DUPUY, C.; DEMONT, P.; DUCROT, C.; CALAVAS, D.; GAY, E. Factors associated with offal, partial and whole carcass condemnation in tem French cattle slaughterhouses. **Meat Science**, v.97, p.262-269, 2014.

DUTRA, L.H.; GIROTTO, A.; VIEIRA, R.F.C.; VIEIRA, T.S.W.J.; ZANGIROLAMO, A.F.; MARQUES, F.A.C.; HEADLEY, S.A.; VIDOTTO, O. The prevalence and spatial

epidemiology of cysticercosis in slaughtered cattle from Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.5, p.1887-1896, 2012.

FAVERO, V.V.B.; SPIRITO, M.F.; ZAPPA, V. Brucelose Bovina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Ano VI, n. 11. 2008.

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** 30(9) p.712-716, 2010.

FUKUDA, R.T.; PRATA, L.F.; VERARDINO, H.; ALMEIDA, L.A.M.; Evolução da cisticercose bovina em animais abatidos no Estado de São Paulo. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, v.17, n.108, p.21-31, 2003.

GUIMARÃES-PEIXOTO, R.P.M.; SOUZA, V.K.; PINTO, P.S.A.; SANTOS, T.O. Distribuição de identificação das regiões de risco para cisticercose bovina no Estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.32, n.10, 2012.

GAJADHAR, A.A. Foodborne parasites in the food supply web. Occurrence and control. **Woodhead Publishing**, ed. 1, 482p, 2015.

HAJIMOHAMMADI, B.; ORYAN, A.; ZOHOURTABAR, A.; ARDIAN, M.; SHOKUHIFAR, M. 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.

MARTINHO, F.S.; JUNIOR, F.G.S.; JUNIOR, D.S.S.; SANTOS, M.F.; GOMES, W.M.; CASTILLO, L.A.C. Diagnóstico de Brucelose em bovinos no abatedouro municipal de Imperatriz-MA. **Agroecossistemas**, v. 3, n. 1, p. 41-44, 2011.

OLIVEIRA, A.F.F.; MOREIRA, M.D.; NOMELINI, Q.S.S. Principais zoonoses detectadas em um matadouro frigorífico do triângulo mineiro e seus impactos na cadeia produtiva. **Cadernos de pós-Graduação da FAZU**, Uberaba, v. 1, 2010.

PEREIRA, A.M. Causas de condenação de carcaças e órgãos de bovinos em frigoríficos sob Serviço de Inspeção Federal no estado do Maranhão: tendência histórica e perdas econômicas. **Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, Seropédica, RJ, 83 p. 2011.

PEREIRA, M.F.; CIRNE, L.G.A.; NEVES, K.A.L.; CLAUDIANO, G.S.; COSTA, A.S.; CASTRO, E.K.F.; MORINI, A.C.; CARVALHO, G.G.P. Condenações de Bovídeos abatidos sob Inspeção Municipal em Santarém – PA. **Agroecossistemas**, Santarém, v.9, n.2, p.78-90, 2017.

PINTO, P.S.A. **Inspeção e Higiene de Carnes**. 2ª ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2014. 389p.

Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal – PNCEBT. **Instrução Normativa SDA nº 10, de 3/03/2017**. 2001. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/controle-e-erradicacao-da-brucelose-e-tuberculose-pncebt>. Acesso em: 19 mar. 2018.

ROSSI, G.A.M.; GRISOLIO, A.P.R.; PRATA, L.F.; BURGER, K.P.; HOPPE, E.G.L. Situação da cisticercose bovina no Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, n.2, p.927-938, 2014.

RADOSTITS, OTTO M. et al. **Clínica Veterinária: Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. 1737 p.

SANTOS, C.C.G.; MOREIRA, M.D. Ocorrência de cisticercose bovina em matadouro frigorífico exportador de Ituiutaba/MG. **Cadernos de Pós-Graduação da FAZU**. Uberaba, v. 1, 2010.

SANTOS, R.L.; ALESSI, A.C. Patologia Veterinária. **Roca Ltda**. ed 2º, Rio de Janeiro, 2016.

SILVA, V.L.; GROFF, A.M.; BASSANI, C.A.; PIANHO, C.R. Causas de condenação total de carcaças bovinas em um frigorífico no estado do Paraná. Relato de Caso. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.10, n.4, p.730-741, 2016.

SODRÉ, A.F.U.; MOURA, D.V.B.; VIEIRA NETO, J.; SILVA, M.C.A. Principais causas de condenação de bovinos abatidos em matadouro-frigorífico sob inspeção estadual no estado da Bahia. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 25. 2011.

SOUZA, V.K.; PESSÔA-SILVA, M. C.; MINOZZO, J. C.; THOMAZ-SOCCOL, V. Prevalência da cisticercose bovina no estado do Paraná, sul do Brasil: avaliação de 26.465 bovinos inspecionados no SIF 1710. **Semina: Ciências Agrárias**, v.28, n. 4, p.675-684, out./dez. 2007.

STÄRK, K.D.C.; ALONSO, S.; DADIOS, N.; DUPUY, C.; ELLERBROEK, L.; GEORGIEU, M.; HARDSTAFF, J.; HUNEAU-SALAUN, 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. **FoodControl**, v.39, p.154-162, 2014.

TIVERON , D.V.; Inspeção pós-morte de bovinos: ocorrência de alterações sanitárias no abate e respectivo impacto em relação ao mercado globalizado. **UNESP**. Jaboticabal, 2014.

VICENTINI-OLIVEIRA, J.C.; GOLIM, M.A.; PAULAN, S.C.; BIONDI, G.F.; ROSSI-FERREIRA, R.; DEFFUNE, E.; NUNES, C.M. *Taenia saginata*: Production and characterization of monoclonal antibodies against *Taenia saginata* metacestode antigens. **Experimental Parasitology**, v.126, p.621-625, 2010.

CONTAMINAÇÃO DE CARÇAÇAS SUÍNAS POR *Salmonella* spp. EM UM ABATEDOURO FRIGORÍFICO LOCALIZADO EM MINAS GERAIS

Acadêmicos: David Gonçalves Figueiredo e Luiza Fernanda da Silva Sabino
Orientadora: Letícia Ferreira da Silva

RESUMO

Entre as diversas bactérias patogênicas ao homem, destaca-se a *Salmonella* spp., considerada como um dos principais agentes causadores de infecções de origem alimentar em todo o mundo. Geralmente, os alimentos envolvidos em surtos por esse patógeno são as carnes e os seus derivados, contaminados principalmente durante o abate dos animais e na manipulação posterior. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi identificar a contaminação por *Salmonella* spp. em diferentes pontos de um abatedouro frigorífico sob Serviço de Inspeção Federal, localizado em Minas Gerais, além de avaliar a eficiência do programa de controle implantando no referido estabelecimento. Para isso, foram coletadas amostras a partir de esfregaços superficiais de cinco carcaças suínas, nas seguintes etapas do abate: I) após a sangria; II) após a escaldagem e a depilação; III) após a evisceração e IV) após a lavagem final. Para a análise microbiológica das amostras, foi adotada uma adaptação da metodologia estabelecida pela ISO 6975 (ISO, 2002). A presença de *Salmonella* spp. foi observada nas cinco carcaças amostradas, sendo a etapa II responsável pela maior contaminação, com 100% das carcaças positivas. Esses resultados sugerem falhas no sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle adotado pelo estabelecimento, o que implica em riscos à saúde pública.

Palavras-chave: APPCC; carne *in natura*; salmonelose, saúde pública.

1. INTRODUÇÃO

Um importante aspecto relacionado à manutenção da saúde pública diz respeito à qualidade microbiológica dos alimentos disponíveis e que são consumidos pela população (BESSA, COSTA & CARDOSO, 2004). Para os produtos cárneos, essa qualidade sanitária depende tanto da realização das inspeções, *ante mortem* e *post mortem*, quanto do monitoramento da contaminação das carcaças por patógenos durante o abate (GILL, 1995; TOMPKIN, 1990).

Entre os micro-organismos patogênicos, *Salmonella* spp. é considerada como um dos principais causadores de infecções de origem alimentar em todo o mundo (CASTAGNA *et al.*, 2004). Geralmente, os alimentos envolvidos em surtos por esse patógeno são a carne e os seus derivados, contaminados principalmente durante o processamento (abate), seja pelo fato dos animais serem portadores assintomáticos ou em decorrência de contaminação cruzada (SEIXAS, TOCHETTO & FERRAZ, 2009). Os suínos, por exemplo, podem portar *Salmonella* spp. em diversos tecidos, sendo essa bactéria encontrada principalmente nos linfonodos e no trato digestivo; o

que torna as fezes e os linfonodos mesentéricos importantes fontes de contaminação de carcaças em abatedouros frigoríficos (SEIXAS, TOCHETTO & FERRAZ, 2009).

No cenário mundial da carne suína, o Brasil é, atualmente, o quarto maior produtor, representando apenas 3,3% da produção total (DEPEC, 2016; ABPA, 2017). No entanto, para competir no mercado, ele deve seguir o exemplo de outros países produtores de carne suína, tornando-se capaz de atender às grandes exigências do mercado consumidor ao melhorar o padrão sanitário dos produtos de origem animal (MATSUBARA, 2005; SEIXAS, TOCHETTO & FERRAZ, 2009). Em decorrência disso, é necessário avaliar os fatores que podem culminar com a contaminação das carcaças, bem como avaliar os diferentes momentos em que o suíno pode ser exposto à infecção, e a prevalência de *Salmonella* spp. nas etapas de abate; tendo como propósito implementar programas de controle a partir da identificação dos pontos críticos desde produção até o processamento dos alimentos de origem animal (LETELLIER, MESSIER & QUESSY, 1999; SEIXAS, TOCHETTO & FERRAZ, 2009).

Sendo assim, baseado na relevância de *Salmonella* spp. na cadeia produtiva da carne, o objetivo deste trabalho foi identificar a contaminação por tal patógeno alimentar em carcaças suínas em diferentes pontos de abate em um abatedouro frigorífico sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), localizado em Minas Gerais, além de avaliar a eficiência do programa de controle implantando no referido estabelecimento.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 *Salmonella* spp. E SUA IMPORTÂNCIA NA CADEIA PRODUTIVA DA CARNE SUÍNA

As bactérias do gênero *Salmonella* são pertencentes à família *Enterobacteriaceae* e são bacilos Gram-negativos fermentadores de glicose, geralmente móveis, oxidase-negativas, catalase-positivas, urease-negativas e anaeróbias facultativas não formadoras de esporos. Existem duas espécies a *S. enterica* e a *S. bongori*, sendo que somente a primeira é considerada patogênica ao homem e aos animais e é subdivida em seis subespécies (QUINN *et al.*, 2005).

Dentro desse gênero, já foram identificados, até o momento, 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). Ainda, a viabilidade intracelular do micro-organismo e a resistência aos antimicrobianos convencionais figuram dentre alguns dos principais fatores de virulência associados às infecções por esses diferentes sorotipos (SON *et al.*, 2013).

O grupo das salmonelas é composto por bactérias que vivem no trato gastrointestinal de uma grande variedade de animais, incluindo os animais de produção como os suínos. Os suínos se tornam infectados por *Salmonella* spp. por meio do ambiente, ao ingerirem alimentos contaminados, ou pela transmissão vertical (durante a gestação). Uma vez infectados, os animais eliminam o patógeno nas fezes, o que leva facilmente à contaminação externa de partes de seu corpo. Contudo, é importante destacar que a maior parte dos animais se mantêm assintomáticos, o que dificulta a identificação e apartação dessa ocorrência (CDC, 2017). Essa característica torna *Salmonella* spp. um dos principais patógenos transmitidos por alimentos, sendo que as principais fontes de contaminação de carcaças suínas durante o abate são as fezes e os linfonodos mesentéricos dos animais portadores (ROSTAGNO *et al.*, 2003; BESSA, COSTA & CARDOSO, 2004; CASTAGNA *et al.*, 2004).

Assim, em abatedouros frigoríficos de suínos, *Salmonella* spp. se comporta como um micro-organismo referência para retratar a potencial contaminação das carcaças com patógenos, apresentando registros alarmantes em países desenvolvidos, sobretudo em etapas anteriores ao abate. Prova disso, é o fato de que as salmonelas não-tifoides têm sido as principais bactérias registradas como causa de infecções alimentares, apesar da implementação de programas de controle específicos para essas bactérias (PINTO, 2014).

2.2. DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS E SALMONELOSE

As doenças transmitidas por alimentos (DTA) são síndromes resultantes da ingestão de alimentos ou água contaminados (OLIVEIRA *et al.*, 2010) e, de acordo com a patogenia, podem ser classificadas em três categorias distintas: infecção, toxinfecção e intoxicação alimentares (BRASIL, 2010). Nos últimos anos, a incidência das DTA vem aumentando significativamente em todos os países; e isso se deve, entre outros motivos, ao controle ineficiente por parte dos órgãos públicos e privados no que tange à qualidade dos alimentos (BRASIL, 2010).

No Brasil, entre os anos de 2007 a 2017, foram notificados 12.503 surtos de DTA. Nesse período, 236.403 pessoas foram acometidas. Nessa ocorrência, 182 (0,08%) vieram a óbito, sendo a região Sudeste do país a maior responsável pelo número de casos registrados, 39,2%. Ainda, entre os alimentos incriminados, a carne suína *in natura*, os seus processados e miúdos estiveram presentes em 0,82% dos surtos, com *Salmonella* spp. juntamente com *Escherichia coli*, principais micro-organismos envolvidos (BRASIL, 2018).

A salmonelose é uma infecção alimentar causada por *Salmonella* spp. A maneira mais comum do homem adquirir salmonelose é pela ingestão de alimentos contaminados, o que torna essa doença uma das principais infecções alimentares em todo o mundo (SEIXAS, TOCHETTO & FERRAZ, 2009; CDC, 2017). Entre os diferentes sorotipos, a *Salmonella Enteritidis* é reconhecida como o agente etiológico mais comum em humanos. No entanto, outros sorotipos também são prevalentes em certos tipos de alimentos (YIN *et al.*, 2016).

As salmoneloses caracterizam-se por sintomas que incluem diarreia, febre, dores abdominais e vômitos. Os sintomas aparecem, em média, entre 12 a 36 horas após o contato com o micro-organismo e duram de um a quatro dias (FRANCO & LANDGRAF, 2005). Esses prazos são variáveis dependendo da dose infectante ingerida e das condições do próprio hospedeiro (GERMANO & GERMANO, 2008). Em lactentes, idosos e imunocomprometidos, o risco e a gravidade da infecção são maiores (CDC, 2017). Em crianças pequenas e recém-nascidas, as salmoneloses podem, por exemplo, ser bastante graves, já que a *Salmonella* spp. pode atingir a corrente circulatória e provocar lesões em outros órgãos (FRANCO & LANDGRAF, 2005).

2.3. PROGRAMAS DE AUTOCONTROLE EM ESTABELECIMENTOS DE ABATE

O controle sanitário, a nível industrial, deve ter por objetivo primário a manutenção e a higiene das instalações, dos equipamentos e dos utensílios, e, em seguida, o treinamento do pessoal técnico com acesso à linha de produção e, finalmente, dos alimentos (SCHRAIBER, 2016). Nesse raciocínio, o Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA), visando complementar as atividades rotineiras de inspeção e as responsabilidades dos estabelecimentos,

inseriu, nas tarefas rotineiras, a avaliação da implantação e da execução, por parte da indústria inspecionada, dos programas de autocontrole (PINTO, 2014).

Os programas de autocontrole são requisitos básicos para a garantia da inocuidade dos produtos de origem animal e incluem, entre outros, as Boas Práticas de Fabricação (BPF), os Procedimentos Padronizados de Higiene Operacional (PPHO) e o sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (PINTO, 2014; RAMOS & VILELA, 2016).

2.3.1. APPCC

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) instituiu o APPCC nas indústrias de produtos de origem animal sob regime do SIF, por meio da Portaria nº 46, de 10 de fevereiro de 1998. Tal sistema foi instituído com a intenção de auxiliar os sistemas tradicionais de inspeção e controle de qualidade, aumentando a eficácia do SIF. A implantação desse mecanismo tem como pré-requisitos um sistema já bem arraigado de BPF e PPHO no estabelecimento (BRASIL, 1998).

Trata-se de um sistema contínuo, específico para o produto e para o processo, em que se detectam os problemas antes que eles ocorram, ou no momento em que surgem, aplicando-se imediatamente as ações corretivas. É considerado sistemático, por ser um plano completo que cobre todas as operações, os processos e as medidas de controle, diminuindo, assim, o risco de contaminações. Nesse sistema, a segurança alimentar é assegurada a partir de análises de controle de perigos físicos, químicos e biológicos provenientes da produção da matéria-prima, análise e manipulação, fabricação, distribuição e consumo de produtos acabados (BOARATTI, 2004).

Na classe dos perigos biológicos, se encontram os micro-organismos patogênicos causadores de doenças alimentares e que podem ser encontrados na superfície de carcaças, como *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter sp.* e *E. coli* produtora de verotoxina. Todos representam, na atualidade, os principais riscos do consumo da carne à saúde pública (PINTO, 2014).

O APPCC é constituído por sete princípios básicos: identificação do perigo; identificação do ponto crítico; estabelecimento do limite crítico; monitorização dos procedimentos; aplicação de ações corretivas, em casos em que o limite crítico é excedido; procedimentos de verificação do sistema e, por fim, registros dos resultados

obtidos (BRASIL, 1988). Dentro de um estabelecimento de abate, os principais processos envolvidos no risco de contaminação de carcaças suínas por *Salmonella* spp. — considerados pontos críticos de controle — são a evisceração e a toailete. Porém, as etapas de escaldagem e divisão da carcaça também podem introduzir o micro-organismo, aumentando a contaminação na linha de abate (THOBERG & ENGVALL, 2001).

3. METODOLOGIA

3.1. ABATEDOURO FRIGORÍFICO E AMOSTRAGEM

O projeto foi realizado, com o consentimento do proprietário, em um abatedouro frigorífico situado em Minas Gerais, que possui um sistema APPCC já bem consolidado. O abate nesse estabelecimento ocorre em cinco dias da semana e, em sua instalação, não existe separação física entre a área suja e a área limpa. São abatidos, ainda, bovinos e suínos no mesmo dia, porém em turnos diferentes. 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 cinco carcaças suínas (A, B, C, D e E). As amostras foram escolhidas, aleatoriamente, em quatro diferentes etapas do abate: I) após a sangria; II) após a escaldagem e depilação (toailete externo); III) após a evisceração e IV) após a lavagem final (realizada com água potável fria).

A amostragem superficial foi realizada por *swabs* com esponjas estéreis (sendo cada uma previamente umedecida em 10 mL de solução salina peptonada 1% tamponada), em duas áreas delimitadas de 100 cm² na paleta e no lombo (sendo nas etapas I e II coletadas apenas na face externa da carcaça; e III e IV, nas faces externas e internas de ambas as meias carcaças). Após a coleta, as esponjas foram acondicionadas em bolsas plásticas estéreis e acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo até o momento da análise microbiológica.

3.2. PESQUISA 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 à centrifugação a 1.000 x g por 15 minutos; o sobrenadante foi descartado e o *pellet* obtido foi ressuscitado em 10 mL de água peptonada 1% tamponada. Após essas etapas, para o pré-enriquecimento as amostras, foram incubadas a 37°C ± 1°C por 18 horas.

Após esse período, alíquotas de 0,1 mL de cada amostra pré-enriquecida foram inoculadas em tubos contendo 10 mL de meio seletivo, caldo Rappaport Vassiliadis (Oxoid) e foram incubadas a 42°C ± 0,2°C por 24 horas. Posteriormente, as amostras foram repicadas em meio sólido seletivo MLCB (ágar manitol lisina cristal violeta verde brilhante) (Oxoid) e incubadas a 36°C ± 1°C por 24 horas.

Por fim, foram selecionadas colônias suspeitas de *Salmonella* spp. (colônias negras brilhantes com bordas regulares), para realização das provas bioquímicas confirmatórias, como reação no ágar TSI, produção de catalase e coloração de Gram.

3.3. ANÁLISE DOS DADOS

Os dados encontrados foram dispostos na forma de frequência de resultados positivos para a presença de *Salmonella* spp. por carcaça e entre as diferentes etapas do abate.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o abate, isolou-se *Salmonella* spp. em todas as cinco carcaças dos animais estudados, ou seja, em 100% das carcaças amostradas. O diagnóstico foi dado de acordo com as características das colônias no ágar MLCB (FIGURA 1) e com os resultados obtidos nas provas de diagnóstico confirmatório (FIGURA 2).



Figura 5. Colônias negras brilhantes com bordas regulares, características de *Salmonella* spp. em ágar MLCB.

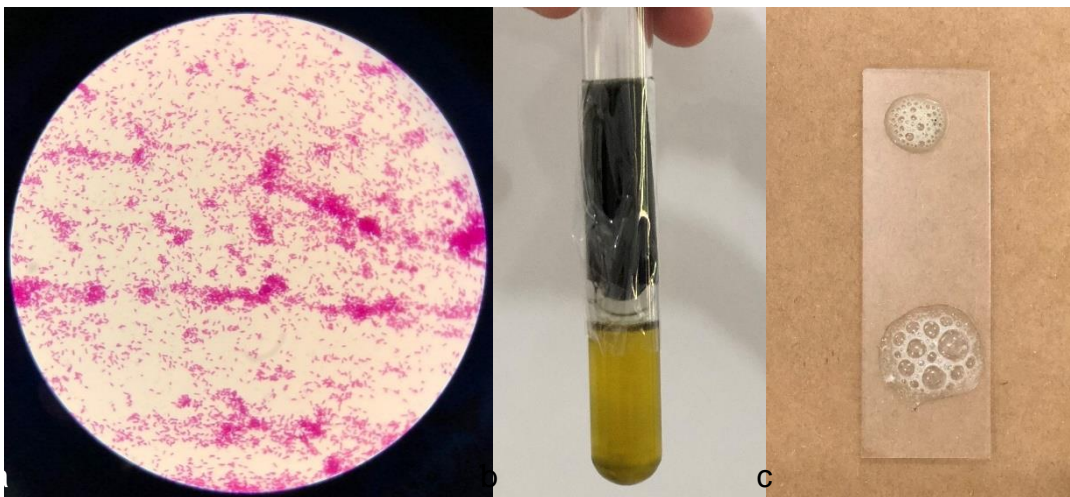


Figura 6. Resultados das provas confirmatórias para *Salmonella* spp.: a) Bacilos Gram-negativos à coloração de Gram (100x); b) Reação ácida e gás com presença de H₂S no ágar TSI; c) Reação positiva à prova da catalase.

Outras pesquisas semelhantes realizadas em diversos abatedouros frigoríficos de suínos encontraram frequências consideravelmente inferiores de contaminação de carcaças por *Salmonella* spp., provavelmente pela diferença da quantidade de amostras coletadas em cada estudo. Neitzke, Rosa e Weber (2017), ao amostrarem carcaças suínas em um abatedouro frigorífico no Rio Grande do Sul, também por meio de swabs superficiais, coletaram 258 amostras e obtiveram frequência de 7,75% de resultados positivos para esse micro-organismo.

Silva *et al.* (2008), ao pesquisarem por *Salmonella* spp. em três abatedouros frigoríficos localizados no Estado de Mato Grosso, obtiveram resultado positivo para

Salmonella spp. em 16,6% das 300 carcaças amostradas. Em estudo realizado por Zebal *et al.* (1974), em abatedouro localizado em Santa Cruz, Rio de Janeiro, constataram que, das 59 amostradas, apenas 12 eram positivas para esse patógeno, correspondendo a 20,33% do total estudado. Já Bessa, Costa e Cardoso (2004), ao pesquisarem *Salmonella* spp. em suínos abatidos em abatedouro frigorífico sob SIF, no Rio Grande do Sul, observaram que, das 300 carcaças amostradas, 167 (55,66%) foram positivas no momento do abate. Contudo, em todos os trabalhos anteriores, os autores realizaram a pesquisa em gânglios linfáticos, tonsilas e/ou fezes, diferentemente do presente trabalho (ZEBRAL *et al.*, 1974; BESSA, COSTA & CARDOSO, 2004; SILVA *et al.*, 2008).

Por outro lado, discordando do presente estudo, Ducas e [Silva \(2011\)](#), ao realizarem *swab* superficial em 18 carcaças suínas nas regiões do traseiro, ponta de agulha e dianteiro, em um abatedouro frigorífico sob SIF localizado em Uberlândia, Minas Gerais, verificaram a ausência de *Salmonella* spp. em 100,0% das carcaças amostradas. Assim, a diferença encontrada entre esses estudos, pode ser atribuída, também, às diferentes técnicas de amostragem.

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 60 amostras coletadas, 19 apresentaram resultado positivo. Ainda de acordo com a Tabela 1, pode-se observar que, entre as cinco carcaças positivas, as carcaças C e E apresentaram maior contaminação (n=5) quando comparadas às carcaças A (n=4), B (n=2) e D (n=3). Para a carcaça A foi observada contaminação nas etapas I (lombo), II (paletas interna e externa e lombo externo) e III (paleta interna). Já para a carcaça B, apenas as amostras coletadas nas etapas II (paleta) e IV (paleta interna) apresentaram resultado positivo para tal micro-organismo. Com relação à carcaça C, essa foi a única que apresentou todas as etapas como positivas: I (paleta), II (paleta), III (paleta externa e lombo externo) e IV (lombo externo). Para a carcaça D observaram-se resultados positivos nas etapas I (paleta), II (lombo) e III (lombo externo). E, para a carcaça E as etapas positivas foram a I (paleta e lombo), II (paleta) e IV (lombo e paleta externos).

Tabela 2. Frequência de resultados positivos para *Salmonella* spp., obtidos de cinco carcaças suínas amostradas em quatro etapas distintas do abate (I: após a sangria; II: após a

escaldagem e depilação; 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	C	D	E	
I	0/2	0/2	1/2	1/2	2/2	4/10
II	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	5/10
III	3/4	0/4	2/4	1/4	0/4	6/20
IV	0/4	1/4	1/4	0/4	2/4	4/20
Total	4/12	2/12	5/12	3/12	5/12	19/60

Pode-se observar, nesta pesquisa que 40,0% das amostras coletadas, após a etapa de sangria, foram positivas para *Salmonella* spp. (TABELA 1). Concordando com esse resultado, Cê (2016) também isolou esse patógeno de carcaças de suínos, logo após a sangria em 24 de 90 amostras coletadas, correspondendo a 26,7% de positividade. Paim (2016), em seu estudo, isolou *Salmonella* spp. em oito das 50 carcaças amostradas (16% de amostras positivas).

A presença desse micro-organismo na pele do animal pode ser justificada pela contaminação superficial de sua pele com fezes, uma vez que muitos suínos são considerados portadores assintomáticos de *Salmonella* spp. (SEIXAS, TOCHETTO & FERRAZ, 2009; CDC, 2017). E, conhecidamente, uma das principais fontes de contaminação das carcaças suínas são as próprias fezes desses animais (CASTAGNA *et al.*, 2004). Essa contaminação pode ocorrer durante o transporte dos animais ou, também, durante o período de descanso, jejum e dieta hídrica obrigatoriamente adotados no abatedouro frigorífico (SEIXAS, TOCHETTO & FERRAZ, 2009). Para diminuir essa contaminação dentro da sala de matança, uma prática adotada nos estabelecimentos de abate é o banho de aspersão com água clorada, imediatamente antes do abate (BRASIL, 1995; PAIM, 2016).

A etapa de escaldagem e depilação apresentou a maior taxa de contaminação, com 50,0% das amostras positivas (TABELA 1). Corroborando com esse resultado, Neitzke, Rosa e Weber (2017) também verificaram que essa etapa foi a principal responsável por contaminação (17,85% das carcaças foram positivas). Machado *et al.* (2013) e Rezende (2009) também identificaram amostras positivas para esse patógeno, com resultados semelhantes de 24,4% e 20% de resultados positivos nessa mesma etapa, respectivamente. Já em um estudo realizado por Seixas, Tochetto e

Ferraz (2009), em um abatedouro frigorífico sob SIF, localizado em Santa Catarina, apesar da baixa frequência encontrada nessa etapa, esse foi o único ponto do abate onde foi possível o isolamento de *Salmonella* spp., correspondendo a 5,55% do total de amostras coletadas.

Tais resultados podem ter ocorrido por diferentes motivos. Em amostras positivas isoladas após a escaldagem e depilação, a contaminação pode ser consequência de um modelo de tanque de escaldagem estático, o qual não sofre renovação contínua de água, favorecendo o acúmulo de matéria orgânica, sendo esse o modelo do tanque do estabelecimento estudado; ou ainda, pela temperatura da água abaixo do permitido por lei (62 a 72°C/2 a 5 minutos), uma vez que se trata de uma condição favorece a multiplicação bacteriana (BRASIL, 1995; SEIXAS, 2008). Contudo, segundo Rezende (2009), a depilação mecânica proporciona maiores chances de contaminação por *Salmonella* spp. quando comparada ao tanque de escaldagem, já que a depiladora é um equipamento de difícil higienização, além de favorecer a contaminação cruzada entre carcaças.

Após a evisceração das carcaças, foram identificadas 30,0% das amostras positivas nesse ponto do abate (TABELA 1). Concordando com o exposto, embora com frequência inferior, Neitzke, Rosa e Weber (2017) isolaram *Salmonella* spp. em 10,0% das amostras nessa etapa. Já Lima *et al.* (2004) verificaram uma frequência de 16,7% das amostras positivas durante esse ponto do abate.

A contaminação após a etapa de evisceração é comum, pois qualquer manipulação inadequada por parte do funcionário pode causar o rompimento de vísceras e, conseqüentemente, a contaminação da carcaça com conteúdo do trato gastrointestinal (SEIXAS, TOCHETTO & FERRAZ, 2009; NEITZKE, ROSA & WEBER, 2017). A etapa de evisceração é considerada um ponto crítico de controle no abate (BRASIL, 1998). Isso porque, quando realizada corretamente, impede que um suíno portador tenha sua carcaça contaminada. Quando realizada inadvertidamente, promove a contaminação de carcaças de suínos sadios de forma cruzada, pelo uso de equipamentos e utensílios contaminados (DUCAS & SILVA, 2011).

Por fim, a etapa após a lavagem final da carcaça foi responsável pela menor contaminação, com 20,0% de amostras positivas (TABELA 1). Neitzke, Rosa e Weber (2017) também encontraram *Salmonella* spp. nesse ponto do abate, com 3,3% de suas amostras positivas. Machado *et al.* (2013) encontraram frequência ainda inferior,

com apenas 2,5% das amostras positivas nessa etapa. Esses resultados podem ser justificados por falhas na evisceração, uma vez que a lavagem final não elimina contaminações prévias (SEIXAS, TOCHETTO & FERRAZ, 2009). E, além disso, a água utilizada em estabelecimentos de produtos de origem animal deve ter sua potabilidade assegurada, exatamente com o intuito de se evitar contaminação desses alimentos (BRASIL, 2017).

Quando a contagem de micro-organismos ultrapassa o limite crítico em um sistema APPCC, medidas corretivas devem ser tomadas e implementadas com o intuito de eliminar o perigo presente (PINTO, 2014). Assim, deve-se reforçar as BPF, principalmente em relação aos cuidados higiênico-sanitários em cada uma dessas etapas, de forma a evitar a contaminação cruzada e garantir a inocuidade do produto final (NEITZKE, ROSA & WEBER, 2017).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi constatada a presença de *Salmonella* spp. em 100,0% das carcaças amostradas, com queda na frequência de resultados positivos no final do abate. Esses resultados, embora apresentem alguma redução ao longo do abate, sugerem falhas no sistema APPCC implantado no abatedouro frigorífico estudado. Tais falhas resultam em risco à saúde pública e, portanto, devem ser alvos de ações corretivas, além de intensa monitorização pela equipe de controle de qualidade do referido estabelecimento.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **2017 Relatório Anual**. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/storage/files/3678c_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web_reduzido.pdf>. Acesso em: 27 de fev. 2018.

BESSA, M.C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária brasileira**, v.24, n.2, p.80-84, 2004.

BOARATTI, M.F.G. **Análise de perigos e pontos críticos de controle para alimentos irradiados no Brasil**. Dissertação (Livre Docência) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (Autarquia associada à Universidade de São Paulo), São Paulo .2004. 126p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Aprova as normas técnicas de instalações e equipamentos para abate e industrialização de suínos.** Portaria 711, de 01 de novembro de 1995, 1995.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instituir o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC a ser implantado, gradativamente, nas indústrias de produtos de origem animal sob o regime do Serviço de Inspeção Federal.** Portaria nº46, de 10 de fevereiro de 1998. Brasília, 1998. 31p.

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.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos.** Brasília : Editora do Ministério da Saúde, 2010. 158p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil.** 2018. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/janeiro/17/Apresentacao-Surtos-DTA-2018.pdf>>. Acesso em: 10 de fev. 2018.

CASTAGNA, S.M.F.; SCHWARZ, P.; CANAL, C.W.; CARDOSO, M. Presença de *Salmonella* sp. no trato intestinal e em tonsilas/linfonodos submandibulares de suínos ao abate. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.3, p.300-306, 2004.

CDC (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION). **Salmonella Infection.** 2017. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/healthypets/diseases/salmonella.html>>. Acesso em: 10 de fev. 2017.

CÊ, E.R. **Influência das etapas do processo de abate de suínos na prevalência de patógenos e níveis de microrganismos indicadores de qualidade e higiene.** Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina. 2016.

DEPEC (DEPARTAMENTO DE PESQUISA E ESTUDOS ECONÔMICOS). **Carne Suína – Dezembro de 2016.** 2016. Disponível em: <https://www.economiaemdia.com.br/EconomiaEmDia/pdf/infset_carne_suina.pdf>. Acesso em: 10 de fev. 2016.

DUCAS, C.T.S.; SILVA, L.F. Pesquisa de *Salmonella* spp. e enumeração de coliformes totais e termotolerantes em carcaças de suínos abatidos em matadouro-frigorífico de Uberlândia, Minas Gerais. **Veterinária Notícias**, v.17, p.54-61, 2011.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos.** São Paulo: Atheneu, 2005, 196p.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos**. Editora Manole, Barueri, SP. 2008. 317p.

GILL, C.O. Current and emerging approaches to assuring the hygienic condition of red meats. **Canadian Journal of Animal Science**, v.75, p.1-13, 1995.

ISO. (2002). ISO 6579 - **Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.** International Organization for Standardization: Geneva.

LETELLIER, A.; MESSIER, S.; QUESSY, S. Prevalence of *Salmonella* spp. and *Yersinia enterocolitica* in finishing swine at Canadian abattoirs. **Journal of Food Protection**, v.62, n.1, p.22-25, 1999.

LIMA, E.S.C.; PINTO, P.S.A.; SANTOS, J.L.; VANETTI, M.C.D.; BEVILACQUA, P.D.; ALMEIDA, L.P.; PINTO, M.S.; DIAS, F.S. Isolamento de *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus* no processo do abate suíno como subsídio ao sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, n.4, p.185-190, 2004.

MACHADO, A.R.; GOUVEIA, F.C.; PICININ, L.C.A.; KICH, J.D.; CARDOSO, M.R.I.; FERRAZ, S.M. Avaliação microbiológica e físico-química de pernis suínos tratados com ácidos orgânicos e/ou vapor no controle da contaminação superficial por *Salmonella* Typhimurium. **Ciência Animal Brasileira**, v.14, n.13, p.185-190, 2013.

MATSUBARA, E.N. **Condição higiênico- sanitária de meias-carcaças de suínos após o abate e depois do resfriamento e análise de utilização de Lista de Verificação para avaliar boas práticas no abate de suínos**. 152f. Dissertação (Livre Docência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de São Paulo, São Paulo. 2005.

NEITZKE, D.C.; ROSA, C.R.; WEBER, F.H. Segurança dos alimentos: contaminação por *Salmonella* sp. no abate de suínos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.20, p.1-7, 2017.

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 HCPA**, v.30, n.3, p.279-285, 2010.

PAIM, D.S. **Perfil de excreção de *Salmonella* em suínos ao abate e presença de carcaças positivas no pré-resfriamento**. 53f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2016.

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 Infeciosas**. Porto Alegre : Artmed, 2005. 512p.

RAMOS, G.V.; VILELA, J.B. **Implantação dos programas de autocontrole em indústrias de alimentos de origem animal.** Disponível em: <<https://www.aedb.br/seget/arquivos/artigos16/33324359.pdf>>. Acesso em: 15 de mar. 2018.

REZENDE, M.T.N.P. **Salmonella sp. em rebanho comercial de suínos e suas carcaças processadas no frigorífico.** 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.

ROSTAGNO, M.H.; HURD, H.S.; MCKEAN, J.D. Pre-slaughter holding environment in pork plants is highly contaminated with *Salmonella enterica*. **Applied Environmental Microbiology**, v.69, p.4489-4494, 2003.

SCHRAIBER, S.L.V.R.M. **Programas de Autocontrole em Indústria de Carne Suína.** Curitiba, 43f. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Tuiuti do Paraná.

SEIXAS, F.N. **Avaliação sorológica e bacteriológica de suínos e contaminação de carcaças por Salmonella sp. na linha de abate.** 61f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Centro de Ciências Veterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages. 2008.

SEIXAS, F.N.; TOCHETTO, R.; FERRAZ, S.M. Presença de *Salmonella sp.* em carcaças suínas amostrada em diferentes pontos da linha de processamento. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.2, p.634-640, 2009.

SILVA, M.C.; FARIA, G.S.; PAULA, D.A.J.; MARTINS, R.P.; JUNIOR, J.G.C.; KICH, J.D.; COLODEL, E.M.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V. Prevalência de *Salmonella sp.* em suínos abatidos no Estado de Mato Grosso. **Ciência Rural**, v.39, n.1, p.266-268, 2008.

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.

THORBERG, B. M.; ENGVALL, A. Incidence of *Salmonella* in slaughterhouse. **Journal of Food Protection**, v.64, n.4, p.542-545, 2001.

TOMPKIN, R.B. The use of HACCP in the production of meat and poultry products. **Journal of Food Protection**, v.53, p.795-803, 1990.

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.

ZEBRAL, A.A.; FREITAS, C.A.; HOFER, E. Ocorrência de *Salmonella* em glânglios linfáticos de suínos aparentemente normais, abatidos no matadouro de Santa Cruz,

cidade do Rio de Janeiro, Guanabara. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.72, n.3/4, p.223-235, 1974.

EFEITOS SEDATIVOS E CARDIORRESPIRATÓRIOS DA DEXMEDETOMIDINA ISOLADA OU EM ASSOCIAÇÃO COM A MEPERIDINA EM CÃES

Acadêmicos: Alexander Alves Caldeira e Anielly Carla Cazassa

Orientadora: Vanessa Guedes Pereira

RESUMO

A Dexmedetomidina é um isômero farmacologicamente ativo da medetomidina, classificada como agonista alfa-2 adrenérgico e possui propriedades singulares que somam benefícios quanto à sedação e analgesia que permanecem durante todo o período pré-operatório. Objetivou-se, neste estudo, avaliar os efeitos sedativos e cardiorrespiratórios do uso da dexmedetomidina isolada (GD) na dose de 5ug/kg e associada à meperidina (GDM) na dose de 5mg/kg, ambos intramuscular, em cães submetidos a cirurgias eletivas. Foram utilizados 8 cães hípidos divididos aleatoriamente em dois grupos, GD e GDM, em que foram avaliados a frequência cardíaca (FC), a frequência respiratória (FR), a temperatura corporal (TC), o tempo de preenchimento capilar e a coloração da mucosa e a sedação, no tempo basal, 5, 10, 15, 30 e 45 minutos após administração dos fármacos. Não houve alterações significativas entre os grupos para os parâmetros fisiológicos. O GD apresentou redução da FC em comparação ao basal a partir de T3. O grupo GDM apresentou maiores escores de sedação em comparação ao momento basal, até 15 minutos após a administração do fármaco. Concluiu-se que associação de dexmedetomidina e meperidina promove maior sedação, com maior estabilidade da frequência cardíaca, respiratória e temperatura corporal em comparação ao uso isolado de dexmedetomidina.

PALAVRAS CHAVE: sedação, frequência cardíaca, alfa 2 agonistas, opioide

1- INTRODUÇÃO

A sedação descreve um estado em que a resposta de um animal aos estímulos externos é reduzida. Trata-se de uma prática amplamente utilizada para aumentar a segurança durante a manipulação do animal e tem o intuito de potencializar os anestésicos gerais (MURREL, 2016).

A sedação é um componente importante antes da anestesia geral, precisamente na medicação pré-anestésica, devido a seu efeito ansiolítico e analgésico preventivo (se o sedativo tem propriedades analgésicas) além de promover uma recuperação suave, contribuindo para a anestesia equilibrada (MURREL, 2016).

Já a anestesia geral balanceada, consiste na associação de fármacos com o objetivo de promover analgesia, hipnose e miorelaxamento, com mínimas alterações fisiológicas, aumentando, assim, a segurança anestésica (TRANQUILLI e GRIMM, 2017). A finalidade é diminuir os efeitos adversos, pois quando um fármaco é utilizado isoladamente é necessária a administração de uma dose maior, contribuindo para o aparecimento desses efeitos indesejáveis (ILKIW, 1999).

Embora haja grande variedade de fármacos utilizados na anestesia geral intravenosa na medicina veterinária (MUIR, 1994), nenhum deles quando utilizado isoladamente oferece um efeito anestésico perfeito (ILKIW, 1999).

A Dexmedetomidina é um isômero farmacologicamente ativo da medetomidina (LUNA *et al.*, 2012), agonista alfa-2 adrenérgico. Seu uso foi aprovado em humanos em 1999 pela *Food and Drug Association* (FDA) e possui propriedades singulares que somam benefícios quanto à sedação e analgesia que permanecem durante todo o período pré-operatório (GERTLER *et al.*, 2001, VILLELA & NASCIMENTO JR 2003).

Esse efeito ocorre por meio da ativação dos receptores alfa 2 adrenérgicos responsáveis por promover uma resposta analgésica acentuada e sinergismo entre as drogas utilizadas. Conseqüentemente a este efeito, diminui-se a dose de cada fármaco a ser utilizado, evitando assim a sobrecarga dos efeitos adversos apresentados por cada um deles (GRAHAM *et al.*, 2000).

Contando com estas notáveis propriedades, a dexmedetomidina tem sido utilizada em medicina veterinária como componente de anestesia balanceada somado a analgésicos e anestésicos (LUNA *et al.*, 2012).

Quanto aos opioides, são fármacos adjuvantes deste processo, uma vez que agem no controle da dor, sendo os principais analgésicos da história. A meperidina é um opioide sintético (STEAGALL e LUNA, 2012) que pode ser utilizado em associação com a dexmedetomidina a fim de diminuir a bradicardia e aumentar o efeito de sedação. Com a sua utilização é capaz de diminuir a dose de ambos a serem administrados (GRINT *et al.*, 2009).

O objetivo deste estudo é avaliar os efeitos cardiorrespiratórios e sedativos da administração da dexmedetomidina isolada e associada à meperidina como medicação pré-anestésica em cães.

2- FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. DEXMEDETOMIDINA

Frequentemente utilizados na medicina veterinária, os agonistas alfa-2 adrenérgicos — como a xilazina, detomidina e, mais recentemente, a dexmedetomidina — promovem sedação, analgesia e relaxamento muscular. São responsáveis, também, por reduzir a utilização de anestésicos injetáveis e inalatórios, favorecendo a redução de possíveis alterações hemodinâmicas, como

bradicardia, arritmias, hipotensão ou hipertensão, além disso não promovem grandes alterações no sistema respiratório (SINCLAIR, 2003).

Dentre os fármacos considerados agonista alfa 2 adrenérgico, estão a medetomidina e a dexmedetomidina que possuem propriedades semelhantes. Quanto a seletividade para os receptores alfa-2 adrenérgicos, a dexmedetomidina mostra-se superior, pela sua acentuada relevância à clonidina e xilazina, sendo 8 e 10 vezes superior respectivamente (CAMPAGNOL, 2007).

Os receptores alfa-2 adrenérgicos estão localizados em diferentes partes do corpo, incluindo sistema nervoso central (SNC), diferentes órgãos, tecidos e tipos celulares, como tecido vascular e plaquetas, resultando em uma variedade de efeitos clínicos (RANKIN, 2017).

Estes fármacos, quando se ligam aos receptores alfa-2, promovem o influxo de íons cálcio na membrana neuronal e proporcionam a inibição da síntese de liberação de noradrenalina no SNC (LUNA *et al.*, 2012). Quando o receptor alfa-2 é ativado, inibe a adenilatociclase que catalisa a formação de monofosfato cíclico de adenosina (AMPc) que atua em processos celulares catabólicos (KHAN *et al.*, 1999). Outro mecanismo de ação é a ativação da proteína G nos canais de potássio que resultará em uma hiperpolarização celular, diminuindo a excitabilidade dos neurônios do SNC (LUNA *et al.*, 2012).

O mecanismo antinociceptivo dos agonistas alfa-2 envolve ação espinal e supraespinal. Devido a esta vasta distribuição dos receptores alfa-2, os adrenoreceptores alfa-2 tendem a reduzir os sinais nociceptivos em diferentes vias da dor: inibem a liberação de neurotransmissores originados das fibras aferentes primárias para neurônios de segunda ordem; atuam na modulação pré sináptica e pós sináptica de sinais nociceptivos segmentares do corno dorsal; influenciam no sistema de modulação descendente do tronco cerebral ou alterar a modulação ascendente de sinais nociceptivos no diencéfalo e áreas límbicas (LUNA *et al.*, 2012).

Na presença de estimulação desses locais, há uma descarga nos neurônios nociceptivos estimulados por fibras periféricas A e C e também impedem a liberação de seus neurotransmissores. Supõe-se que os efeitos analgésicos sejam devido à presença desses receptores no corno dorsal da medula espinal (NELSON *et al.*, 2001).

A ação hipnótica ocorre devido à inibição da liberação de noradrenalina e histamina por ação dos receptores alfa-2 adrenérgicos pré-sinápticos, que ativa a liberação do ácido gama-aminobutírico (GABA) e galanina, induzindo um estado hipnótico (NELSON *et al.*, 2001). A dexmedetomidina apresenta ação agonista em receptores alfa 2 adrenérgicos no SNC, sendo, portanto, a causa principal de seu efeito sedativo como agonista alfa 2 adrenérgico (DOZE *et al.*, 1989).

Sabe-se que, os fármacos agonistas alfa 2 adrenérgicos reduzem a pressão intraocular tanto por vasoconstrição das arteríolas quanto pela drenagem do humor aquoso, possibilitando a sua utilização em pacientes portadores de glaucoma (FERREIRA *et al.*, 1990; HAYASHY e MAZE, 1993; ALVES *et al.*, 2000). A partir dessa propriedade, a dexmedetomidina se mostrou eficaz em pacientes submetidos a cirurgias oftálmicas (DYCK e SHAFER, 2000).

No sistema cardiovascular, esses fármacos promovem depressão do miocárdio, bradicardia, arritmias, bloqueio atrioventricular de segundo grau, aumento da resistência vascular e pressão venosa central. Já no sistema respiratório, nota-se depressão, redução da frequência respiratória, do volume corrente por minuto, e relaxamento da musculatura do trato respiratório superior, suprimindo o reflexo da tosse. No entanto, não alteram os gases sanguíneos (O_2 , CO_2) de maneira importante. Devido a esses efeitos adversos, devem ser usados com cautela em animais cardiopatas, hepatopatas ou com disfunções respiratórias e renais (LUNA *et al.*, 2012).

Uma vantagem do uso desta classe de fármacos é a presença de antagonistas seletivos, como a ioimbina e o atipamezole (RANKIN, 2017), ambos com o potencial de reverter os efeitos proporcionados pela dexmedetomidina (DOZE *et al.*, 1989).

2.2. MEPERIDINA

Os opioides são os protótipos dos fármacos analgésicos, cuja ação depende da interação com os receptores opioides (KUKANICH e WIESE, 2017). De acordo com a afinidade de um opioide e seu receptor, tem-se um resultado específico e sinais clínicos de acordo com afinidade estabelecida (FANTONI e CORTOPASSI, 2008).

Os receptores opioides são acoplados à proteína G e, quando ativados, inibem a enzima adenilatociclase, inibindo os canais de cálcio, o que resulta na redução da formação de AMPc com inibição da excitabilidade das fibras aferentes e do impulso

nociceptivo. Outro mecanismo de promover analgesia dos opioides é por meio das vias dos receptores de GABA e das vias serotoninérgicas (STEAGALL e LUNA, 2012).

Esses fármacos estimulam a abertura dos canais de potássio, ocasionando hiperpolarização das células, permitindo a saída de sódio e cálcio por esses canais que se mantêm abertos, assim não há acúmulo na célula. Há ausência de despolarização e então não propaga os impulsos nociceptivos (FANTONI & CORTOPASSI, 2008).

Os opioides atuam em diferentes receptores com relação à afinidade, atividade, potência e eficácia. Existem três tipos de receptores opioides: mu (μ), kappa (κ) e delta (δ). O receptor mu promove analgesia, depressão respiratória, diminuição da motilidade gastrointestinal, sedação e bradicardia. O receptor kappa desencadeia analgesia, sedação e inibição do hormônio antidiurético (FANTONI & CORTOPASSI, 2008). Finalmente, o receptor delta — relacionado à analgesia espinhal, alucinação, estímulo vaso motor e respiratório — modula a atividade de receptores μ , promovendo atividade psicomimética (STEAGALL e LUNA, 2012).

A meperidina é um opioide sintético que apresenta maior afinidade para os receptores μ , seguido de κ e delta δ , apresenta latência entre 15 a 30 minutos. Seu efeito clínico é similar à morfina, no entanto, sua potência analgésica é 10 vezes menor que a morfina. Por outro lado, não estimula a zona quimiorreceptora no SNC e conseqüentemente não induz ao vômito e defecação. Caracteriza-se por liberar histamina, o que pode promover hipotensão imediata após a sua injeção intravenosa (STEAGALL e LUNA, 2012).

Tem sido muito utilizada, na medicina veterinária, como medicação pré-anestésica devido ao seu baixo custo, como potencializador dos efeitos sedativos de outros fármacos, além de promover efeito analgésico (FANTONI & CORTOPASSI, 2008).

Segundo Grint *et al.*, (2009), a combinação de dexmedetomidina e meperidina apresenta efeito sinérgico e aumenta o nível de sedação. Além disso, a meperidina também pode reduzir um dos efeitos indesejáveis dos alfa-2 agonistas adrenérgicos, como a bradicardia, aumentando a segurança do procedimento anestésico (KUKANICH e WIESE, 2017). Entretanto, seu uso é contraindicado em cardiopatas, pois reduz a contratilidade do miocárdio e promove efeito inotrópico negativo (STEAGALL e LUNA, 2012).

2.3. AVALIAÇÃO DA SEDAÇÃO EM CÃES

Segundo Murrel (2016), a sedação descreve um estado em que a resposta de um animal aos estímulos externos é reduzida, sendo utilizada para aumentar a segurança durante a manipulação do animal e potencializar os anestésicos gerais.

Antes da anestesia geral, a sedação é um componente importante da medicação pré-anestésica, principalmente devido ao efeito ansiolítico e de analgesia preventiva (se um sedativo tem propriedades analgésicas), produzindo uma recuperação suave, contribuindo assim para a anestesia multimodal (MURREL 2016). Os agonistas alfa-2 adrenérgicos apresentam boa analgesia, sendo que esse efeito tem duração de aproximadamente metade do tempo da duração de sedação (SINCLAIR, 2003).

Um fator importante relacionado ao uso de fármacos sedativos é que o grau de sedação não é aumentado necessariamente com o aumento da dose dos fármacos, influenciando, normalmente, no tempo de duração da sedação. O efeito sedativo pode depender do estado comportamental do animal, cuja agitação pode comprometer o efeito esperado, especialmente com o uso de agonistas alfa-2 (LUNA *et al.*, 2012). Isso ocorre porque em situações de estresse há o aumento de catecolaminas circulantes que competem pelo mesmo receptor alfa-2 (RANKIN, 2017). Sendo assim, o ideal é que a sedação seja realizada em locais livres de estímulos excitatórios externos (LUNA *et al.*, 2012).

O sistema de escores para a avaliação da sedação pode ser utilizados por médicos veterinários para determinar a eficácia do sedativo utilizado. Como a avaliação da sedação é subjetiva, a atribuição de escores nas escalas de sedação permite a uma avaliação objetiva desse parâmetro, favorecendo na avaliação da sedação em cães (VANIO *et al.*, 1989 ; YONG *et al.*, 1990).

Nas escalas de sedação, as pontuações das categorias são essenciais para garantir uma sensibilidade adequada à escala, garantindo menor variabilidade entre os avaliadores e facilitando a comparação dos resultados entre estudos, apoiando assim a reprodutibilidade (VANIO *et al.*, 1989 ; YONG *et al.*, 1990).

Existem diferentes escalas de uso para cães que variam, consideravelmente, no número e no conteúdo das categorias. Assim, as escalas são frequentemente

alteradas entre estudos, dificultando a comparação desses dados entre os estudos (VANIO *et al.*, 1989 ; YONG *et al.*, 1990).

A escala de sedação utilizada por Grint *et al.*, (2009) (ANEXO 1) apresenta vantagens por apresentar sete categorias de avaliação como: postura, reflexo palpebral, posição do olho, relaxamento da língua e mandíbula, resposta a estímulos sonoros e resistência, quando colocado decúbito lateral e atitude geral (GRINT *et al.*, 2009). São sinais indicativos de sedação: em caninos e felinos, decúbito e miorelaxamento; em ruminantes, além do decúbito, protusão da língua, ptose labial e palpebral, sialorreia e mugidos; nos equinos, não se observa decúbito, a sedação é representada por ataxia, abaixamento da cabeça, abertura dos membros, ptose labial e palpebral, transpiração e discreta exposição do pênis (WAGNER *et al.*, 2017).

Essa escala foi escolhida para a avaliação da sedação no presente trabalho, pois é capaz de discriminar diferentes níveis de sedação em cães, inclusive apresenta boa confiabilidade inter-avaliador quando aplicada por indivíduos não treinados (WAGNER *et al.*, 2017).

3- METODOLOGIA

3.1- ANIMAIS:

Foram incluídos no estudo oito cães com peso médio de $13,9 \pm 14,8$ kg atendidos no Hospital Veterinário Gardingo, Matipó-MG, com indicação de cirurgia eletiva. Os animais foram selecionados a partir da normalidade dos exames físicos e laboratoriais, incluindo hemograma completo, dosagem de ureia, creatinina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (FA).

3.2- DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Previamente ao estudo, os animais foram submetidos a jejum alimentar de 8 horas e jejum de hidratação de 4 horas.

No dia do experimento, os animais foram previamente contidos para realização da depilação da área de acesso venoso e área cirúrgica. Para o acesso venoso, foi realizada a antisepsia da área e cateterização da veia com cateter adequado para o porte do animal, sendo instituído a fluidoterapia na taxa de 10ml/kg/h.

Foram avaliados, no momento basal (T0), os parâmetros fisiológicos, incluindo frequência cardíaca (FC) e frequência respiratória (FR) por meio da auscultação com

estetoscópio; a temperatura corporal (com termômetro digital) posicionado no reto, além da avaliação da coloração da mucosa e tempo de preenchimento capilar (TPC). Foi feito também o escore de sedação.

Os animais foram então divididos aleatoriamente em dois grupos experimentais, em que os animais recebiam, por via intramuscular, dexmedetomidina intramuscular na dose de 5 ug/Kg (grupo GD) ou dexmedetomidina na dose 5 ug/Kg associado de meperidina na dose 5 mg/Kg.

Após a sedação, foram avaliados os mesmos parâmetros fisiológicos e escore de sedação, 5, 10, 15, 30 e 45 minutos (T1, T2, T3, T4 e T5, respectivamente) após a administração dos fármacos.

3.3- AVALIAÇÃO DA SEDAÇÃO

Foi realizado um estudo cego, no qual o avaliador não teve conhecimento do tratamento realizado previamente no animal.

A sedação foi avaliada utilizando-se a escala de sedação proposta por Grint *et al.*, (2009) (ANEXO 1), em que são atribuídos escores de 0 a 4 de acordo com postura espontânea, reflexo palpebral, posição do olho, relaxamento de mandíbula e língua, resposta ao barulho (bater palmas ou estalar dos dedos), resistência quando colocado em decúbito lateral e aparência e atitude geral, após a administração dos fármacos.

3.4- OCORRÊNCIA DE EFEITOS ADVERSOS

O atipamezole apresenta seletividade alfa-2 e alfa-1 de 200 a 300 vezes maior que a ioimbina e pode ser utilizado na maioria das espécies com a função de reverter a sedação e os efeitos adversos promovidos pelos agonistas alfa-2 adrenérgicos (LUNA *et al.*, 2012).

Na ocorrência de efeito adverso, como bradicardia e hipersensibilidade, esses efeitos poderiam ser revertidos com administração de atipamezole intravenoso na dose de 0,05mg/kg.

3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi utilizado o programa estatístico *Sigma Plot* 12.0, com $p < 0,05$. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de *Shapiro-Wilk*. Para os dados paramétricos, como frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura

corporal, foi aplicado o teste t para a comparação entre os tratamentos e o teste de Tukey para a comparação dentro do mesmo tratamento ao longo do tempo. Para os escores de sedação, foi aplicado o teste de Mann-Whitney para a comparação entre os grupos experimentais e Kruskal-Wallis para comparação dentro do mesmo tratamento ao longo do tempo.

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos parâmetros fisiológicos — incluindo a frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura corporal, além do escore de sedação — estão representados na Tabela 1.

Tabela 1: Média e desvio padrão da frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura corporal. Mediana, quartil superior e inferior do escore de sedação de cães sedados com dexmedetomidina isolada (GD) ou associada a meperidina (GDM).

	T0	T1	T2	T3	T4	T5
FC (bpm)						
GD	108±10 Aa	81±12 Aab	75±13 Aab	68±14 Ab	66±18 Ab	62±17 Ab
GDM	108±30 Aa	101±24 Aa	86±34 Aa	79±44 Aa	88±45 Aa	84±43 Aa
FR (mpm)						
GD	68±11 Aa	57±20 Aa	30±8 Aa	28±4 Aa	29±6 Aa	28±7 Aa
GDM	85±39 Aa	95±41Aa	63±43 Aa	47±41 Aa	46±49 Aa	47±49 Aa
TC (°C)						
GD	38,8±0,4 Aa	38,9±0,4 Aa	38,8±0,4 Aa	38,7±0,7 Aa	38,3±0,7 Aa	38,2±0,8 Aa
GDM	38,4±1 Aa	39±0,5 Aa	38,7±0,4 Aa	38,7±0,4 Aa	38,1±0,9 Aa	38±0,8 Aa
Escore total						
GD	1 Aa	2 Bab	6 Bab	9 Bab	13 Ab	12 Aab
	0,25 - 1	0,25 - 4,5	3,0 - 11,2	9,0 - 15,2	9,0 - 15,5	6,5 -15,2
GDM	0 Aa	9 Aab	17 Aab	19 Ab	15 Aab	9 Aab
	0- 0	8,2-16,5	14,7-20,2	18,2-20,0	11,0-19,0	6,0-17,2

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si. Letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si (p<0,05).

Com relação à frequência cardíaca (FC), não houve diferença significativa entre os grupos experimentais. O GD apresentou redução progressiva desse parâmetro e

em T3 diferiu-se de forma significativa do tempo basal. Já para o grupo GDM, não houve alteração significativa com relação ao tempo basal (TABELA 1 e FIGURA 1).

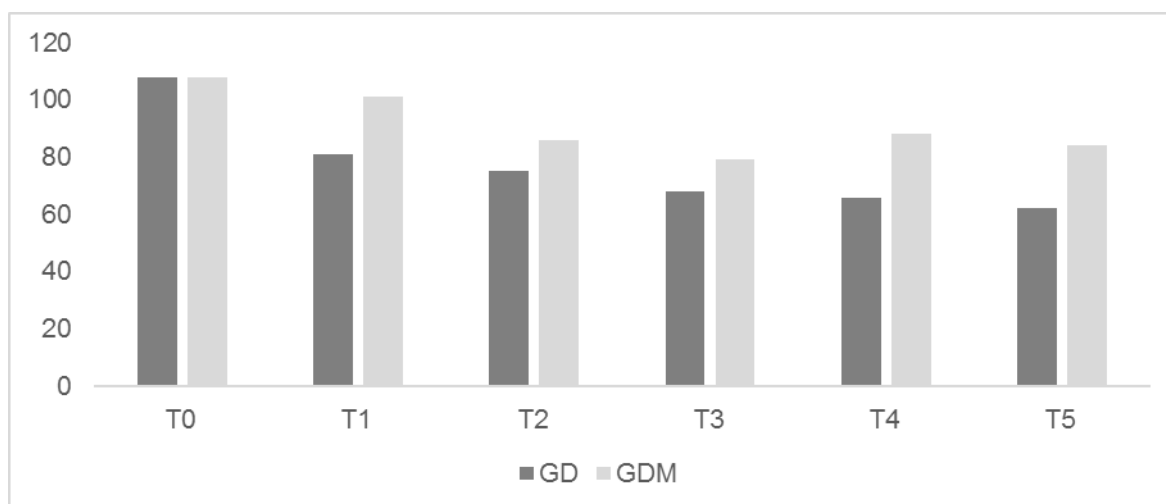


Figura 1: Frequência cardíaca (bpm) de cães sedados com dexmedetomidina isolada (GD) ou associada à meperidina (GDM).

A dexmedetomidina é um agonista alfa 2 adrenérgico e sua ação sedativa está relacionada a eventos de bradicardia (LUNA *et al.*, 2012). Esse efeito pode ser explicado por Jonge *et al.* (1981) que descreveu a capacidade do fármaco em promover redução da exocitose da noradrenalina através da ativação dos receptores pré-sinápticos.

Episódios de bradicardia foram observados por Campagnol (2007) ao utilizar a dexmedetomidina por intramuscular e intravenosa. Isso também foi observado pela via epidural utilizada por Otero *et al.*, (2016), em que os cães receberam dexmedetomidina em bolus na dose de 2 ug/kg, seguido de infusão contínua de 2ug/kg/h, apresentando redução da frequência cardíaca com ou sem associação de midazolam.

Assim, a via de administração não está relacionada à diferença de resposta deste fármaco, pois — embora as doses e a via de administração sejam diferentes das relatadas nos estudos anteriores — este trabalho demonstrou semelhança ao uso de dexmedetomidina isolada ou associada a meperidina quanto à redução da frequência cardíaca. No presente estudo, a via de administração não influenciou no resultado, pois em todos os animais de ambos os grupos foi utilizado a via intramuscular.

Neste estudo, a meperidina foi associada à dexmedetomidina com o objetivo de prevenir a bradicardia promovida pelo alfa 2 adrenérgico, visto que este opioide

possui, ao contrário dos demais fármacos desta classe, efeito antimuscarínico (PRIANO & VATNER, 1981; KUKANICH & WIESE, 2017), o que foi observado no GDM que apresentou menor redução da FC em comparação ao tempo basal. Grint *et al.* (2009), relatam que a meperidina não é capaz de atenuar esse efeito dos alfa-2 agonistas quando a meperidina na dose de 5mg/kg é associada à dexmedetomidina na dose de 10µg/kg. Entretanto, a dose da dexmedetomidina foi maior que a utilizada no presente trabalho.

Apesar de apresentar redução da frequência cardíaca, em ambos os grupos os valores médios obtidos estiveram dentro das normalidades para a espécie, em que para FC os valores vão de 60 a 160 batimentos por minuto (FEITOSA, 2014).

Quanto à frequência respiratória (FR), não houve diferença significativa entre os grupos experimentais. Na comparação dos grupos experimentais ao longo do tempo, tanto o GD quanto o GDM não apresentaram diferença estatística em comparação ao tempo basal (TABELA 1).

Nos resultados obtidos por Picioli *et al.* (2013), verificou-se uma discreta redução na FR de todos grupos durante todo o momento de avaliação em que foram administrados dexmedetomidina na dose de 0,01mg/kg. Apesar da diferença de dose utilizada, os resultados foram semelhantes. Segundo Rankin (2017), os alfa-2 agonistas não promovem grandes alteração respiratórias, mantendo os gases sanguíneos dentro dos parâmetros normais, sendo que quando utilizados com outros fármacos, como sedativos, opioides ou anestésicos, pode haver depressão respiratória. Além disso, o estudo descrito por Bhana (2000) demonstrou que a dexmedetomidina — quando utilizada na dose de 2 ug/kg administrada por infusão contínua com duração de 2 minutos— é capaz de aumentar a pressão parcial de dióxido de carbono e reduzir o volume minuto na frequência respiratória.

Com relação a temperatura corporal, não houve diferença significativa entre os grupos experimentais. Em ambos os grupos também não houve diferença significativa ao longo do tempo (TABELA 1).

Um dos efeitos adversos dos agonistas alfa 2 adrenérgicos é a promoção de hipotermia, por meio da sua ação depressora no centro termorregulador e redução da atividade muscular (DUPRAS *et al.*; 2001; GRINT & MURISON, 2007).

Talke *et al.* (2000) e Nascimento Jr (2003) utilizaram a dexmedetomidina na forma de infusão contínua para avaliar o limiar da sudorese, vasoconstrição e

tremores. Foi observado que este fármaco é capaz de alterar esses limiares, exceto a sudorese, de forma significativa, concluindo que a dexmedetomidina pode promover hipotermia naqueles animais que estão presentes em ambientes com temperatura reduzida. Outro resultado parecido, foi o apresentado por Rassy (2010) que verificou redução de forma progressiva na temperatura retal de todos os animais sedados com dexmedetomidina submetidos à avaliação. No presente estudo, a dexmedetomidina — bem como a associação deste fármaco com a meperidina — foi aplicada nos animais por via intramuscular e estes eram mantidos em temperatura ambiente até o final da avaliação, o que pode explicar a manutenção da temperatura corporal dentro do limite para a espécie em todos os animais avaliados.

Também foram avaliadas a coloração da mucosa e o tempo de preenchimento capilar (TPC) dos animais em todos os momentos de avaliação, não sendo observado nenhuma alteração. Segundo Rankin (2017), o uso de alfa 2 agonistas pode promover, inicialmente, alteração da coloração da mucosa, variando de pálida à azulada, pois estes fármacos promovem vasoconstrição, diminuindo o fluxo sanguíneo nos tecidos periféricos. No entanto, essas alterações não foram observadas no presente estudo.

A sedação descreve um estado em que a resposta de um animal aos estímulos externos é reduzida, sendo utilizada para aumentar a segurança durante a manipulação do animal e potencializar os anestésicos gerais (MURREL, 2016).

A escala de Grint *et al.* (2009) permite avaliar o grau sedativo do fármaco de acordo com os escores totais que variam de 0 a 20. Portanto, quanto maior o escore maior o nível de sedação.

Em relação à avaliação da sedação promovida pela dexmedetomidina isolada ou associada a meperidina, a associação dos dois fármacos promoveu maiores escores de sedação, diferindo-se significativamente da dexmedetomidina isolada, em T1, T2 e T3. No grupo GD, o maior escore de sedação foi observado em T4 e para o grupo GDM foi em T3, diferindo-se de T0 (TABELA 1, FIGURA 2). Este resultado corrobora com o descrito por Grint *et al.*, (2009) em que a associação de meperidina promoveu maiores escores de sedação em comparação ao uso isolado da dexmedetomidina.

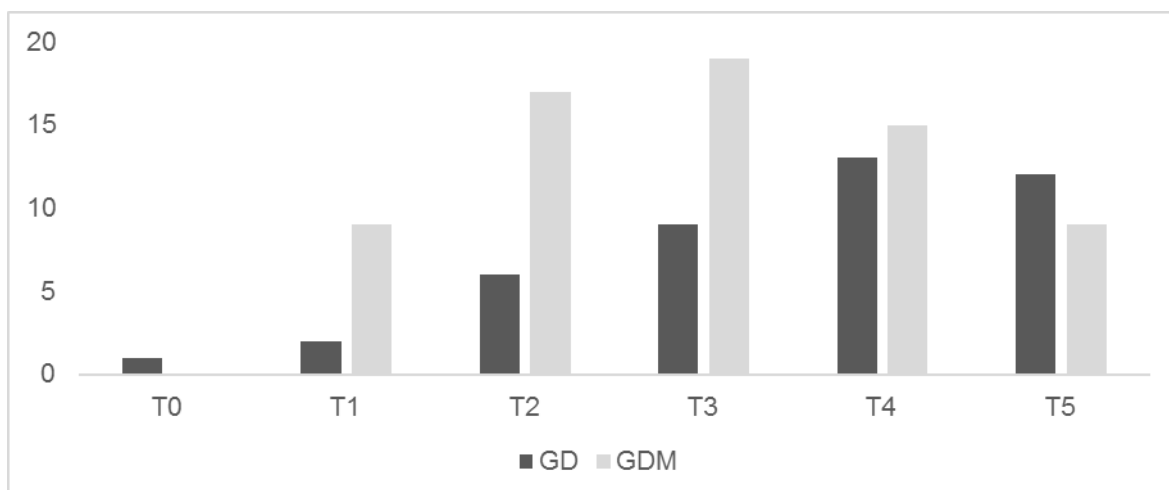


Figura 2: Escores de sedação segundo Grint *et al.*, 2009, de cães sedados com dexmedetomidina isolada (GD) ou associada a meperidina (GDM).

Cinco minutos após a administração intramuscular de dexmedetomidina são observados sinais de sedação, com pico de sedação variando de 10-40 minutos, corroborando com o descrito por Rankin (2017) que descreve o mesmo tempo para o pico de sedação com este alfa-2 agonista em cães.

Além disso, com os resultados obtidos neste estudo, pode-se afirmar que os animais que receberam dexmedetomidina associada à meperidina (GDM) apresentaram maior grau de sedação, menores efeitos indesejáveis, tais como bradicardia, bradpneia, hipotermia, além de potencializar os efeitos sedativos do agonista alfa-2 adrenérgico, como já descrito anteriormente por Spaulding (1979).

5- CONCLUSÃO

Conclui-se, por meio deste estudo, que a dexmedetomidina, na dose de 5µ/kg, associada à meperidina na dose de 5mg/kg, por via intramuscular, promove maior sedação, com maior estabilidade da frequência cardíaca, respiratória e temperatura corporal em comparação ao uso isolado de dexmedetomidina na dose de 5µ/kg intramuscular, em cães submetidos a cirurgias eletivas. Novos estudos são necessários avaliando-se os efeitos destes fármacos sobre a eletrofisiologia cardíaca e pressão arterial, bem como em associação a anestésicos gerais.

6. REFERÊNCIAS

AANTAA, R.; KALLIO, A.; VIRTANEN, R. - Dexmedetomidine, a novel alfa2 -adrenergic /agonist. A review of its pharmacodynamic characteristics. **Drugs of the Future.**; 18:49-56, 1993.

ALVES, T. C. A.; BRAZ, J. R. C.; VIANNA, P. T. G. - Alfa2-agonistas em Anestesiologia: aspectos clínicos e farmacológicos. **Rev Bras Anesthesiol**, 50: 5: 396 – 404, 2000.

BHANA, N.; GOA, K.; MCCLELLAN, K. J. Dexmedetomidine. **Drugs**, Sydney, v.59, n.2, p.263-268, 2000.

CAMPAGNOL, D.; Efeitos da administração epidural de dexmedetomidina sobre a concentração alveolar mínima do isofluorano em cães. **Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**, Campus Botucatu, 2007.

DOZE, V.; CHEN, B. X.; LI, Z.; MAZE, M. Pharmacologic Characterization of the Receptor Mediating the Hypnotic Action of Dexmedetomidine. **Acta Vet Scand Suppl**; 85: 61-4, 1989.

DOZE, V.; CHEN, B. X.; MAZE, M. Dexmedetomidine produces a hypnotic-anesthetic action in rats via activation of alfa2-adrenoceptors. **Anesthesiology**, 71: 75-9, 1989.

DUPRAS, J.; VACHON, P.; CUVELLIEZ, S. & BLAIS D. Anesthésie du lapin de NouvelleZélande utilisant les combinaisons tilétamine-zolazépam et kétamine-midazolam avec ou sans xylazine. **Canadian Veterinary Journal**. 42:455-460, 2001.

DYCK, J. B.; SHAFER, S. L. - Dexmedetomidine pharmacokinetics and pharmacodynamics. **Stanford Univers School of Medicine**, 1:1-5, 2000.

FANTONI, D.T.; CORTOPASSI, S. R. G. Hipnoanalgésicos. In: Andrade SF. **Manual de terapêutica veterinária**. 3ª edição. São Paulo: Roca, 2008.

FEITOSA, F. L. F.; **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico** 3ª ed. cap. 4, pg. 54, 2014.

FEITOSA, F. L. F.; **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico** 2ª ed. cap. 4, pg. 71, 2008.

FERREIRA, A. A.; VICENTE, J. B.; QUEIRÓZ, F. L. S. - Clonidina: medicação pré-operatória ideal para cirurgia oftálmica. **Arquivos do Instituto Penido Burnier**, 32:7-10, 1990.

GELTLER, R.; BROWN, H. C.; MITCHELL, D. H.; SILVIUS, M. D. Dexmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent. **Baylor University Medical Center Proceedings**, v. 14, n. 1, p. 13-21, 2001.

GRAHAM, B. A., HAMMOND, D. L.; PROUFIT, H. K. - Synergistic interactions between two 2-adrenoreceptor agonists, dexmedetomidine and ST-91, in two substrains of Sprague-Dawley rats. **Department of Anesthesia and Critical Care, Department of Pharmacology**, Pain, 2000.

GRINT, N. J.; BURFORD, J.; DUGDALE, A. H. A. Does pethidine affect the cardiovascular and sedative effects of dexmedetomidine in dogs? **Journal of Small Animal Practice**, v. 50, n. 2, p. 62-66, 2009.

GRINT, N. J.; MURISON, P. J. Peri-operative body temperatures in isofluoraneanaesthetized rabbits following ketamine-midazolam or ketamine-medetomidine. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**. 34:181-189, 2007.

HAYASHI, Y.; MAZE, M. - Alpha-2 adrenoreceptor agonist and anesthesia. **Br J Anaesth**, 71:108-118, 1993.

ILKIW, J. E. Balanced anesthetic techniques in dogs and cats. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v.14, p. 27-37, 1999.

JONGE, A.; TIMMERMANS, P. B.; VAN, Z. P. A. - Participation of cardiac presynaptic alfa2-adrenoreceptors in the bradycardic effects of clonidine and analogues. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**. 137:8-12, 1981.

KAMIBAYASHI, T.; HAYASHI, Y.; MAMMOTO, T.; YAMATODANI, A.; SUMIKAWA, K. - Role of the vagus nerve in the antidysrhythmic effect of dexmedetomidine on Halothane /epinephrine dysrhythmias in dogs. **Anesthesiology**, 83: 992-9, 1995.

KAMIBAYASHI, T.; MAMMOTO, T.; HAYASHI, Y.; YAMATODANI, A.; TAKADA, K.; SASAKI, S.; YOSHIYA, I. - Further characterization of the receptor mechanism involved in the antidysrhythmic effect of dexmedetomidine on halothane/epinephrine dysrhythmias in dogs. **Anesthesiology**, 83: 1082-9, 1995.

KHAN, Z. P.; FERGUSON, C. N.; JONES, R. M. - Alpha-2 and imidazoline receptor agonists. Their pharmacology and therapeutic role. **Anesthesia**, 54:146-165, 1999.

KUKANICH, B.; WIESE, A. J.; Anestesiologia e Analgesia em Veterinária: **Opioides** 5ª ed. cap. 11, pg. 205, 2017.

LUNA, S. P. L.; COSTA, M.; CASSU, R. N. Depressores do Sistema Nervoso Central - **Farmacologia veterinária**, 1ª edição, cap. 2. pg. 117, 2012.

LUNA, S. P. L.; COSTA, M.; CASSU, R. N. Depressores do Sistema Nervoso Central – **Farmacologia Veterinária**- 1ª edição, cap. 2, pg. 118, 2012.

MUIR, W. W. III. Balanced anaesthesia: new emphasis on na old idea. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.21, p.9-11, 1994.

MUIR, W. W.; WERNER, L. L.; HAMLIN, R. L. - Effects of xylazine and acetylpromazine upon induced ventricular fibrillation in dogs anesthetized with thiamylal and halothane. **Am J Vet Res**, 36: 1299-303, 1975.

MURRELL, J. C. Pre-anaesthetic medication and sedation. In: Duke-Novakovski T, de Vries M, Seymour C, editors. **BSAVA manual of canine and feline anaesthesia and analgesia**. Quedgeley: British Small Animal Veterinary Association; p. 170–89, 2016.

NASCIMENTO JR, P. Uso de dexmedetomidina em anestesiologia. **Rev Bras Anesthesiol**, v.53, n.1, p.97-113, 2003.

NELSON, L. E.; YOU, T.; MAZE, M. – Evidence that the mechanism of hypnotic action in dexmedetomidine and muscimol-induced anesthesia converges on the endogenous sleep pathway. **Anesthesiology**. 95: A 1368, 2001.

OTERO, A. R. DOS S.; BARBOSA, V. F.; CARNEIRO, R. L.; MARTINS FILHO, E. F.; DE AZEVEDO, M. C.; SANTOS, B. C. P.; GORDILHO FILHO, A. DE O. & DA COSTA NETO, J. M. Avaliação da infusão contínua de dexmedetomidina ou dexmedetomidina-midazolam sobre variáveis cardiorrespiratórias e qualidade da recuperação anestésica, em cadelas submetidas à ovariosalpingohisterectomia. **Rev. Bras. Med. Vet.**, 38(2):168-174, 2016.

PICIOLO, A.; MARTINI, M. V.; MINERVINO, A. H. H.; DIAS, L. G. G. G., & JUNIOR, E. M. Uso da acepromazina, dexmedetomidina e xilazina na sedação em cães: alterações hematológicas e bioquímicas. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, 20(1), 13-19, 2013.

PRIANO, L. L.; VATNER, S. F. Generalized cardiovascular and regional hemodynamic effects of meperidine in conscious dogs. **Anesthesia and analgesia**, v. 60, n. 9, p. 649-654, 1981.

RANKIN, D. C.; GRIMM, K. A.; LAMONT, L. A.; TRANQUILLI, W. J.; GREENE, S. A.; ROBERTSON, S. A. Sedativos e tranquilizantes In: **Lum & Jones Anestesiologia e Analgesia em Veterinária**. 5ª ed. cap. 10, pg. 192-195, 2017.

RASSY, F. B. Contenção química com dexmedetomidina associada à cetamina em quatis (*Nasua nasua*) e a reversão dos efeitos sedativos pela iombina e o atipamezol. **Dissertação apresentada à faculdade de medicina veterinária e zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu**, 2010.

SINCLAIR, M. D.; O'GRADY, M. R.; KERR, C. L.; NCDONELL, W. N. - The Echocardiographic Effects Of Romifidine In Dogs With And Without Prior Or Concurrent Administration Of Glycopyrrolate. **Vet Anaesth Analg**, 30: 211-9, 2003.

SPAULDING, T. C.; FIELDING, S.; VENAFRO, J. J. - Antinociceptive activity of clonidine and its potentiation of morphine analgesia. **Eur J Pharmacol**,;58:19-25, 1979.

STEAGALL, P. V. M.; LUNA, S. P. L.; Opioides, **Farmacologia Veterinária**, 1ª edição, Cap 3, pg. 124, 131, 2012.

STEAGALL, P. V. N.; LUNA, A. P. L.; Opióides - **Farmacologia Veterinária**, 1ª edição cap. 3, pg 131, 2012.

TALKE, P. The Hemodynamic and adrenergic effects of perioperative dexmedetomidine infusion after vascular surgery. **Anest. Analg**, v. 90, p. 834-839, apud VILLELA, N.R.; 54, 2000.

TRANQUILLI, W. J.; GRIMM, K. A.; GREENE, S. A.; ROBERTSON, S. A. - Introduction: Use, Definitions, History, Concepts, Classification, and Considerations for

Anesthesia and Analgesia In: **Lumb & Jones Veterinary Anesthesia and Analgesia**. Iowa: Blacwell Pub, 5 ed cap.1, p.3., 2017.

VAINIO, O.; VAHA-VAHE, T.; PALMU, L. Sedative and analgesic effects of medetomidine in dogs. **J Vet Pharmacol Ther.**12:225–31,1989.

VILLELA, N. R. & NASCIMENTO JR. P. Uso de Dexmedetomidina em Anestesiologia. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, 53:97-113, 2003.

WAGNER, M. C.; HECKER, K. G.; PANG, D. S. J. Sedation levels in dogs: a validation study. **BMC veterinary research**, v. 13, n. 1, p. 110, 2017.

YOUNG, L. E.; BREARLEY, J. C.; RICHARDS, D. L. S.; BARTRAM, D. H.; JONES, R. S. Medetomidine as a premedicant in dogs and its reversal by atipamezole. **J Small Anim Pract.**;31:554–9, 1990.

EFICÁCIA TERAPÊUTICA DA *Geissospermum vellosii* NO CONTROLE DE *Rhipicephalus microplus* **IN VITRO**

Acadêmicas: Jamile Alves de Assis e Janaína Karen Lúcia de Souza
Orientador: Rogério Oliva Carvalho

RESUMO

O *Rhipicephalus microplus* gera grandes prejuízos na bovinocultura, desde danos ao couro até transmissão de doenças como *anaplasmose* e *babesiose*. O uso incorreto de acaricidas químicos ocasionou o desenvolvimento de resistência nesses ectoparasitas, por isso, esse estudo tem como objetivo analisar a eficácia da *Geissospermum vellosii*, através do extrato alcoólico da sua casca nas concentrações de 5% e 10%, juntamente com o grupo controle sobre o *R. microplus*. Foram realizados testes *in vitro* com grupos de teleóginas livres de acaricida por no mínimo 30 dias. Após os testes foi observada uma redução no peso dos ovos de 18,60% e 29,82% nos grupos tratados com extrato a 5% e 10% em relação ao grupo controle, a análise do percentual de eclosão o grupo tratado com extrato a 10% apresentou melhores resultados em relação ao 5%. Na produção de ovos os grupos tratados com o extrato a 5% e 10% apresentaram porcentagem de 40,4% e 34,8% e o controle 49,1%. Já ao compararmos a eficiência reprodutiva, obteve-se uma redução em relação ao grupo controle. No Percentual de controle obtiveram-se melhores resultados no grupo tratado a 10% apresentando o percentual de 65,4% enquanto o grupo tratado a 5% obteve-se 46,8%.

PALAVRAS-CHAVE: Carrapatos, bovinos, alcaloide, pau-pereira, acaricidas.

1. INTRODUÇÃO

O *Rhipicephalus microplus* é uma das principais espécies de carrapatos que acometem bovinos, onde possui quatro estágios de desenvolvimento sendo eles: ovo, larva, pupa e adulto. O ciclo desse ectoparasita ocorre todo em um mesmo hospedeiro, podendo promover desconforto e sendo um importante vetor na transmissão de *Babesia bigemina*, *Borrelia theileri* e *Anaplasma marginale* na América do Sul (TAYLOR *et al.*, 2010), a transmissão desses agentes pode ocorrer em todos os estágios parasitários do carrapato (CAMPOS *et al.*, 2012).

Os ectoparasitas são conhecidos por causar grandes perdas econômicas na produção de leite, carne e danos ao animal como transmissão de doenças, reações alérgicas e até descarte de carcaças por contaminação (CASTRO *et al.*, 2011).

Com intuito de diminuir a propagação desses carrapatos os produtores realizam o uso indiscriminado de acaricidas, o que acarreta uma perda econômica pelos gastos com aquisição de produtos (SANTOS, 2015), intoxicação dos animais e aplicadores,

poluição ambiental, e resíduos dos acaricidas nos produtos de origem animal como leite e carne (CAMPOS *et al.*, 2012) sendo que muitas vezes não são eficazes, pois, os parasitas adquiriram uma grande resistência, tornando necessária a procura por meios alternativos de controle, através de plantas medicinais com potencial biocida (SANTOS, 2015).

Além dos acaricidas outras formas são utilizadas para o controle dos carrapatos, como rotação de pastagens, produtos homeopáticos e vacinas, sendo que esta última ainda está sendo desenvolvida (CAMPOS *et al.*, 2012).

A árvore Pau-pereira (*Geissospermum vellosii*) pertence à família das apocináceas, e pode ser encontrada no estado de Minas Gerais e Rio de Janeiro. Seu nome é de origem indígena, tendo como significado casca preciosa. É conhecida de diferentes formas de acordo com cada região, por exemplo: tinguaba, canudo-amarguroso. Alguns nomes fazem jus à casca, pois possui um sabor extremamente amargo (SANTOS *et al.*, 2012).

O princípio ativo extraído da casca da árvore *G. vellosii* é chamado pereirina que é utilizado como fitoterápico em humanos na medicina popular, com várias ações fisiológicas, entre elas, atuar sobre a temperatura o que justifica seu uso no tratamento de diversas febres (ALMEIDA *et al.*, 2009).

A casca do caule da *G. vellosii* é rica em alcalóides com intensa atividade antiacetilcolinesterásica (LIMA *et al.*, 2009). Alguns carrapaticidas também se ligam a acetilcolinesterase, causando hiperexcitabilidade, paralisia espástica e morte destes parasitas (SPINOSA *et al.*, 2011).

Este trabalho tem como objetivo avaliar a eficácia acaricida da *Geissospermum vellosii* no controle de *Rhipicephalus microplus* *in vitro*, tendo como principais princípios ativos a pereirina e a geissospermina, alcaloides extraídos das cascas da árvore conhecida popularmente como Pau-pereira.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Bovinocultura brasileira

O rebanho brasileiro tem mostrado aumento nos últimos anos. Esse acréscimo se deve aos avanços proporcionados pela tecnologia, em relação à genética, nutrição, manejo e outros fatores (GOMES *et al.*, 2017). A densidade animal média de bovinos,

que na década de 40 era menor que 0,4 UA/ha/ano, passou para 0,8 UA/ha/ano no final da década de 80 (GODOI *et al.*, 2009).

Atualmente o Brasil se destaca como o maior exportador do mundo em carne bovina, possuindo o segundo maior proprietário do rebanho existente, com 205,3 milhões de animais. Destaca-se também na produção leiteira nacional, com aproximadamente 29,1 bilhões de litros em 2009 (CRUZ, 2013).

O sucesso na produção dos bovinos pode ser afetado por ectoparasitas que irão ocasionar inúmeros danos aos animais, gerando estresse e comprometendo o ganho de peso e crescimento (AZEVEDO *et al.*, 2008). O *R. microplus* acarreta vários prejuízos à pecuária brasileira. A presença do carrapato nas propriedades é um problema antigo, e pode ser encontrado na maioria das regiões brasileiras (CAMERA *et al.*, 2005). A utilização de pastos formados por *Brachiaria spp.* favorece a multiplicação e sobrevivência dos carrapatos (SANTOS JUNIOR *et al.*, 2000).

O clima tropical na maioria das regiões brasileiras propicia a multiplicação e sobrevivência dos carrapatos. No entanto, no período de seca severa a sobrevivência do carrapato pode ficar limitada, podendo ir até a completa paralisação na incubação, postura, e até mesmo o fracasso desses estágios (GODOI *et al.*, 2009).

Os ectoparasitas têm se destacado como um fator limitante para o desenvolvimento dos animais devido a sua ação espoliadora, mecânica e tóxica (CARDOSO *et al.*, 2014).

2.2. Ectoparasita

O *R. microplus* pertence à classe Arachnida, subclasse Acari, ordem Parasitiformes, subordem Ixodida pertencente a família Ixodidae. Membros dessa família possuem um escudo ou scutum, que cobre toda superfície dorsal do macho e apenas parte da superfície dorsal da fêmea (BOWMAN, 2010). Eles possuem apenas um único estágio larvário hexápode e um estágio ninfal octópode que evolui para o estágio adulto reprodutivo. O *R. microplus* é classificado como carrapato de um único hospedeiro, pois permanece toda sua vida fixado no mesmo hospedeiro desde larva até adulto. Fêmeas ingurgitadas deixam o hospedeiro e depositam em média de 2.000 a 4.500 ovos em um período de 4 a 44 dias, após a postura as fêmeas morrem, as larvas eclodem do ovo após 14 a 146 dias (TAYLOR *et al.*, 2010).

A fase não parasitária sofre grande influência das condições ambientais tornando mais rápido o ciclo, conforme o aumento da temperatura ambiente (SANTOS, 2015).

É um dos ectoparasitas de maior importância para a bovinocultura nacional devido à sua ampla distribuição geográfica em todo território brasileiro (SOUZA *et al.*, 2008).

2.3. Perdas ocasionadas pelos ectoparasitas

A infestação por carrapatos é um fator limitante para o desempenho dos animais, em consequência de suas ações espoliadora, mecânica e tóxica (CARDOSO *et al.*, 2014). Causando prejuízos econômicos diretos, decorrentes da diminuição do desempenho pelo hematofagismo e desvalorização do couro dos animais (SANTOS *et al.*, 2015).

As perdas são agravadas pela transmissão dos hemoparasitos *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale*, causadores da tristeza parasitária bovina, e pelos altos gastos com tratamentos que, muitas vezes, tornam-se ineficazes (SANTOS *et al.*, 2015). Acarretando também prejuízos ao produtor com aquisição de carrapaticidas e equipamentos para aplicação dos mesmo no rebanho, despesas com instalações e mão-de-obra adequada, o que muitas vezes leva a contaminação da carne, do leite e do ambiente (ANDREOTTI, 2010).

A transmissão de doenças causadas pelo carrapato pode ocorrer em todos os estágios parasitários, podendo também propagar para gerações seguintes de carrapatos, devido aos microrganismos transmissores atravessarem a barreira transovariana (TAYLOR *et al.*, 2010).

A irritação provocada pelos carrapatos impede que os bovinos pastem normalmente, levando a diminuição na taxa diária de conversão do alimento em carne e/ou leite. A inoculação da saliva do carrapato na pele dos bovinos desencadeia uma reação alérgica, ocorrendo liberação de grande quantidade de histamina, principal responsável pela irritação (SANTOS, 2015).

Anualmente são gastos aproximadamente 800 milhões com fármacos para o controle desses parasitas no Brasil (MENDES, 2005). A falta de um programa em vigor para o controle do carrapato faz com que os produtores decidam como será realizado o esquema para resolução da infestação (ANDREOTTI, 2010).

2.4. Controle dos ectoparasitas

O controle consiste em impedir o desenvolvimento das fêmeas ingurgitadas, limitando a deposição de grande quantidade de ovos (TAYLOR *et al.*, 2010). O uso de acaricidas passou a ser realizado de forma sistemática a partir do uso do arsênico no controle de carrapatos em bovinos no ano de 1896 que, a partir de 1910, foi liberado nos Estados Unidos criando um mercado internacional para esse produto (ANDREOTTI, 2010).

Os acaricidas também podem ser classificados por sua via de ação, podendo ser por contato, quando o produto é aplicado por meio de pulverização, imersão ou “pour on”. Sistêmicos, quando o princípio ativo que atua na circulação sanguínea é metabolizado e distribuído por todo o corpo, sendo aplicado por meio de injeções. Os acaricidas utilizados no Brasil são classificados em sete grupos distintos, sendo eles: organofosforados, amidinas, piretroides, fipronil, thiazolina, lactonas macrocíclicas, fluazuron, cada um atuando de formas diferentes contra o carrapato (ANDREOTTI, 2010).

As vacinas utilizadas para o controle do carrapato possuem pelo menos dois tipos de correntes para sua fabricação, podendo ser uma delas produzida através de antígenos presentes nas glândulas salivares e no aparelho bucal do carrapato, sendo classificada como antígenos expostos e a outra através de antígenos não expostos ao hospedeiro que são produzidos através de células intestinais do carrapato, que são classificados como antígenos ocultos (MEDEIROS, 2008).

A resistência do carrapato aos princípios químicos dos acaricidas convencionais está cada vez maior, principalmente da classe dos piretróides devido a dosagens empregadas serem bem maior que o recomendado (ALVES *et al.*, 2012).

Cada classe de acaricidas age de formas diferentes sobre o carrapato os organofosforados irão inibir a enzima acetilcolinesterase, aumentando acetilcolina em níveis tóxicos para os carrapatos, já as amidinas inibem a monoamina oxidase que são importantes para o metabolismo do mesmo, os piretróides são menos tóxicos aos mamíferos quando comparados aos organofosforados (ANDREOTTI, 2010). O fipronil atua sobre o sistema nervoso dos carrapatos, provocando paralisia. A thiazolina é utilizada maioria das vezes associada a um piretróide, as lactonas macrocíclicas atuam bloqueando a transmissão dos impulsos nervosos no carrapato,

levando à morte por paralisia (FURLONG, 2000), e o fluazuron irá interferir na produção de quitina, afetando o crescimento e reprodução dos carrapatos (ANDREOTTI, 2010).

O uso constante de acaricidas e de forma errônea tem resultado em desenvolvimento de alelos resistentes nas populações de carrapatos, além de causar intoxicação dos animais e impacto ambiental pelo efeito residual deles na natureza. Visando contornar a resistência e tendo em vista a alta demanda dos consumidores por carne e leite sem resíduos químicos e a procura por produtos seguros para o meio ambiente, está ocorrendo um aumento significativo na procura por pesticidas botânicos (SOUZA *et al.*, 2012).

2.5 Plantas utilizadas como acaricidas

O emprego de plantas com atividade inseticida e carrapaticida favorece o produtor, pelo menor custo, facilidade de utilização, não havendo necessidade de pessoal especializado, e pelo fato de não afetar o meio ambiente. Além disso, as plantas podem ser cultivadas nas propriedades facilitando sua utilização (CAMPOS *et al.*, 2012).

No Brasil é feito por vários anos uso do extrato de plantas com potencial acaricida sobre os ectoparasitas, que possui mais de 55.000 espécies de plantas, o Brasil é conhecido como um país de grande biodiversidade, o que facilita a utilização dessas plantas para o produtor tendo poucos efeitos negativos (ALVES *et al.*, 2012).

As formas alternativas no controle dos ectoparasitas visam os produtos de origem natural protegendo assim os princípios da agroecologia e procurando maneiras mais sustentáveis e de fácil acesso, recorrendo em grande parte ao uso de extratos vegetais, que deixam baixos efeitos residuais diminuindo a contaminação nos produtos de origem animal, com menos agressividade ao homem e o meio ambiente e levando uma maior qualidade aos produtos (SOUZA JUNIOR *et al.*, 2015).

Várias são as plantas que possuem potencial acaricida, podendo citar como exemplo a citronela (*Cymbopogon nardus*), nim (*Azadirachta indica*), andiroba (*Carapa guianensis*), fumo (*Nicotiana tabacum*), capim limão (*Cymbopogon citratus*), eucalipto (*Eucalyptus* spp. e *Corymbia citriodora*) (ALVES *et al.*, 2012).

Pesticidas botânicos possuem várias formas de utilização, tais como: produto in natura, pó, extração aquosa ou alcoólica, entre outras. A utilização de acaricidas

naturais é vantajosa ao produtor, com degradação de forma rápida que não causa danos ao meio ambiente, os ectoparasitas demoram maior tempo a desenvolver uma resistência sobre os compostos utilizados, muitas das vezes é feita a associação de dois compostos, possui fácil aquisição e não deixa resíduos na carne, leite e no ambiente (CAMPOS *et al.*, 2012).

O uso de acaricidas botânicos tem sido empregado em várias fazendas, porém, no Brasil ainda são poucos os estudos feitos para comprovar a sua eficácia e o princípio ativo de cada planta, o que acarreta um grande prejuízo econômico devido à resistência do carrapato aos acaricidas químicos que são comercializados (ALVES *et al.*, 2012).

2.6. *Geissospermum vellosii* (Pau-pereira)

A espécie *Geissospermum vellosii* da família Apocynaceae, pertencente ao gênero *Geissospermum*, conhecida como Pau-Pereira, tem seu uso popular em problemas digestivos, tonturas, prisão de ventre, febres além da indicação como antimalárica, antipirética e tônica. Dentre seus metabólitos secundários destacam-se os alcaloides. O gênero *Geissospermum* é rico em alcaloides de núcleo indólico os quais, provavelmente agem nos sistemas neurotransmissores opiáceos, GABAérgicos, colinérgicos, muscarínicos, serotoninérgicos e dopaminérgicos (DIAS, 2012).

O princípio ativo da casca do Pau-pereira é descrito como um alcaloide denominando pereirina. O Pau-pereira era utilizado pelos indígenas nos tratamentos de enfermidades e também para construção e fabricação de cabos de ferramentas agrícolas (ALMEIDA *et al.*, 2009).

O *G. vellosii* pode ser encontrado nas regiões Norte (Amapá, Pará, Amazonas), Nordeste (Maranhão, Bahia), Centro-Oeste (Distrito Federal) e Sudeste (Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro) (DIAS, 2012).

De acordo com cada região recebe inúmeras denominações como Tinguaba, Canudo amarguroso e Chapéu-de-sol. A origem do nome Pau-pereira é indígena, tendo como significado casca preciosa (SANTOS, 2012).

Segundo a cultura popular a planta possui propriedades que agem contra o carrapato, e por isso, é utilizada como método alternativo no controle de ectoparasitas.

3. METODOLOGIA

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

Após a coleta das cascas da *G. vellosi* foi realizada a secagem em estufa a 40-45°C, durante 48 horas e, em seguida, ocorreu a trituração para obtenção de pó fino, o qual foi imerso em álcool etílico hidratado 70% na proporção de 1 parte de pó para 3 partes do solvente, durante 48 horas. Após esse período, foi feita a filtragem e a evaporação do solvente em banho-maria na temperatura de 45°C até eliminação total do solvente.

Para preparação das soluções 5g e 10g do extrato concentrado da casca da *G. vellosi* foram diluídos em 100 mL de água destilada estéril, resultando em duas soluções com concentrações finais de 5% (50mg/mL) e 10% (100mg/mL) (FIGURA 1B).

As fêmeas ingurgitadas (teleóginas) de *R. (B.) microplus* foram coletadas na fazenda Juarez Franco, localizada na cidade de Entre Folhas (MG). A coleta foi realizada em animais isentos de carrapaticida químico de por pelo menos 30 dias, tendo-se o cuidado de separar fêmeas maiores que 5mm em comprimento. As fêmeas ingurgitadas coletadas foram acondicionadas em placas de Petri e levadas ao laboratório em caixa térmica, contendo gelo para evitar oviposição prematura e reduzir a mobilidade do parasito dentro das placas. Posteriormente, foram pesadas em balança analítica, com precisão de 0,001g.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dois grupos de tratamento e um controle com três repetições por grupo, considerando-se dez fêmeas ingurgitadas por repetição. Os grupos de fêmeas foram pesados no início do experimento (FIGURA 1A).

O grupo controle (Grupo C) é representado por fêmeas isentas de quaisquer tratamentos (imersas em água). Os tratamentos foram compostos pelas diluições do extrato da casca de *G. vellosi* nas concentrações de 5% (Grupo A) e 10% (Grupo B), formando assim soluções de 100 mL, nas quais as 30 fêmeas de cada grupo foram imersas durante 5 minutos, secas em papel toalha e depositadas em placas de petri, sendo incubados a 28°C e umidade acima de 80% (FIGURA 1C). Após 16 dias os ovos foram separados, pesados (FIGURA 1D) e divididos em grupos de 0,10mg, (cerca de 270 ovos) com seis repetições para cada tratamento.

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

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).

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

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

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

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

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

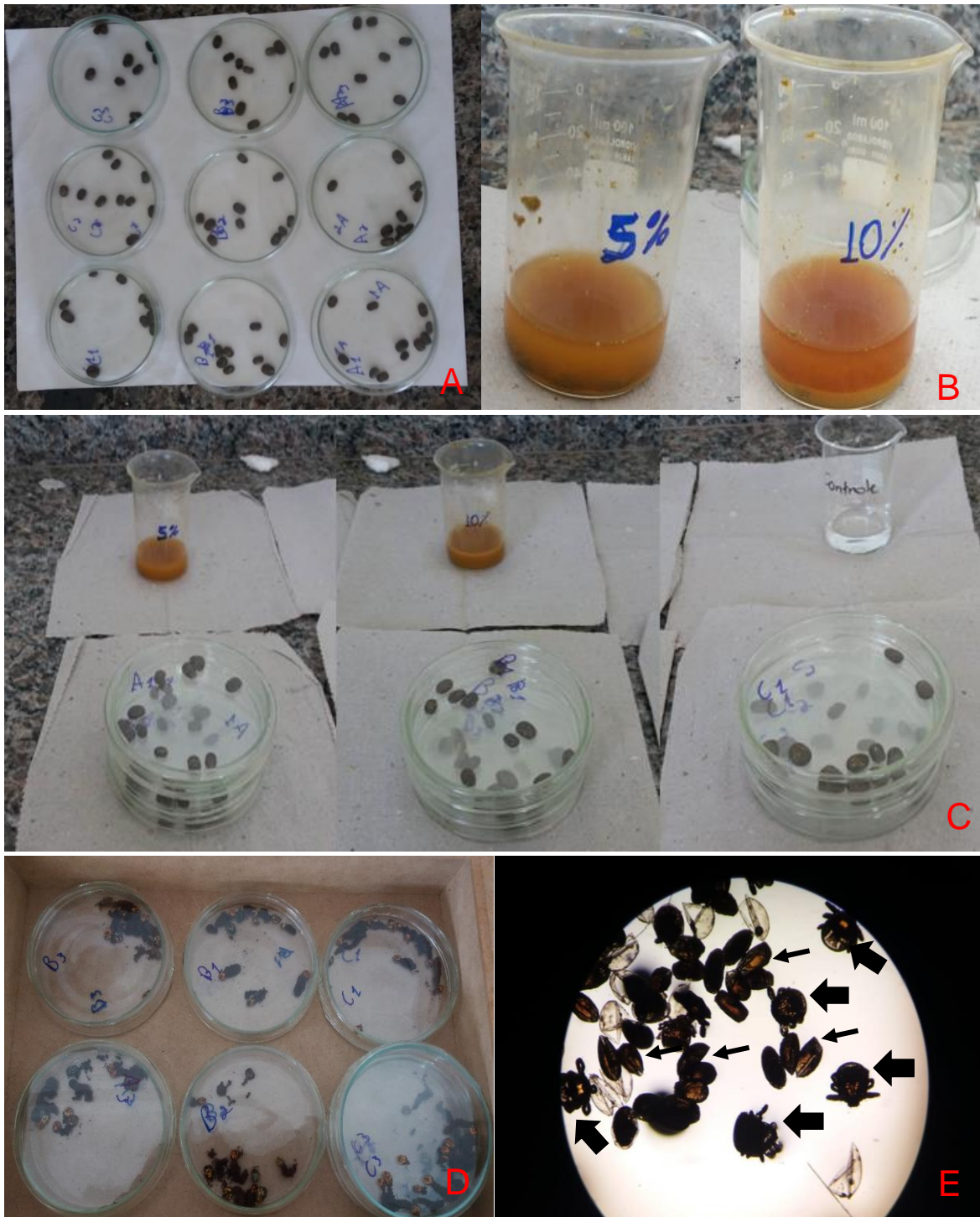


Figura 1- A: Fêmeas acondicionadas em placa de petri; B: Extrato da casca da *Geissospermum vellosii* nas concentrações de 5% e 10%; C: Início do delineamento experimental com o uso do extrato da planta a 5% e 10% e grupo controle; D: Fêmeas após 16 dias incubadas; E: determinação da porcentagem de ovos (seta fina) e larvas (seta grossa).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Não foram encontrados na literatura estudos nos quais tenha sido utilizado o extrato da *Geissospermum vellosii* no controle de *Rhipicephalus microplus* ou de outros ectoparasitas, por isso, optou-se por realizar a discussão através de estudos parecidos utilizando diversos tipos de plantas e seu princípio ativo sobre o *R. microplus*.

Inicialmente foi realizada a imersão das teleóginas no extrato da casca e logo após foram armazenadas, após 16 dias de incubação na pesagem foi constatada uma redução no peso dos ovos de 18,60 e 29,82% nos grupos tratados com extrato da casca da *G. vellosii* nas concentrações de 5% e 10%, respectivamente, quando comparados com o grupo controle (TABELA 1). Sendo que a média do peso de ovos dos grupos tratados com extrato da casca de *G. vellosii* a 5% e 10% diferiram significativamente do grupo controle ($p < 0,05$), indicando que o extrato desta planta tem propriedades capazes de inibir a postura das teleóginas do *R. microplus*.

Segundo Almança *et al.*, (2013) em sua pesquisa sobre a eficácia *in vitro* de *Chenopodium ambrosioides* (Erva de Santa Maria) sobre teleóginas de *R. microplus*, foi observado uma redução do peso médio dos ovos após a imersão no extrato hidroetanólico a 25%, obtendo o peso de 0,683g, enquanto que as fêmeas imersas em água produziram 0,982g de ovos.

Micheletti *et al.*, (2009) pesquisando sobre extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus microplus* relata que o extrato da semente de *Annona muricata L.* (Graviola) a 2% provocou redução do número total de posturas de 26,00 para 2,0 e no peso médio dos ovos de 0,53g para 0,03g.

Tabela 1- Média do peso das fêmeas ingurgitadas (PFI), média do peso de ovos postos pelas fêmeas (PO), índice de produção de ovos (IPO), percentual de eclosão dos ovos (%E) índice de eficiência reprodutiva (IER) e percentual de controle (%C), do grupo controle (C) e grupos tratados com extrato da casca de *G. vellosii* (A, B) a 5 e 10%. Valores seguidos por letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente ($p > 0,05$).

	PFI (g)	PO (g)	IPO (%)	%E	IER	%C
Grupo A	2,22±0,02 ^a	0,897±0,011 ^a	40,405	42 ^a	344400	46,8
Grupo B	2,22±0,01 ^a	0,773±0,043 ^a	34,820	32 ^a	224000	65,4
Grupo C	2,24±0,01 ^a	1,102±0,115 ^b	49,196	66 ^b	646800	--

Quando analisamos o índice de produção de ovos é possível observar uma redução nos grupos tratados com extrato da casca da *G. vellosi* em relação ao grupo controle, tendo o grupo tratado com extrato a 10% apresentando melhores resultados (TABELA 1).

Pires (2016) avaliando *Geissospermum velosii* sobre *R. microplus* obteve um índice de produção de ovos no grupo tratado com extrato a 1% de 28,30% enquanto que no grupo tratado a 2% foi de 25,65%.

Segundo Pivoto *et al.*, (2010) em seu experimento com *Tropaeolum majus* (capuchinha) sob teleóginas de *Rhipicephalus microplus*, ao utilizar o extrato das partes aéreas de *T. majus* a 2% em etanol a 70% o mesmo apresentou uma eficácia de 50% na inibição da postura das teleóginas.

O percentual de eclosão do grupo tratado na concentração de 5% foi de 42% enquanto que no grupo tratado a 10% foi de 32% em relação ao grupo controle (FIGURA 2), mostrando assim sua eficácia, porém, apresentando resultados inferiores com outras plantas já testadas.

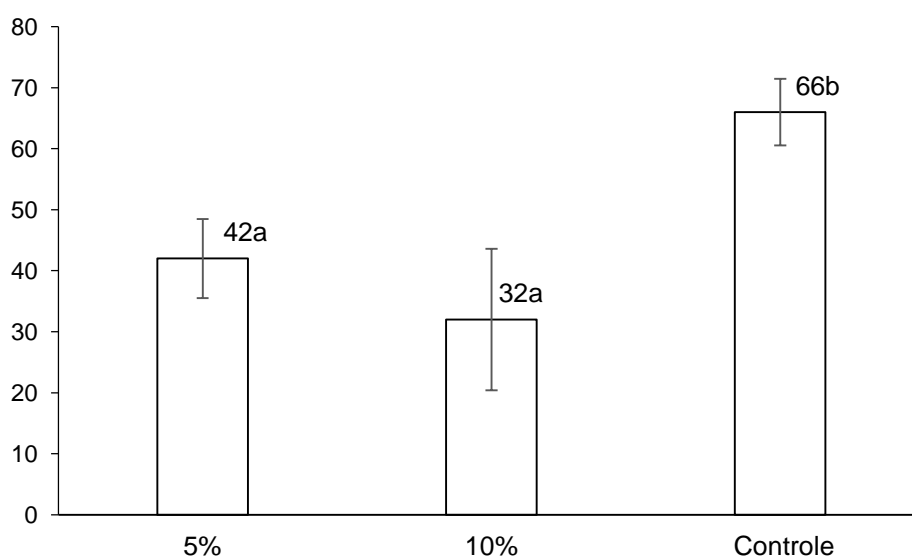


Figura 2- Média e desvio padrão do percentual de eclosão dos ovos dos grupos de tratamento a 5 e 10% e do grupo controle. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$). Teste de Tukey.

Buzzatti *et al.*, (2011) avaliando a atividade acaricida *in vitro* de *Glechon spathulata Benth* (Manjerona-do-campo) sobre teleóginas de *R. microplus* a 2% obteve uma eclodibilidade média de 10%. Já Micheletti *et al.* (2009) testando o extrato alcoólico de Graviola a 2%, constatou a não ocorrência da eclosão larval.

Ao compararmos o índice de eficiência reprodutiva dos grupos tratados e do grupo controle podemos observar que houve uma diminuição do valor nos grupos tratados com o extrato em relação ao de grupo controle (TABELA 1).

A forma sobre a qual determinada substância irá atuar sobre o ixodídeo serve como forma de avaliação da sua eficiência, onde a sua menor ou maior atuação é fator determinante para sobrevivência do ectoparasita, observando se afetará a produção dos ovos da fêmea, podendo ter inibição total ou parcial da sua função, em alguns casos pode levar a morte da mesma antes de ovipor (MERLINI, YAMAMURA., 1998).

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

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

O percentual de controle abrange a eficácia do extrato, apresentando maior eficácia de tratamento para o grupo tratado na concentração a 10% tendo assim um melhor resultado do que o grupo a 5% (TABELA 1). Porém, ainda são abaixo do exigido para uma droga eficaz, de acordo com Brasil (1997) é exigido que uma droga apresente uma eficácia de pelo menos 90% para ser considerada eficiente.

Castro *et al.*, (2009) avaliando *in vitro* o extrato do pinheiro brasileiro para controle do carrapato dos bovinos, observou uma eficácia de 50% no tratamento com o extrato do pinheiro na concentração de 30%.

Santos *et al.*, (2012) testando Extrato de Nim (*Azadirachta indica*) e óleos essenciais de cravo sobre *Rhipicephalus*, obteve com o extrato etanoico de Nim a 50% um percentual de eficácia média de 74,39% sobre fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*.

Buzzatti *et al.*, (2011) avaliando a atividade acaricida *in vitro* de *Glechon spathulata Benth* sobre teleóginas de *R. microplus* a 2% obteve uma eficácia média de 99%.

Micheletti *et al.*, (2009) avaliando o extrato da semente de graviola a 2% obteve eficácia de 100%.

5. CONCLUSÃO

Com base nos resultados deste trabalho, pode-se concluir que o extrato da casca de *Geissospermum vellosii* na concentração de 5% e 10% são capazes de reduzir a produção de ovos pelas teleóginas do *R. microplus*. Porém nas concentrações testadas, sua eficácia não foi tão alta de acordo com o exigido, tornando-se necessário maiores estudos da planta e do seu princípio ativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMANÇA, C.C.J.; POZZATTI, P.N.; CASAGRANDE, F.P.; SILVA FILHO, J.P.; BISSI, B.; BARBOSA, B.C.; PORFÍRIO, L.C. Eficácia *in vitro* de extratos de *Chenopodium ambrosioides* sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Arquivo Instituto de Biologia**, v.80, n.1, p.43-49, 2013.

ALMEIDA, M.R.; LIMA, J.A.; SANTOS, N.P.; PINTO, A.C. Pereirina: o primeiro alcaloide isolado no Brasil? **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Rio de Janeiro, v.19, n.4, p. 942-952, 2009.

ALVES, W.V; LORENZETTI, E.R.; GONÇALVES, F.C., Utilização de acaricidas 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, n.2, p.14-25, 2012.

ANDREOTTI, R. Situação atual da resistência do carrapato-do-boi *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* aos acaricidas no Brasil. **Embrapa Gado de Corte**, Campo Grande, n.180, p.35, 2010.

ARAÚJO, J.Q.; LIMA, J.A.; PINTO, A.C. *et al.* Docking of the alkaloid geissospermine into acetylcholinesterase: a natural scaffold targeting the treatment of Alzheimer's disease **Journal of Molecular Modeling**. v.17, n.1401–1412, 2011.

AYRES, M., AYRES, J.R.M., AYRES, D.L., SANTOS, A.S. **Aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas**, Brasília. 2003.

AZEVEDO, D.M.M.R.; ALVES, A.A.; SALES, R.O. Principais Ecto e Endoparasitas que Acometem Bovinos Leiteiros no Brasil: Uma Revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.2, n.1, p. 43 – 55, 2008.

BOWMAN, D.D. **Georgis – Parasitologia veterinária**. 9ª Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

BRASIL MAPA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO) Portaria nº48, de 12 de maio de 1997 Brasília. Disponível em (<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=72818869>) Acessado em 01 janeiro de 2018.

BUZZATTI, A.; KRAWEZAK, F.S.; PIVOT, F.L.; VOGEL, F.S.F.; BUTTON, S.A.; ZANETTI, G.D.; MANFRON, M.P.; SANGIONI, L.A. Atividade acaricida in vitro de *Glechon spathulata* Benth. sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.10, p.1813-1817, 2011.

CAMPOS, R.N.S.; BACCI, L.; ARAÚJO, A.P.A.; BLANK, A.F.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; SANTOS, G. R. A.; RONER, M. N. B. Óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas no controle do carrapato *Rhipicephalus microplus*. **Archivos de zootecnia**. v.61, p.67-78, 2012.

CAMERA, L.; PINZON, P.; ARALDI, D.F. Principais ectoparasitas responsáveis pelos prejuízos na bovinocultura de corte: Revisão de Literatura. **Anais do XVII Seminário interinstitucional de ensino, pesquisa e extensão**, Unicruz. 2005.

CARDOSO, C.P. SILVA, B.F.; GONÇALVES, D.S.; TAGLIARI, N.J.; SAITO, M.E.; AMARANTE, A.F.T. Resistência contra ectoparasitas em bovinos da raça Crioula Lageana e meio-sangue Angus avaliada em condições naturais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.34, n.2, p.141-146, 2014.

CASTRO, K.N.C.; ISHIKAWA, M.M.; CATTO, J.B.; CASTRO, M.M.; MOTTA, I.S. Avaliação in vitro do extrato do pinheiro brasileiro para controle do carrapato dos Bovinos. *Revista Brasil De Agroecologia*, Vol.4 n.2, p.2575- 2578, 2009.

CASTRO, K.N.C.; COMUNELLO, E.; SOARES, J.P.G.; GABRIEL, A.M.A.; OLIVEIRA, E.R.; NEGRÃO, F.J. Diagnóstico da pecuária leiteira no assentamento Fazenda Nova da Lagoa Grande em Dourados, MS. **PUBVET**, Londrina, v.5, n.30, 2011.

CRUZ, B.C. **Ocorrência de resistência de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) à ivermectina. Administrada em bovinos de São Paulo e Minas Gerais, Brasil**, 2013. 120 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013.

DIAS, J.F.G. **Fitoquímica e ensaios biológicos do extrato bruto etanólico, frações e substâncias isoladas provenientes das cascas de *Geissospermum vellosii* Allemão, (APOCYNACEAE)**. Curitiba, 2012.135 f. Tese. Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

DRUMMOND, R.O.; GLADNEY, W.J.; WHETSTONE, T.M.; ERNEST, S. E., Laboratory testing of insecticides for control of the winter tick. **Journal of Economic Entomology**, v.64, p.686-688, 1971.

FURLONG, J. Resistência dos carrapatos aos acaricidas. **Embrapa Gado de Leite**. Circular Técnica. n. 59, 2000.

GODOI, C.R.; SILVA, E.F.P. Carrapato *Boophilus microplus* e impacto na produção animal I- Revisão de literatura. **PUBVET**, Londrina, v. 3, n. 22, 2009. Disponível em (<http://pubvet.com.br/material/Portilh606.pdf>) Acessado em 31 de outubro 2017.

GOMES, R.C.; FEIJÓ, G.L.D.; CHIARI, L. Evolução e Qualidade da Pecuária Brasileira. Nota Técnica. **Embrapa Gado de Corte**, 2017.

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

MEDEIROS, C.L. **VACINA DE DNA UTILIZANDO GENES SINTÉTICOS DERIVADOS DO PEPTÍDEO. SBm7462 CONTRA O CARRAPATO *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* E AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE EM CAMUNDONGOS Balb/c**, Viçosa, 2008. 81p. Dissertação. Pós-graduação em medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa.

MENDES, M.C. **Resistência do carrapato *Boophilus microplus* aos piretróides e organofosforados e o tratamento carrapaticida em pequenas fazendas**, Campinas 2005, 139 f. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas.

MERLINI, L.S.; YAMAMURA, M.H. Estudo *in vitro* da resistência de *Boophilus microplus* a carrapaticidas na pecuária leiteira do norte do Estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v.19, p.38-43,1998.

MICHELETTI, S.M.F.B.; VALENTE, E.C.N.; SOUZA, L.; DIAS, N. S.; ARAÚJO, A.M.N. Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 18, n. 4, p. 44-48, 2009.

PIRES, L.V.O. **Ação terapêutica da *Geissospermum vellosii* no controle de carrapatos bovinos**. Trabalho de conclusão de curso, Faculdade Vértice – Univértix, 2016.

PIVOT, F.L.; BUZZATTI, A.; KRAWEZAK, F.S.; CAMILLO, G.; SANGIONI, L.A.; ZANETTI, G.D.; MANFRON, M.P.; VOGEL, F.S.F. Ação acaricida *in vitro* de *Tropaeolum majus* sob teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.10, p.2141-2145, 2010.

SANTOS, J.C.B.; FURLONG, J.; DAEMON, E. Controle do Carrapato *Boophilus microplus* (acari: ixodidae) em Sistemas de Produção de Leite da Microrregião Fisiográfica Fluminense do Grande Rio - Rio de Janeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 305-311, 2000.

SANTOS, N.P.; PINTO, A.C. A Mata é sua Farmácia A Pesquisa de Plantas Brasileiras para o Combate de Doenças Tropicais no Século XIX. **Revista Virtual de Química**, v.4, n.2, p. 7-10, 2012.

SANTOS, A.V.; OLIVEIRA, R.A.;ALBUQUERQUE, G.R. EFEITO IN VITRO DO EXTRATO DE NIM (*Azadirachta indica*) E ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO (*Syzygium*

aromaticum) SOBRE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira Medicina Veterinária**, v.34, Supl.2, p.111-115, 2012.

SANTOS, S.F.A. Perfil de produtores de leite em relação ao controle ao carrapato e outras doenças. Nova Odessa, 2015. 110 f. Dissertação. Pós-Graduação do Instituto de Zootecnia, APTA/SAA.

SANTOS, R.B. Avaliação da eficácia de produtos isoterápicos no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.82, p.1-5, 2015.

SOUSA, A.M. **Viabilidade econômica da adoção do controle estratégico do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) em rebanhos bovinos leiteiros.** Juiz de Fora, 2012. 71 f. Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados da Universidade Federal de Juiz de Fora.

SOUZA JUNIOR, J.B.; TEIXEIRA, E.J.R.; RIBEIRO, H.A.B.; LEN, L.S.; MOURO, G.F.F., Utilização de extratos alcoólicos de plantas: Um ensaio como carrapato do boi (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*). **Cadernos de Agroecologia**, v.10, n.3, 2015.

SOUZA, L.A.D.; SOARES, S.F.; PIRES JÚNIOR, H.B.; FERRI, P.H.; BORGES, L.M.F., Avaliação Da Eficácia De Extratos Oleosos De Frutos Verdes E Maduros De Cinamomo (*Melia Azedarach*) Sobre *Rhipicephalus (Boophilus) Microplus* (ACARI: IXODIDAE). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.17, n.1, p.36-40, 2008.

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

TAYLOR, M.A.; COOP, R.L.; WALL, R.L. **Parasitologia Veterinária**. 3ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

INCIDÊNCIA DE INFECÇÃO DE SÍTIO CIRÚRGICO EM HOSPITAL VETERINÁRIO

Acadêmicos: João Lucas Correa de Oliveira e Rayssa Kátia Silva Souza

Orientador: Gustavo Pereira Gonçalves

RESUMO

A Infecção de Sítio Cirúrgico (ISC) é a terceira forma mais comum das Infecções Hospitalares, e apresentam grande importância no aumento da morbidade e mortalidade de pacientes cirúrgicos. Objetivou-se realizar o levantamento de dados dos procedimentos cirúrgicos realizados no Hospital Veterinário da Univértix, relatando a incidência de ISC em pequenos e grandes animais, classificando as mesmas quanto ao potencial de contaminação da ferida cirúrgica e quanto a profundidade da mesma, durante o período de 1 de junho de 2017 a 1 junho de 2018. Foram observadas 76 cirurgias ao todo, sendo identificada uma taxa de 15,76% de ISC. Desse modo, indagou-se a importância da inserção de um bom método de vigilância epidemiológica, sendo sugeridas medidas de prevenção e controle.

PALAVRAS-CHAVE: cirurgia, infecção hospitalar, vigilância epidemiológica, ferida cirúrgica

1. INTRODUÇÃO

As infecções hospitalares (IH), também chamadas de infecções nosocomiais, são descritas pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) como aquelas adquiridas pelo paciente após a hospitalização e que se manifestam durante a internação ou após a alta (FERNANDES *et al.*, 2000. SANTOS *et al.*, 2012). A incidência dessas infecções nos hospitais veterinários ainda não está bem estabelecida, fato que não deve ser ignorado, sabendo-se da grande importância dessas informações na medicina humana (GRIFFITH *et al.*, 2007).

Sendo a terceira forma mais comum de IH, a Infecção de Sítio Cirúrgico (ISC), traz aumentos significantes a mortalidade e morbidade, além do aumento dos custos hospitalares (EUGSTER *et al.*, 2004; SOLOMKIN, 2001). O aumento dos relatos sobre a ocorrência de IH em hospitais veterinários tornou evidente que a padronização de normas referentes ao controle de infecção, já bem estabelecidas na medicina humana, é um componente crítico da qualidade da assistência médica oferecida (MORLEY, 2002; OGEER-GYLES *et al.*, 2006).

O Sistema de Vigilância é representado por um conjunto de informações e estatísticas sobre a ocorrência das IH, determinando a quantidade e o tipo dessas infecções. Assim então, pode-se comparar as taxas de diferentes hospitais, constatar

surtos, observar os fatores contribuintes, avaliar a conduta e os programas de controles adotados à equipe e ao ambiente hospitalar, a fim de diminuir a incidência de IH e evitar seus custos. O programa também avalia auxiliariamente as infecções e a resistência a antimicrobianos, medindo a necessidade de novos programas de vigilância e se estes terão o efeito desejado (BRASIL, 2006).

Objetivou-se com o presente trabalho reunir em estudo coorte, os dados de procedimentos cirúrgicos realizados no Hospital Veterinário da Univértix, dentro do período de 1 de junho de 2017 a 1 de abril de 2018, relatando a incidência de ISC e classificando-a de acordo com sua profundidade.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 INFECÇÕES HOSPITALARES

As IH são definidas pelo *National Nosocomial Infection Surveillance* (NNIS) como uma condição localizada, ou sistêmica ocorrendo em um hospital resultante de uma reação adversa à presença de um agente infeccioso, ou de sua toxina que não estava presente, ou em incubação no tempo de admissão ao hospital (NNIS, 2017).

Para infecções nosocomiais bacterianas, a infecção é evidente em 48 horas após admissão, mas esse tempo pode ser maior para alguns microrganismos. Duas condições nosocomiais não infecciosas também estão inclusas: colonização, ou seja, presença de microrganismos sem sinais adversos e inflamação, caracterizada por sinais resultantes de uma resposta a injúria ou agentes não infecciosos (INWEREGBU, 2005).

Os pacientes que adquirem infecções nosocomiais resultam em um aumento significativo de morbidade e mortalidade, além de acarretarem custos adicionais comparados aqueles que não tiveram infecção hospitalar. Sugere-se que estes pacientes correspondam a 10% do total de internações anuais (INWEREGBU, 2005). Na ausência de doenças contagiosas, infecções nosocomiais surgem de microrganismos adquiridos do hospital, ou bactérias da microbiota normal intestinal ou cutânea (GASCHEN, 2008). Os principais sítios de infecções nosocomiais, representando aproximadamente 80% de todas as infecções, são as de fluxo sanguíneo, trato respiratório, trato urinário e de infecção cirúrgica (OGEER-GYLES, 2006).

2.2 INFECÇÕES DE SÍTIO CIRÚRGICO E SUAS CLASSIFICAÇÕES

A ISC é definida pelo CDC como um processo infeccioso no local da ferida cirúrgica, com proliferação de microrganismos patogênicos no local da incisão, podendo ocorrer na pele, no tecido subcutâneo, em camadas musculares ou órgãos e cavidades que venham a ser expostos no decorrer do procedimento cirúrgico, caracterizando assim os três tipos de ISC, Superficial, Profunda e de Órgão ou Cavitária, respectivamente (BAGNALL, VIG & TRIVEDI 2009; MANGRAM *et al.*, 1999).

Bactérias e outros microrganismos estão relacionados diretamente com a ocorrência das ISC, sendo as bactérias resistentes aos antimicrobianos mais frequentemente associadas a este tipo de infecção (JOHNSON, 2002; SANTOS *et al.*, 2012).

As ISC geralmente acontecem entre o quinto e décimo dia de pós-operatório, podendo ocorrer em até 30 dias nos casos de cirurgias gerais e em até um ano em cirurgias com implantes ou próteses, como as ortopédicas (BAGNALL, VIG & TRIVEDI, 2009; MANGRAM *et al.*, 1999 OLIVEIRA & CIOSAK, 2007), afetando o bem-estar do paciente, causando aumento da morbidade, mortalidade e custos da internação e tratamento (JOHNSON, 2002).

São considerados momentos críticos para que ocorra uma ISC, os períodos pré-operatório, transoperatório e pós-operatório, onde o paciente pode ser submetido a manobras invasivas além do procedimento cirúrgico em si, podendo favorecer a ocorrência de infecções (GREENE & DEARMIN, 2006; LACERDA, 1992; JOHNSON, 2002; SANTOS *et al.*, 2012). Esse período se prolonga por até algumas horas após esse intervalo de tempo, sendo a condição do paciente nesse momento considerada um fator delicado (HUMPHREYS, 2009).

O diagnóstico da ISC não é realizado apenas pelos testes microbiológicos, pois a pele manifesta sua microbiota natural. Os resultados dos testes devem ser trabalhados com os sinais clínicos de inflamação ou infecção, identificados ao exame clínico como eritema, aumento da temperatura local ou sistêmica, dor e aumento de volume local, deiscência de sutura, e presença de exsudato purulento no local da ferida cirúrgica (BAGNALL, VIG & TRIVEDI, 2009).

A ISC incisional superficial geralmente se apresenta nos primeiros 30 dias após o procedimento cirúrgico, envolvendo em seus planos de contaminação apenas pele

e tecido subcutâneo, tendo de apresentar ao menos um dos seguintes sinais: drenagem purulenta da incisão superficial, cultura positiva de secreção ou tecido da incisão superficial, obtido assepticamente. É recomendado, caso ocorra essa infecção, que a incisão seja aberta se apresentar ao menos um dos seguintes sintomas: aumento de sensibilidade, dor, edema local, hiperemia ou calor; com exceção de casos que tenham sido submetidos a cultura e tenham resultado negativo (BRASIL, 2009; CDC, 2010; HORAN & GAYNES, 2005).

Já a ISC incisional profunda pode se apresentar nos primeiros 30 dias até um ano após o procedimento cirúrgico, caso haja a emprego de implante ou prótese (considera-se um corpo estranho). Ela envolve tecidos moles profundos à incisão como fáscias e músculos, tendo de apresentar ao menos um dos seguintes sinais: drenagem purulenta da incisão profunda, deiscência parcial ou total da parede abdominal. Sendo também recomendada a abertura da ferida pelo cirurgião, quando houver ao menos um dos seguintes sinais: temperatura maior que a referência normal para cada espécie, dor, aumento de volume e da sensibilidade local, com exceção de casos que tenham sido submetidos a cultura e tenham resultado negativo. Caso haja presença de abscesso ou outra evidencia que a infecção envolva planos profundos da ferida, pode-se ter a necessidade de reoperação, que terá de ser comprovada por exame clínico, histopatológico ou de imagem (BRASIL, 2009; CDC, 2010; HORAN & GAYNES, 2005).

No caso da ISC de órgão ou cavidade, ela ocorre nos primeiros 30 dias até um ano da realização do procedimento cirúrgico, caso haja colocação de prótese. Pode ocorrer em qualquer órgão ou cavidade que foi aberto e manipulado durante o procedimento, desde que apresente ao menos um dos sinais a seguir: cultura positiva de secreção ou tecido do órgão ou cavidade obtido assepticamente, presença de abscesso ou outra evidencia de que a infecção envolva planos mais profundos da ferida, pode-se ter a necessidade de reoperação, que terá de ser comprovada por exame clínico, histopatológico ou de imagem (BRASIL, 2009; CDC, 2010; HORAN & GAYNES, 2005).

2.3 CLASSIFICAÇÃO QUANTO AO POTENCIAL DE CONTAMINAÇÃO DA FERIDA CIRÚRGICA

O potencial de contaminação das feridas cirúrgicas é compreendido pela população de microrganismos presentes no tecido a ser operado, antes do procedimento cirúrgico (BRASIL, 2005; DUNNING, 2007).

A classificação das cirurgias quanto ao potencial de contaminação da ferida cirúrgica como a de escolha para avaliar o risco de ocorrência de ISC são descritas pelo CDC, pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e outras instituições que pesquisam e monitoram as IH (BRASIL, 2005). As classificações foram desenvolvidas em 1964 pelo *National Research Council, ad hoc Committee on Trauma* e vem sendo utilizada universalmente desde esse momento (BERARD & GANDON, 1964). As cirurgias são classificadas em cirurgias limpas, cirurgias potencialmente contaminadas, cirurgias contaminadas e cirurgias infectadas (Quadro 1) (MANGRAM *et al.*, 1999).

Quadro 1 classificações associadas às suas definições. Fonte: MANGRAM *et al.*, (1999)

Classificação das Cirurgias	Definição
Cirurgia Limpa	Cirurgias eletivas, primariamente fechadas, não traumáticas e sem drenos. Sítio cirúrgico não infectado, não inflamado, sem penetração nos tratos respiratório, digestivo, biliar e genitourinário.
Cirurgia Potencialmente Contaminada	Cirurgias com penetração na microbiota endógena, com abordagem dos tratos digestivo, respiratório, genitourinário e orofaringe sob condições controladas, sem contaminação não fisiológica e sem inflamação supurativa. Estão incluídos também os procedimentos com pequenas quebras da técnica asséptica ou com utilização de drenos.
Cirurgia Contaminada	Cirurgias em tecidos apresentando microbiota bacteriana excessiva, dos quais a descontaminação seja dificultada ou impossibilitada de ser realizada. Feridas traumáticas recentes, contaminação grosseira durante cirurgia do trato digestivo, manipulação de via biliar ou genitourinária na presença de bile ou urina infectadas, procedimentos com quebras maiores da técnica e quando é encontrada inflamação sem presença de exsudato purulento no sítio cirúrgico.
Cirurgia Infectada	Infecção no sítio cirúrgico com presença de exsudato purulento, processo infeccioso concomitante, tecidos desvitalizados, corpos estranhos, contaminação fecal ou feridas traumáticas antigas. Nestes casos, os organismos causadores da infecção pós-

	operatória estiveram presentes no campo operatório antes da cirurgia.
--	---

2.5 SISTEMA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DAS INFECÇÕES CIRÚRGICAS

O Sistema de Vigilância é uma parte integral de qualquer programa compreensivo de controle de infecções, porque essa atividade provê uma função sensorial guiando as práticas de controle para que elas sejam focadas e eficientes (MORLEY, 2004).

O Sistema de Vigilância das IH é definido como um sistema de informações da ocorrência de IH e a rotineira coleta de dados. Esse serviço determina os tipos de IH que mais ocorrem, estabelece sua quantidade, detecta surtos precocemente, compara taxas entre hospitais, identifica fatores de risco, desenvolve medidas de controle, avalia a qualidade das medidas adotadas e da equipe de saúde e monitora a microbiota hospitalar (BRASIL, 1998). O objetivo do Sistema de Vigilância é reduzir a ocorrência de ISC, o sistema também avalia as infecções, o resultado das medidas de prevenção que estão em vigor, mostrando as práticas de controle vulneráveis e eficientes, a necessidade de novas medidas de controle e a resistência aos antibacterianos (CVE, 2006).

De acordo com o CDC, por meio do projeto SENIC (*Study on the Efficacy of Nosocomial Infection Control*), as principais formas de evitar e controlar a IH são as atividades de vigilância e de controle, que apresentam pessoas treinadas e em quantidade adequada (CDC, 1998; APECIH, 2008). Além dos programas de prevenção que consistem na higiene das mãos, limpeza e desinfecção de instalações e equipamentos, isolar pacientes de risco, adequar o uso de antibióticos visando evitar a resistência e implantar Sistema Vigilância microbiológica (MURTAUGH & MASON, 1989).

Há mais de duas décadas as ISC têm recebido atenção na medicina veterinária, e muitos países procuram estabelecer estratégias de controle. Porém, estudos ainda são necessários para que taxas de infecções, medidas preventivas e comissões de controle hospitalar, possam gerir a prevenção de forma mais eficaz (NICHOLSON *et al.*, 2002). Apesar do melhoramento dos programas de controle, os profissionais precisam se conscientizar e acreditar no valor desses programas (BENEDICT, MORLEY & METRE, 2008).

O CDC desenvolveu um sistema de vigilância colaborativo para obter informações nacionais em infecções nosocomiais, chamado *National Nosocomial Infection Surveillance*. O CDC usa essas informações reportadas voluntariamente por hospitais participantes para estimar a magnitude do problema de infecções nosocomiais nos Estados Unidos e monitorar taxas de infecção e fatores de risco. Hospitais coletam informações prospectivamente monitorando grupos específicos de pacientes por infecções com uso de protocolos chamados componentes de vigilância. Esses componentes usados pelo NNIS são ao redor do hospital, unidade de tratamento intensivo, enfermagem de alto risco, e paciente cirúrgico. Informações detalhadas incluindo características demográficas, infecções e fatores de risco relacionados, e resultado, são coletados em cada paciente (EMORI *et al.*, 1991).

2.6 FATORES DE RISCO ASSOCIADOS A INFECÇÃO DE SÍTIO CIRÚRGICO

Os fatores de risco se constituem em condições que aumentam a possibilidade de uma doença ocorrer ou se agravar, estão relacionados a falta de padrão dos registros nos prontuários, erro ou ausência de padrões de registros de antibioticoterapia prescrita, falta de um programa de vigilância de IH, falta de regras e rotinas à prevenção e controle de IH, falta de treinamento e orientação dos profissionais. É possível que haja falha na prescrição de medidas de prevenção pós-operatórias em relação à interferência do animal na ferida cirúrgica (BRAGA, 2008).

Esses fatores podem ser considerados essenciais para que a doença ocorra, e podem estar relacionados ao paciente, sendo assim intrínseco, ou podem estar relacionados ao ambiente, sendo assim extrínseco (CDC, 1998). Os fatores intrínsecos estão ligados ao paciente, como idade, seu estado geral, gravidade e tipo da doença primária, doenças secundárias, a condição nutricional, obesidade, imunossupressão, escore de avaliação pré-anestésica determinado pela *American Society of Anesthesiologists* (ASA), pré e pós-operatório prolongados, antibioticoterapia profilática de amplo espectro, muitos procedimentos sendo realizados em uma mesma anestesia, trauma tecidual, corpo estranho, drenos e cirurgias de emergência; já os fatores extrínsecos estão ligados ao ambiente hospitalar, como superfícies, consultórios, equipamentos e os materiais e medicamentos hospitalares (CULVER *et al.*, 1991; MANGRAM *et al.*, 1999; NICHOLSON *et al.*, 2002).

São considerados fatores de risco extrínsecos, as agressões sofridas durante os procedimentos e a qualidade do cuidado que o paciente recebe da equipe médica (ANDRADE, 1998; MANGRAM *et al.*, 1999). Além dos fatores de risco associados ao animal e ao ambiente hospitalar, outros elementos estão associados à Medicina Veterinária, como o tempo cirúrgico prolongado, tricotomia realizada anteriormente à indução anestésica, infecções distantes da incisão cirúrgica e uso prolongado de antimicrobianos após o procedimento cirúrgico (BROWN *et al.*, 1997; VAN DEN BOGAARD & WEIDEMA, 1985). Podem ocorrer ainda, situações em que o próprio animal interfira direta ou indiretamente na ferida cirúrgica através de lambedura e mordedura, ou por meio de contato com superfícies grosseiras. Para que isso não ocorra, a ferida deve ser protegida (BRAGA, 2008; STEHLING, CUNHA & MARTINS, 2001).

3. METODOLOGIA

Para este trabalho, foi empregado um estudo de coorte de incidência de ISC em todos os animais submetidos a procedimento cirúrgico no Hospital Veterinário da Univértix em Matipó-MG, no período de 1 de junho de 2017 a 1 de abril de 2018, onde foi verificado a possível associação entre a exposição aos fatores de risco (procedimento cirúrgico) com o desfecho final (ocorrência de ISC) avaliados durante o retorno dos animais. Vale ressaltar que em todas as cirurgias foi realizada a técnica asséptica correta.

Os dados referentes ao procedimento cirúrgico foram coletados com auxílio da equipe cirúrgica e do professor responsável. Fazendo uso de um caderno de notas ao final de cada procedimento, as variáveis coletadas, consideradas como fatores de risco cuja presença está associada a maior probabilidade de que uma infecção venha a se desenvolver foram: Tempo do Procedimento Cirúrgico (Maior ou menor que 40 minutos); Classificação do Procedimento quanto ao potencial de contaminação (Limpa, Potencialmente Contaminada, Contaminada e Infectada); Quantidade de pessoas na sala durante o procedimento cirúrgico (Maior ou menor que 5 pessoas).

O diagnóstico das ISC foi realizado no retorno ambulatorial pós-cirúrgico que ocorreu até 30 dias após a realização do procedimento. Nesse retorno o Médico Veterinário responsável utilizou como critério para avaliação da ferida cirúrgica os seguintes parâmetros: Presença de Hiperemia, aumento da temperatura local ou

sistêmica, deiscência e presença de exsudato purulento no local da incisão seguindo as recomendações propostas pelo CDC. Foi realizada uma análise descritiva dos dados apresentando a incidência de ISC.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período do estudo, foram acompanhadas 76 cirurgias, dentre os quais 46 no setor de Clínica e Cirurgia de Pequenos Animais, e 30 cirurgias no setor de Clínica e Cirurgia de Grandes Animais, onde foram detectadas 12 ocorrências de ISC ao total, estabelecendo assim uma incidência de 15,79% de ISC para o Hospital Veterinário da Univértix, sendo 5 (6,57%) do setor de Clínica e Cirurgia de Pequenos Animais e 7 (9,21%) do setor de Clínica e Cirurgia de Grandes Animais.

No Hospital Veterinário da Univértix a casuística de animais de grande porte é quase unicamente de equinos, onde o foco das cirurgias possui predominância para afecções do trato gastrointestinal, com acesso a cavidade abdominal e manipulação de vísceras deste trato, tornando a quase totalidade de modalidades cirúrgicas como Potencialmente Contaminadas ou Contaminadas, como descrito anteriormente por Mangram (1999).

Sobre as ISC, todas foram avaliadas e classificadas como Infecções Superficiais, se tratando de infecções na derme, com inflamação e purulência (MANGRAM, 1999), como mostrado na Figura 2 A e B. A taxa de 15,79% de ISC do total de cirurgias realizadas nesse hospital veterinário ainda se encontra alta comparada a taxas encontradas em outras pesquisas. Um trabalho pioneiro sobre incidência de ISC foi realizado no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa e teve taxa de ISC de 9,5% (BRAGA, 2008); outros pesquisadores alcançaram taxas como de 9% (BERNIS, 1993), 5,5% (BROWN *et al.*, 1997) e 5,1% (VASSEUR *et al.*, 1988), sendo essas ainda superiores à taxa obtida por EUGSTER *et al.*, (2004) de 3,0%. A maior taxa de incidência a ser relacionada ao presente estudo foi de 11,5%, encontrada por AIELLO *et al.*, (2007). Mas essas discrepâncias entre as taxas de incidência de ISC, podem ser justificadas por populações diferentes de pacientes e/ou diferentes critérios de inclusão.

Por esse motivo, as considerações de taxas globais podem gerar erros de interpretação e comparação, pois tem pouca relevância em reconhecer os reais riscos de ISC nos pacientes, conforme COUTO *et al.*, (1996); COUTO *et al.*, (2003) e FERNANDES (2000) uma vez que cada estudo foi realizado com variantes diferentes, assim como os métodos de vigilância, antibioticoterapia, tipos e graus de complexidade dos procedimentos efetuados em cada instituição onde foram estabelecidos os estudos.

Com relação a classificação das cirurgias quanto ao potencial de contaminação da ferida cirúrgica, foram realizadas 26 cirurgias limpas, onde não houve incidência de ISC, 33 cirurgias contaminadas ou potencialmente contaminadas, onde houve incidência de 8 ISC e 17 cirurgias infectadas, com 4 ISC (TABELA 1), sendo a incidência de ISC 75% para cirurgias Potencialmente Contaminadas/Contaminadas e 25% para cirurgias Infectadas (TABELA 2). Resultados diferentes foram encontrados por CORSINI (2012), onde as incidências para ISC em cirurgias limpas, potencialmente contaminadas/contaminadas e infectadas foram 2,74%, 2,25% e 0,25%, respectivamente.

Tabela 1. Distribuição dos pacientes submetidos à cirurgia segundo a classificação do potencial de contaminação da ferida cirúrgica e incidência de ISC no Hospital Veterinário da Univértix Matipó – MG no período de 1 de junho de 2017 até 1 de abril de 2018.

Tipos de Cirurgia	Pequenos animais	Grandes Animais	Taxa Global
Limpa	21 cirurgias, 0 infecções	5 cirurgias, 0 infecções	26 cirurgias, 0 infecções
Contaminada ou Potencialmente Contaminada	10 cirurgias, 2 infecções	23 cirurgias, 6 infecções	33 cirurgias, 8 infecções
Infectada	15 cirurgias, 4 infecções	2 cirurgias, 0 infecções	17 cirurgias, 4 infecções

Tabela 2. Distribuição dos pacientes submetidos à cirurgia segundo a classificação do potencial de contaminação da ferida cirúrgica e incidência de ISC no Hospital Gardingo Ltda Matipó – MG no período de 1 de junho de 2017 até 1 de maio de 2018.

Classificação	Número de procedimentos	Incidência de ISC
Limpas	26 (34,2%)	0 (0,0%)
Potencialmente Contaminadas, ou Contaminadas	33 (43,4%)	9(75%)
Infectadas	17 (22,3%)	3 (25%)

Total	76 (100%)	12 (100%)
--------------	-----------	-----------

Os resultados encontrados no presente estudo, concordam com a descrição de BAGNALL, VIG & TRIVEDI (2009), que relatam que a ocorrência de ISC é mais provável em cirurgias infectadas, contaminadas ou potencialmente contaminadas quando comparadas a ocorrência de ISC em cirurgias limpas.

O presente estudo também estão de acordo com BAGNALL, VIG & TRIVEDI (2009), CORSINI (2012) e EUGSTER (2004), descrevem que todas as cirurgias com um elevado número de pessoas, e um tempo maior necessário para o procedimento, elevam significativamente o risco da ocorrência de ISC, e isto é claro nas cirurgias acompanhadas no Hospital Veterinário da Univértix, onde todas as cirurgias onde houve a ocorrência de ISC, o número de pessoas era maior que 5, e a duração da cirurgia ultrapassava os 40 minutos, o que pode de fato representar um fator de risco para a incidência de ISC nesta instituição.

As cirurgias classificadas como limpas, normalmente apresentam risco de infecção menor que 5%, com exclusão de cirurgias que ultrapassem 90 minutos de duração ou sejam procedimentos ortopédicos ou neurológicos (BROWN et al. 1997; JOHNSON & MURTAUGH 1997; VASSEUR et al. 1988; WHITTEM et al. 1999).

Os dados encontrados neste trabalho, não indicam ocorrência de ISC em cirurgias de classificação limpa, diferente do relatado por BRAGA (2008) que identificou em cirurgias limpas uma taxa de 10,4%, enquanto BROWN *et al.* (1997) e CORSINI (2012) encontraram uma porcentagem menor em seus estudos, de 4,7% e 2,74%, respectivamente, demonstrando que o resultado do presente estudo está de acordo com as recomendações do CDC, que determina que a incidência desse tipo de cirurgia deve ser menos que 5%, pois valores superiores a este podem indicar uma falha na prática antisséptica correta. Sendo assim, apesar do fato do hospital veterinário ser universitário e ter grande fluxo de pessoas, sua taxa de ISC em cirurgias limpas é altamente favorável, salvo que o número de animais neste trabalho é menor comparado a outros estudos. É de grande importância ressaltar que esse resultado pode ser consequência de uma estrutura hospitalar completa, moderna e de alta qualidade; bem como a boa conduta dos profissionais atuantes neste hospital.

Durante as etapas de coleta de dados dos pacientes, foi nítida a ausência de qualquer tipo de armazenamento de dados relacionados ao procedimento cirúrgico ou

sobre a ocorrência de ISC, não havendo, portanto, um mínimo banco de dados necessário para a aplicação de um Sistema de Vigilância. A maioria dos estudos utilizados como referência para este trabalho sugerem a implantação de um Sistema de Vigilância adaptado às práticas veterinárias, como BAGNALL, VIG & TRIVEDI (2009), BRAGA (2009), CORSINI (2012), EUGSTER (2004) e MANGRAM (1999), e que com esse sistema, uma padronização eficiente pode ser alcançada, evitando que as práticas hospitalares sejam guiadas por opiniões subjetivas e individuais, visando melhora na qualidade do serviço e de bem-estar animal no Hospital Veterinário da Univértix, bem como, na cidade de Matipó e região.

5. CONCLUSÃO

Conclui-se com esse trabalho, que a taxa de incidência de ISC dos pacientes cirúrgicos do Hospital Veterinário da Univértix é de 15,76%, sendo 6,57% para pequenos animais e 9,21% para grandes animais, não sendo observadas nenhuma ISC em cirurgias limpas, demonstrando a qualidade dos serviços prestados pela instituição. Cabe ressaltar que estudos como este, são importantes para um controle epidemiológico em um hospital veterinário, no intuito de promover a melhora da qualidade dos serviços prestados, no entanto, é necessário a implantação de um Sistema de Vigilância.

6. REFERÊNCIAS

AIELLO, G., BATTAGLIA, L., ARIAS, M.V., FREITAS, J.C. Determinação dos índices de infecção hospitalar em um centro cirúrgico universitário veterinário de pequenos animais. **Acta Scientiae Veterinarie**, Londrina. v. 35, p.345-346, Supl. 2, 2007.

ANDRADE, D.A. **Manutenção do ambiente hospitalar biologicamente Seguro: Avaliação microbiológica dos leitos de um hospital geral antes e depois de sua limpeza terminal**. Ribeirão Preto. 202 f. Tese (Doutorado em Enfermagem) – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, 1998.

AMAVISIT, P., MARKHAM P.F., LIGHTFOOT D., WHITEAR K.G., BROWNING G.F. Molecular epidemiology of *Salmonella heidelberg* in an equine hospital. **Veterinary Microbiology**. Victoria, Australia. v.80, p.85-98, 2001.

APECIH. Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar. Um compêndio de estratégias para a prevenção de infecções relacionadas à assistência à saúde em hospitais de cuidados agudos. **Revista APECIH**. São Paulo - SP. v.29 p901-994. 2008.

BAGNALL, N.M., VIG, S.; & TRIVEDI P. Surgical site infection. **Surgery**. Londres. 27 v.10 p.426-430, 2009.

BERARD F. & GANDON, J. Postoperative wound infections: the influence of ultraviolet irradiation of the operating room and of various other factors. **Annal of Surgery**. Boston, Estados Unidos. v.160 supl 2 p.1-192. 1964.

BERNIS, F.W.O. **Incidência de infecção hospitalar em feridas cirúrgicas na clínica de pequenos animais em um hospital universitário**. Belo Horizonte - MG, 1993. 59 F. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.

BRAGA, D.P. **Incidência e fatores de risco associados à infecção do sítio cirúrgico na clínica de cães e gatos do hospital veterinário da Universidade Federal de Viçosa**. Viçosa - MG, 2008. 104 F. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Pediatria: prevenção e controle de infecção hospitalar** – Série A. Normas e Manuais Técnicos. 116p. 2005.

BROWN, D.C. et al. Epidemiologic evaluation of post operative wound infections in dogs and cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, Estados Unidos. v.210, p.6-1302, 1997.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, **Healthcare-associated infections**, Surgical Site Infections (SSI), disponível em: <https://www.cdc.gov/HAI/ssi/ssi.html>. Acesso em: 1.jul.2018.

COUTO, R.C. *et al.* **Infecção hospitalar e outras complicações não infecciosas da doença, epidemiologia controle e tratamento**. 3. ed. São Paulo – SP: Medsi, p.904, 2003.

COUTO *et al.*, Infecção Hospitalar: Critérios para Instalação e Atuação da Comissão Responsável, Medidas Profiláticas e Emprego da Antibioticoterapia. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v.31, p.862-866, 1996.

CRUSE, P.J.E.; FOORD, R. The epidemiology of wound infection: a 10-year prospective study of 62,939 wounds. **Surgical Clinics of North America**. v.60, p.27-40, 1980.

CULVER, D.H., HORAN, T.C., GAYNES R.P., MARTONE W.J., JARVIS W.R., EMORI, T.G., BANERJEE S.N., EDWARDS J.R., TOLSON, J.S., HENDERSON, T.S., HUGHES J.M., NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTIONS SURVEILLANCE. Surgical wound infection rates by wound class, operative procedure, and patient risk index. **American Journal of Medicine**, Atlanta, Estados Unidos. v.91, supl 3, p.152-157, 1991.

CORSINI, C. M. M., **Avaliação Da Incidência De Infecção Do Sítio Cirúrgico, em Cães e Gatos Operados No Hospital Veterinário Da UFV, Associada a Fatores De Risco, Bactérias Isoladas e Perfil De Resistência aos Antimicrobianos**, Viçosa, 2012. 80. Tese para Mestrado Em Medicina Veterinária – Universidade Federal de Viçosa.

EUGSTER, S., SCHAWALDER, P., GASCHEN, F., BOERLIN, P. A prospective study of postoperative surgical site infections in dogs and cats. **Veterinary Surgery Journal**, Ghuelp, Canada. v.33, n. 5, p.542-550, oct. 2004.

FERNANDES, A.T.; **Conceito, cadeia epidemiológica das infecções hospitalares e avaliação custo-benefício das medidas de controle**. In: FERNANDES, A.T. (Ed.) **Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde**, São Paulo – SP: Atheneu, p.215-265, 2000.

GRIFFITH C.J., OBEE P., COOPER R.A., BURTON N.F. & LEWIS M. The effectiveness of existing and modified cleaning regimes in a Welsh hospital. **Journal of Hospital Infection**. Cardiff, Reino Unido. v.66, p.352-359, 2007.

HORAN T.C., GAYNES R.P., MARTONE W.J., JARVIS W.R. & EMORI T.G. 1992. CDC definitions of nosocomial surgical site infections, 1992: a modification of CDC definitions of surgical wound infections. **American Journal of Infection Control**. Atlanta, Estados Unidos. v.20, p.271-274. 1992.

INWEREGBU, K., JAYSHREE, D., PITTARD, A. **Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain**, v.5, n. 1, p. 14–17. 2005.

JOHNSON, J.A., MURTAUGH, R.J. Preventing and treating nosocomial infection. Part 2. Wound, blood and gastrointestinal infections. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.19, n.6, p.693-703, 1997

MANGRAM, A.J., HORAM, T.C., PEARSON, M.L., SILVER, L.C., JARVIS, W.L., The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for prevention of surgical site infection 1999. **Infection Control & Hospital Epidemiology**. Chigado, Estados Unidos. v.20, p.250-278, 1999.

MORLEY, P.S. Biosecurity of veterinary practices. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v.18, p.133-155, 2002.

NICHOLSON, M; BEAL, M; SHOFER, F *et al.*: **Epidemiologic evaluation of postoperative wound infection in clean-contaminated wounds**: a retrospective study of 239 dogs and cats. *Vet Surg*. v.31, p.577–581, 2002

OGEER-GYLES J.S., MATHEWS K.A. & BOERLIN, P. Nosocomial infections and antimicrobial resistance in critical care medicine. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. v.16, n.1 p.1, 2006.

OLIVEIRA A.C & CIOSAK S.I. Infecção de sítio cirúrgico em hospital universitário: vigilância pós-alta e fatores de risco. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**. São Paulo- SP. v.41, n.2 p.258-263, 2007.

SOLOMKIN, J.S. Antibiotic resistance in postoperative infections. **Critical Care Medicine**, v.29, n.4, Abr. 2001.

STEHLING M.C., CUNHA A.F., MARIA E. Prevenção e controle de infecção hospitalar em serviço de medicina veterinária, p.915-927. In: Martins, M.A. (Ed.), **Manual de Infecção Hospitalar. Epidemiologia, Prevenção e Controle**. 2 eds. Medsi, Belo Horizonte, 2001.

VAN DEN BOGAARD A.E.J.M. & WEIDEMA W.F. Antimicrobial prophylaxys in canine surgery. **Journal of Small Animal Practice**. Limburg, Holanda. v.26 p.257-266. 1985.

VASSEUR, P.B. *et al.* Surgical wound infection rates in dogs and cats. Data from a teaching hospital. **Veterinary Surgery**. v.17, p.60-64, 1988.

WHITTEM, T.L. *et al.* Effect of perioperative prophylactic antimicrobial treatment in dogs undergoing elective orthopedic surgery. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v.215, p.212-216, 1999.

ISOLAMENTO DE *Salmonella* spp. EM GRANJA DO MUNICÍPIO DE SANTA BÁRBARA DO LESTE - MG

Acadêmicas: Cinthia de Araújo Lage da Costa e Eduarda Machado de Souza
Orientador: Leandro Silva de Araújo

RESUMO

Salmonella spp. pertence à família *Enterobacteriaceae*, uma bactéria Gram negativa, anaeróbica facultativa, intracelular facultativa, móvel e não esporulada. Causa doenças agudas e crônicas em aves, sendo a diarreia um dos principais sinais clínicos. Além disso é um importante agente zoonótico causador de infecção alimentar em seres humanos. Trata-se, portanto, de um micro-organismo de grande relevância para a saúde pública e requer notificação obrigatória dos casos confirmados em aves. Neste estudo avaliou-se a presença de *Salmonella* spp. em uma granja avícola de postura no município de Santa Bárbara do Leste – MG. Para isto foram coletadas amostras de suabe de arrasto e ovos no local avaliado, que foram encaminhados para o Laboratório de Microbiologia do Hospital Veterinário Gardingo em Matipó – MG, onde foram isoladas em meios seletivos e submetidas a testes bioquímicos para confirmação. Obteve-se resultado positivo para *Salmonella* spp. apenas em amostras do suabe de arrasto, e ausência dessas bactérias em amostras dos ovos, sugerindo infecções por *Salmonella* Enteritidis e/ou Typhimurium. Com isso, é possível concluir que a propriedade está dentro da legislação que permite o tratamento e monitoramento do núcleo para os sorovares encontrados.

PALAVRAS – CHAVE: Salmonelose, produtos avícolas, sanidade avícola

1. INTRODUÇÃO

O mercado avícola brasileiro tem recebido grande destaque mundial nos últimos anos, sendo o Brasil o maior exportador de carne de frango e o segundo maior produtor desta proteína do mundo (ABPA, 2017). Vários entraves podem reduzir a eficiência produtiva em uma granja, entre eles destacam-se patógenos microbianos, dentre os quais o gênero *Salmonella* spp. apresenta grande relevância (PANDINI *et al.*, 2014).

As infecções por *Salmonella* são responsáveis por uma variedade de doenças agudas e crônicas em aves, que podem resultar em significativas perdas econômicas (CARDOSO *et al.*, 2013). Além disso, são responsáveis por infecções alimentares em seres humanos o que confere implicações à saúde pública (TEIXEIRA; LIMA, 2008).

Este agente pertence à família *Enterobacteriaceae*, Gram negativa, anaeróbico facultativo, parasitas intracelulares facultativos, bastonetes de 0,5 a 0,7 por 1 a 3 micrômetros, sem cápsula, móveis com flagelos peritríquios e não esporulados

(KOWALSKI *et al.*, 2011). Mesófilos capazes de crescerem entre 5°C – 45°C, apresentando temperatura ótima de 37°C. Crescem em pH entre 4 – 9, sendo 7 o pH ideal. São microrganismos fermentadores de L-rhamnose, L-arabinose, D-sorbitol, D-manitol, D-manose, D-xilose, maltose e trealose, porém, não fermentam lactose e sacarose (MORAES, 2014).

Hoje no Brasil os principais sorovares patogênicos encontrados em aves pertencem à espécie *Salmonella enterica* subespécie *enterica* e são eles: Enteritidis, Typhimurium, Pullorum, Gallinarum, Heidelberg, Agona e Mbandaka (PANDINI *et al.*, 2014). Dentre esses sorovares, *Salmonella* Pullorum e a *S. Gallinarum* são específicas de aves, só provocam mortalidade destas e não são zoonóticas (VASCONCELLOS, 2014).

Devido a sua importância, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) estabeleceu em 1994 o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA), que tem como objetivo estabelecer normas e ações para regulamentar a produção avícola e proteger o plantel nacional. Quanto ao controle dos produtos de origem avícola, como ovos e carne de frango, ressalta-se a manipulação desses alimentos na disseminação da bactéria, por permitir contaminação cruzada no ambiente de preparo de outros alimentos (CARDOSO & TESSARI, 2008).

O presente trabalho teve como objetivo realizar o isolamento de *Salmonella* spp. a partir de amostras ambientais e dos ovos provenientes de uma granja avícola de galinhas poedeiras de Santa Bárbara do Leste - MG.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 AVICULTURA NO BRASIL

A avicultura se tornou uma atividade econômica internacionalizada. É considerada um complexo industrial que não deve ser analisado apenas sob o aspecto de produção e distribuição, e sim através de uma abordagem sistêmica do setor (RODRIGUES *et al.*, 2014).

Atualmente, o frango é uma forte opção para o consumidor brasileiro, com preço mais barato em relação à carne de outros animais, qualidade nutritiva e facilidade para o preparo.

O Brasil é o segundo maior produtor mundial da proteína, resultado da eficiência em manejo e da tecnologia genética das granjas. Além do mercado nacional, o frango brasileiro é consumido em 150 nações, tornando o país o maior exportador mundial da ave desde 2004 (ABPA, 2017).

O desenvolvimento da avicultura pode ser visto como consequência do crescimento e modernização do agronegócio no Brasil. Isso porque a atividade avícola reúne importantes elementos no cálculo econômico do capitalismo em sua configuração atual: tecnologia de ponta, eficiência na produção, diversificação no consumo, controle das condições sanitárias de criação, aperfeiçoamento de pessoal no manejo das aves, além do sistema de produção integrado (RODRIGUES *et al.*, 2014).

Em relação a produção de ovos, de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o Brasil registrou produção recorde em 2016, com 3,10 bilhões de dúzias. O resultado representou uma alta de 5,8% em relação a 2015 ou 51,28 milhões de dúzias de ovos a mais (IBGE, 2017).

Pode-se afirmar que a avicultura brasileira atingiu produtividade e qualidade que podem ser comparadas às obtidas pelos países mais desenvolvidos do mundo, contribuindo, entre outras coisas, para a geração de divisas de exportação (VIEIRA, 2005).

2.2 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

Quando se pensa no ramo alimentício, um dos maiores problemas enfrentados são as doenças transmitidas por alimentos (DTA), que podem ser causadas por agentes biológicos, químicos ou físicos, os quais penetram o organismo pela ingestão de água ou alimentos contaminados, gerando assim grande problema de saúde pública (AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006).

Dentro do grupo das DTA, existem três classificações importantes: Infecção Alimentar, que ocorre quando o ser humano ingere o alimento com o micro-organismo e esse se multiplica no organismo hospedeiro; Intoxicação Alimentar, em que o agente patogênico se multiplica no próprio alimento e libera toxinas; Toxinfecção Alimentar, ocorre quando há ingestão do alimento contaminado com o patógeno, que ao se multiplicar no organismo hospedeiro, liberam toxinas (SILVA, *et al.*, 2013).

Os sintomas mais comuns de DTA são dor de estômago, náusea, vômitos, diarreia e, por vezes, febre. A duração dos sintomas pode variar de poucas horas até mais de cinco dias, dependendo do tipo de micro-organismo ou toxina ingerida ou ainda suas quantidades no alimento. Conforme o agente etiológico envolvido, o quadro clínico pode ser mais grave e prolongado, apresentando desidratação grave, diarreia sanguinolenta, insuficiência renal aguda e insuficiência respiratória e sinais neurológicos (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

A salmonelose é causada pela bactéria *Salmonella* spp. e é considerada uma das principais doenças transmitidas por alimentos. Também é um importante fator limitante na criação de aves, causando perdas econômicas em todas as fases da criação, ou seja, da produção ao consumo dos produtos de origem avícola. Representando uma severa barreira sanitária que restringe o comércio de aves e seus produtos em todo o mundo (ANDREATTI FILHO *et al.*, 2011).

Alguns outros agentes microbianos associados às DTA são *Clostridium botulinum*, agente causador do botulismo, doença antiga de grande importância no contexto das DTA devido a severidade do quadro e pelo risco que representa para a Saúde Pública (SILVA; PESSOA, 2015). A listeriose, causada pela *Listeria monocytogenes*, pode ser encontrada no leite e derivados, legumes e carne (PALMA, 2016). As bactérias do gênero *Escherichia coli* também são responsáveis por doenças transmitidas por alimentos, causando doenças diarreicas. São utilizadas para detecção de contaminação de origem fecal durante o processamento por falha nos cuidados de higiene (SOUSA, 2006).

As bactérias *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*, também estão envolvidos em quadros de vômitos e diarreia, podendo ocorrer também náuseas, cólicas abdominais e sudorese (MOMESSO *et al.*, 2016).

A Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), do Ministério da Saúde, desenvolveu o Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos (VE-DTA) com o objetivo de se obter mais informações sobre as DTA. Esse sistema, implantado em 1999, em parceria com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e o Instituto Pan-americano de Alimentos, da Organização Pan-americana de Saúde, visa reduzir a incidência das DTA no Brasil (OLIVEIRA *et al.*, 2010). Entre os anos de 2007 e 2016 foram registrados pelo Ministério Público 6.632 surtos de salmonelose

no Brasil, com 469.482 pessoas expostas, destas 118.104 adoeceram, 17.186 foram hospitalizadas e 109 (0,09%) vieram a óbito (SAVARIZ, 2017).

2.3 PRINCIPAIS PATÓGENOS TRANSMITIDOS POR PRODUTOS AVÍCOLAS

Entre os patógenos relevantes para avicultura destaca-se o gênero *Salmonella* spp. (PANDINI *et al.*, 2014). As infecções por *Salmonella* são responsáveis por uma variedade de doenças agudas e crônicas em aves, que provocam significativas perdas econômicas (CARDOSO *et al.*, 2013). Além disso, são responsáveis por infecções alimentares em seres humanos o que confere implicações à saúde pública (TEIXEIRA; LIMA, 2008).

Salmoneloses são enfermidades agudas ou crônicas causadas por bactérias do gênero *Salmonella*. São causadas por *S. Enteritides*, *S. Gallinarum*, *S. Pullorum* e *S. Typhimurium*. De acordo com o programa nacional de sanidade avícola (PNSA) do MAPA, é uma enfermidade que requer notificação imediata de qualquer caso confirmado (BRASIL, 2013). A enfermidade em aves pode ser descrita em três doenças distintas: Pulorose, tifo e paratifo aviário (MORAES, 2014).

A Pulorose é uma doença que acomete aves normalmente mais jovens com menos de três semanas de vida, causada por *S. Pullorum*, que provoca um quadro clínico de diarreia pastosa de cor esbranquiçada, tem um alto índice de mortalidade e sua principal via de transmissão é vertical (ANDREATTI FILHO, 2012; MORAES, 2014). O agente da pulorose pode ser transmitido para outras aves de interesse econômico, por isso foi necessário buscar métodos de controle da doença (ANDREATTI FILHO, 2012). As aves adultas são assintomáticas e poedeiras comerciais podem apresentar queda de 30% da postura (MORAES, 2014).

Salmonella Gallinarum é o agente responsável pela doença denominada tifo aviário, uma enfermidade sistêmica severa que pode causar perdas econômicas importantes (CARDOSO *et al.*, 2003). Acomete aves jovens e adultas, principalmente por via horizontal de transmissão, provocando diarreia esverdeada. Pode ocasionar mortalidade de 80% do lote, queda na produção de ovos e pintos de baixa qualidade (MORAES, 2014). Septicemia e toxicemia são características da enfermidade e o diagnóstico é dado por meio dos sinais, das lesões, do isolamento e da identificação do agente (CARDOSO *et al.*, 2003).

Já o paratifo aviário não tem um agente específico, no entanto, o agente mais comum isolado de aves que tem relação com a doença, é a *S. Typhimurium* (FERREIRA JUNIOR, 2016). Pode ocorrer em quadros entéricos, sistêmicos ou de portadoras assintomáticas. As aves infectadas podem se tornar portadoras do agente por toda a vida, com excreção intermitente de *Salmonella* (MORAES, 2014).

2.4 PROGRAMA DE SANIDADE AVÍCOLA

As doenças causadas por *Salmonella spp.* se encontra na 3ª categoria que se refere a doenças que precisam de acompanhamento obrigatório do Serviço veterinário oficial (SVO), este fato se dá pela necessidade de serem aplicadas medidas para confirmação de diagnóstico, controle, prevenção e erradicação, seja para doenças exóticas, emergenciais ou inseridas em programas de controle e erradicação (BRASIL,2013).

Na Instrução Normativa nº 10, de 11 de abril de 2013, da Secretaria de Defesa Agropecuária, define-se o programa de gestão de risco diferenciado, baseando-se em vigilância epidemiológica e adoção de vacinas para estabelecimentos avícolas considerados de maior susceptibilidade à introdução e disseminação de agentes patogênicos no plantel avícola nacional e para estabelecimentos avícolas que exerçam atividades que necessitam de maior rigor sanitário (BRASIL, 2013)

Os estabelecimentos avícolas de corte e de postura comercial não adequados aos procedimentos de registro, de acordo com legislação vigente, descrito no artigo 1º desta Instrução Normativa devem ser submetidos à vigilância epidemiológica dos seus plantéis avícolas para *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*, com colheitas de amostras para a realização de testes laboratoriais. Os estabelecimentos avícolas de postura comercial devem manter alojadas somente aves vacinadas, com vacinas vivas, para *Salmonella Enteritidis*. A vacina deve ser aplicada no incubatório ou na fase de recria das aves (BRASIL,2013)

Para fins de vigilância epidemiológica para *Salmonella spp.*, os estabelecimentos avícolas de que trata esta Instrução Normativa serão submetidos a colheitas regulares de amostras para a realização de testes bacteriológicos de isolamento e tipificação, além dessas colheitas, o serviço veterinário oficial pode determinar a realização de colheitas aleatórias. Tais colheitas podem ser feitas a qualquer momento mesmo que desrespeitando o cronograma de colheitas do

estabelecimento, que devem ser realizadas de quatro em quatro meses (BRASIL, 2013)

Em casos de diagnóstico positivo para os agentes etiológicos *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Gallinarum ou *Salmonella* Pullorum, os mesmos devem ser encaminhados imediatamente pelo laboratório ao serviço veterinário estadual e ao Serviço de Saúde Animal da Superintendência Federal da Agricultura - SFA, onde se localiza o estabelecimento, em formulário padronizado pelo Mapa (BRASIL,2013).

Para núcleos de postura comercial ou que alojam quaisquer aves criadas para a produção de ovos para consumo, os diagnósticos positivos também devem ser encaminhados imediatamente pelo laboratório ao serviço de inspeção de produtos de origem animal da SFA (BRASIL, 2013).

Os núcleos que alojam aves de postura comercial devem permanecer em medida de controle sanitário, e devem ser realizados em núcleos de mesma idade: um reteste no lote seguinte no mesmo alojamento, dois retestes no lote que apresentou positividade, com intervalo de oito dias entre as colheitas quando essas aves continuarem alojadas no mesmo núcleo. Caso seja usado antibioticoterapia, quando necessário dois retestes, o primeiro deve ser realizado após o período de carência do princípio ativo utilizado, também devem ser mantidos registros da realização dos tratamentos, para fim de verificação, quando necessário.(BRAZIL,2013)

3. METODOLOGIA

3.1. Coleta de amostras

Este trabalho trata-se de estudo transversal. As amostras foram coletadas no mês de março em uma granja avícola de postura localizada no município de Santa Bárbara do Leste –MG, que ainda não apresenta registro no Serviço Veterinário Oficial.

Foram coletados dois suabes de arraste que abrangeram a área total do galpão e 4 ovos *in natura*. As amostras foram acondicionadas em frascos esterilizados em caixas isotérmicas e imediatamente encaminhadas para o Laboratório de Microbiologia do Hospital Veterinário Gardingo para processamento.

3.2. Preparo da amostra

Aos pro-pés foram adicionados 225 mL de solução salina peptonada 1% tamponada, homogeneizados por 60 segundos e incubados por 1 hora em temperatura ambiente. O conteúdo dos ovos foi separado da casca de forma asséptica e todo ele unido em um único *pool* e adicionado à mesma solução.

3.3 Pré-enriquecimento

O pré-enriquecimento foi realizado por meio da incubação das alíquotas das amostras preparadas conforme item 3.2 a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por, 20 horas.

3.4. Enriquecimento seletivo

A partir do procedimento de pré-enriquecimento estabelecido em 3.3, foi transferido 0,1 mL das amostras pré-enriquecidas para tubos contendo 10 mL de caldo Rappaport Vassiliadis. Os tubos foram incubados a $41 \pm 0,5^\circ\text{C}$, em estufa bacteriológica, por 24 horas.

3.6. Isolamento

A partir dos caldos seletivos de enriquecimento, foram repicados sobre a superfície previamente seca de placas com meio MLCB (Mannitol Lysine Crystal Violet Brilliant Green Agar), estriando de forma a se obter colônias isoladas. Todas as placas foram incubadas invertidas, a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas.

Foram selecionadas de três a dez colônias típicas suspeitas por amostra. Em ágar MLCB, *Salmonella* apresenta-se negra, convexa, lisa e brilhante, com bordas regulares. As colônias de *Salmonella Pullorum* e de *Salmonella Gallinarum* apresentam-se de tamanho pequeno (cerca de 1 mm), de cor azul intensa ou violeta.

3.7. Provas Bioquímicas

As colônias selecionadas foram inoculadas em ágar TSI (Triple Sugar Iron) através de picada profunda. Após incubação a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas. A maioria das

salmonelas não fermenta a sacarose e a lactose, não provocando alterações no meio TSI (que contém esses dois açúcares). Como a fonte de carbono utilizável (glicose) é rapidamente esgotada, a *Salmonella* passa a degradar aerobiamente o substrato proteico do meio, produzindo amoníaco (NH₃), o que confere ao meio um pH alcalino, modificando a coloração do bisel para rosa intenso. A maioria das salmonelas apresenta no TSI as seguintes reações: ácido na base, com ou sem produção de gás. Alcalino ou inalterado no bisel. Adicionalmente bactérias deste gênero produzem sulfeto de hidrogênio identificado pela coloração negra no ágar TSI.

Em adição foram realizados os testes para enterobactérias: de Indol, Vermelho de Metila, Voges Proskauer e Citrato, cujo resultado para *Salmonella* spp. é, respectivamente, negativo, positivo, negativo e positivo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As avaliações bacteriológicas realizadas no *pool* dos ovos e suabe de arrasto revelaram ausência de *Salmonella* spp. nos ovos e presença no suabe. A identificação inicial da *Salmonella* spp. foi observada pela formação de colônias negras, convexas, lisas e brilhantes ao ágar MLCB e confirmada pelos resultados dos testes bioquímicos: indol negativo (anel amarelo), vermelho de metila positivo (coloração avermelhada), Voges Proskauer negativo (ausência de mudança de cor), citrato positivo (coloração azulada) e formação de sulfeto de hidrogênio no ágar TSI (enegrecimento do ágar) apresentados na Figura 1.

No ágar MLCB as colônias de *Salmonella* Pullorum e Gallinarum apresentam cor azul intensa ou violeta, o que sugere a exclusão destes sorovares nas amostras avaliadas, indicando a possibilidade de tratar-se de *Salmonella* Enteritidis e/ou S.Typhimurium. Com tudo, as avaliações feitas neste estudo não permitem a identificação do sorovar, que seria possível por meio de técnicas sorológicas e moleculares.

Os resultados obtidos neste trabalho corroboram com a Instrução Normativa nº 78, de 3 de novembro de 2003, que define que todos os estabelecimentos avícolas devem ser livres de *Salmonella* Pullorum e Gallinarum e livre ou controlado para *Salmonella* Enteritidis e/ou Typhimurium

A identificação de *Salmonella* spp. foi dada com base no crescimento de colônias características em ágar MLCB e no resultado das provas bioquímicas .

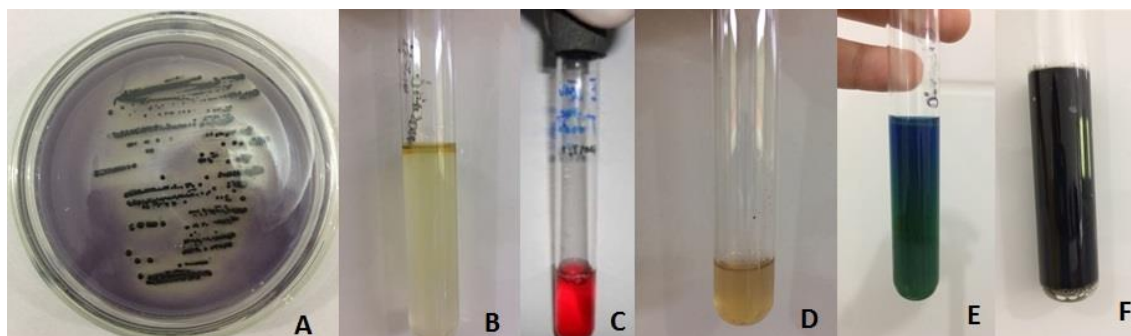


Figura 1: Identificação de *Salmonella* spp. A) Colônias típicas de *Salmonella* spp. em ágar MLCB; B) Teste do Indol; C) Vermelho de Metila; D) Voges Proskauer E) Citrato F) Ágar TSI.

Os resultados da avaliação dos ovos encontram-se em conformidade com a portaria nº1, de 21 de fevereiro de 1990, no Mapa que dispõe sobre a inspeção de produtos de origem animal. Tal portaria estabelece que os ovos devem ser totalmente livres de qualquer microrganismo, devem passar pela ovoscopia e uma análise laboratorial para a realização de controle físico-químico e microbiológico do ovo e seus derivados (BRASIL, 1990)

Corroborando com este estudo, Lopes *et. al.* (2016) não detectaram crescimento de *Salmonella* spp. em 60 amostras de ovos avaliadas. No trabalho de Perdoncini *et. al.* (2014) ao analisarem amostras de ovos e suabe de arrasto nos ninhos, observaram a presença de *Salmonella* spp. somente do suabe, com ausência de crescimento nas amostras de ovos.

Trosdtolf *et. al.* (2016) relatam que a probabilidade de se constatar presença de *Salmonella* Enteritidis na gema do ovo é de 1 para cada 10.000 e que em suas avaliações realizadas em 108 amostras de ovos de granjas do município de Cascavel – PR, não houve resultado positivo para *Salmonella* spp. Já Oliveira e Silva (2000) descrevem que nas amostras de casca e gema dos ovos avaliados, foi identificado *Salmonella* Enteritidis e relatam que a presença desse sorovar no interior dos ovos pode ser resultante da migração da bactéria da casca para a gema após a postura. Também esclarecem que as condições de tempo e temperatura de armazenamento influenciam na penetração das bactérias pelos poros existentes na casca dos ovos.

Gama (2001) também apresenta resultados semelhantes aos obtidos por este estudo, pois revela que houve o isolamento de *Salmonella* Enteritidis em amostras das caixas de transporte das aves e conclui que, em todas as idades, elas podem ser

acometidas dessa bactéria. Além disso, se lotes positivos forem alojados no primeiro dia de vida, permanecem infectadas até a fase adulta, produzindo ovos contaminados.

Já no estudo realizado por Oliveira e Taham (2011) em seis amostras de ovos, avaliadas a cada mês durante três meses, mostraram que no primeiro mês foram isoladas *Salmonella* spp. em todas as amostras, já nos dois meses seguintes, nenhuma dessas apresentou presença de *Salmonella* spp., resultando em 33,33% de presença de *Salmonella* spp. nos ovos, uma elevada ocorrência deste patógeno, uma vez que a legislação exige sua ausência completa.

No artigo 3º da portaria nº 531 do IMA (2002) é definido que os ovos de consumo, em trânsito, no Estado de Minas Gerais devem ser provenientes de estabelecimentos sob inspeção federal ou estadual.

Quando as aves e os ovos forem oriundas de estabelecimentos comerciais não registrados no Serviço Veterinário Oficial, estes estarão submetidos ao monitoramento de seus plantéis para salmonelas, de acordo com a instrução normativa nº10/12, assim, deve constar no campo da seguinte forma: “Estabelecimento sob monitoramento ,de acordo com a IN Nº10/12”, na GTA (BRASIL,2018).

Desta forma o estabelecimento avaliado encontra-se em conformidade com a legislação vigente, sendo viável seu registro junto ao Serviço Veterinário Oficial.

5. CONCLUSÃO

Foram encontradas colônias de *Samonella* spp. apenas em amostras colhidas por suabe de arrasto, estando ausente nos ovos. Os resultados sugerem a exclusão da infecção pelos sorovares de *Salmonella* Gallinarum ou *Salmonella* Pullorum, indicando a presença de *Salmonella* Enteritidis e/ou *Salmonella* Typhimurium, para os quais a legislação permite o tratamento e monitoramento do núcleo.

6. REFERÊNCIAS

AMSON, G. V.; HARACEMIV, S. M.C.; MASSON, 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. **Ciênc. agrotec.** vol.30 no.6, Lavras Nov./Dec. 2006.

ANDREATTI FILHO, R.L.; GONÇALVES, G. A. M.; OKAMOTO, A. S.; LIMA, E. T. Comparação De Métodos Para Extração de Dna na Reação em Cadeia da Polimerase para Detecção de *Salmonella* Enterica Sorovar Enteritidis em Produtos Avícolas. **Ci. Anim. Bras., Goiânia, v. 12, n. 1, p. 115-119, jan./mar. 2011**

ANDREATTI FILHO, R.L. Salmonelose aviária. **Memorias, 5ª reunion AECACEM.** Querétano, Mexico, marzo, 2012.

ABPA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL, **Relatório Anual da ABPA 2017.** Disponível em: <http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais> Acesso em: 06/07/2018

BRASIL, Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Secretaria De Defesa Agropecuária Departamento De Saúde Animal. **Manual de legislação programas nacionais de saúde animal do brasil.** Brasília, DF. 2009

BRASIL, Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Secretaria De Defesa Agropecuária Departamento De Saúde Animal. **Manual de preenchimento para emissão de guia de trânsito animal de aves e ovos férteis com finalidade de produção de carne, ovos e material genético.** Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/transito-animal/arquivos-transito-internacional/ManualGTAvesdeProduverso8.0.pdf> Acesso em 06/07/2018

BRASIL, Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento De Saúde Animal. **MANUAL DO SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÃO ZOSSANITÁRIA - SIZ.** Brasília, novembro de 2013.

BRASIL, Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria De Defesa Agropecuária. **INSTRUÇÃO NORMATIVA nº10**, 11 de abril de 2013.

BRASIL, Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria De Defesa Agropecuária. **INSTRUÇÃO NORMATIVA nº78**, de 3 de novembro de 2003

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **INSTRUÇÃO NORMATIVA nº 56**, de 4 de dezembro de 2007.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **PORTARIA Nº 1**, de 21 de fevereiro de 1990.

CARDOSO, A. L. P. Prevalência de Salmonella Enteritidis Isolada de Suabes de Arrasto em Granjas de Frango de Corte. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, São Paulo, n.20, jan, 2013.

CARDOSO, A. L. P.; TESSARI, E. N. C. Salmonela na Segurança dos Alimentos. **Instituto Biológico**, São Paulo, v.70, n.1, p.11-13, jan./jun, 2008.

CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C.; CASTRO, A. G. M. Estudo hematológico em aves inoculadas com *Salmonella Gallinarum*. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.70, n.1, p.35-42, jan./mar., 2003.

FERREIRA JÚNIOR J.A., MELO L.F., KONRADT G., PAVARINI S.P. & FIGUEIREDO E.B. Salmonelose entérica e poliserosite em macuco (*Tinamus solitarius*). **Pesquisa Veterinária Brasileira** 36(Supl.2):54-56 .2016.

GAMA, N.M.S.Q. *Salmonella* spp EM AVES DE POSTURA COMERCIAL. **Dissertação de Mestrado Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária Câmpus de Jaboticabal**. Jaboticabal-SP, 2001.

IBGE. Produção de ovos de galinha no Brasil cresce 5,8% em 2016 e atinge recorde. **Disponível em** <http://revistagloborural.globo.com/Noticias/Criacao/Aves/noticia/2017/03/producao-de-ovos-de-galinha-no-brasil-cresce-58-em-2016-e-atinge-recorde.html>. Acessado em 29/09/2017

IMA (INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA). **PORTARIA Nº 531**, de 29 de agosto de 2002.

KOWALSKI, L.H.; FERNANDES, S.R.; SILVA, A.P.; BREDT, R.C.; CRUZ, T.A.; SILVA, M.G.B. Salmoneloses emergentes de origem aviária. **PUBVET**, Londrina, V.5, N. 34, Ed. 181, Art. 1221, 2011.

LOPES, V.C.; MOTTIN, V.D.; DAMASIO, J.M.A. Contaminação por *Salmonella* em ovos de granja e caipira em um município do interior da Bahia. **C&D-Revista Eletrônica da Fainor**, Vitória da Conquista, v.9, n.1, p.150-157, jan./jun. 2016

MOMESSO, N. N.; LANZIOTTI, R. S.; CAPRONI, P. R. R.; SOUZA, L. H.; ANDRADE, M. C. Estudo da Contaminação Microbiana no Preparo de Fórmulas Lácteas Infantis em Lactário de um Hospital Universitário do Sul de Minas Gerais. **Revista Ciências em Saúde** v6, n 3, 2016.

MORAES, D.M.C. **Investigação bacteriológica e molecular de salmonella sp. em granjas de postura comercial**. Tese de Doutorado UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS. Goiânia. 2014.

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. **Rev HCPA** 2010

OLIVEIRA, D.C.V. **Produção de biofilme por Salmonella sp. isolada de frango**. Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, UNESP – Botucatu. Universidade Estadual Paulista, 75f., 2011.

OLIVEIRA, D.D.; SILVA, E.N. Salmonela em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 6, p. 655-661, 2000.

OLIVEIRA, V.L.; TAHAM, T. Pesquisa de *Salmonella* spp. em ovos comercializadas na Região do Distrito Federal. **Cadernos de Pós-Graduação** da FAZU, v.2, 2011.

PALMA, J. M. **Caracterização molecular de cepas de Listeria monocytogenes oriundas de corte bovino e abatedouros frigoríficos de bovinos localizado no distrito federal**. Dissertação de Mestrado em Saúde Animal. Universidade de Brasília, Brasília / DF / 2016.

PANDINI, J. A.; PINTO, F. G. S.; MULLER, J. M.; WEBER, L. D.; MOURA, A. C. Ocorrência e perfil de resistência antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de aviários do Paraná, Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.XX, n.X, p. 1-6, 2014.

PERDONCINI, G.; FERREIRA, J. I.; LIMA, L. M.; ROCHA, D. T.; TEJKOWSKI, T. M.; PINTO, A. T.; NASCIMENTO, V. P. *Salmonella* spp. em ovos produzidos em sistema agroecológico. **Revista Agrocientífica**, v.1, n.1, p.33-42, jan./jun., 2014.

RODRIGUES, W. O. P.; GARCIA, R. G.; NÄÄS, I. A.; ROSA, C. O.; CALDARELLI, C. E. Evolução da Avicultura de Corte no Brasil. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.10, n.18; p.1668, 2014.

SAVARIZ, Alan; D'AGOSTINI, Fernanda Maurer; DEGENHARDT, Roberto. Epidemiologia Dos Surtos De Salmonelose No Brasil: Revisão De Literatura. **XXIII Seminário de Iniciação Científica, SIEPE**, 2017.

SILVA, B. R. T. C.; PESSOA, N. O. Botulismo por *Clostridium botulinum* na intoxicação alimentar animal e humana. Uma Revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal** (v.9, n.4), 2015.

SILVA, E. P.; SILVA, G. M.; NORBERG, A. N.; OLIVEIRA, J. T. M.; HELENA, A. A. S.; SANCHES, F. G.; FREIRE, N. M. S. Análise Qualitativa e Quantitativa de Produtos de Confeitarias Comercializados na Região da Baixada Fluminense, Estado do Rio de Janeiro, Brasil, quanto à Poluição por *Staphylococcus aureus*. **Revista Saúde Física & Mental- UNIABEU** v.3 n.2. Agosto-Dezembro, 2013.

SOUSA, C. P. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. **Revista APS**, v.9, n.1, p. 83-88, jan./jun. 2006.

TEIXEIRA, L.C.; LIMA, A.M.C. Ocorrência de *Salmonella* e *Listeria* em carcaças de frango oriundas de dois sistemas de criação no município de Campinas, SP. **Archives of Veterinary Science**, Campinas, v.13, n.3, p.191-196, 2008.

TROSDTOLF, S.A.; PEDER, L. D.; SILVA, C. M. **Pesquisa de salmonella spp. Em gema de ovos comercializados nas feiras livres de Cascavel-PR**. Trabalho de Conclusão de Curso, FACULDADE ASSIS GURGACZ, 2015.

VASCONCELLOS, G. S. F. M.; HAMATY, M. H. R. C.; NASCIMENTO, R. S. Surtos de Salmonelose em Produtos de Origem Aviária. **VPS 0425 – Gerenciamento em Saúde Animal e Saúde Pública**, São Paulo – SP, novembro/2014.

VIEIRA, N. M.; DIAS, R. S. Uma abordagem sistêmica da avicultura de corte na economia brasileira. CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA E SOCIEDADE RURAL, 43, 2005, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: SOBER, 2005.

SAVARIZ, Alan; D'AGOSTINI, Fernanda Maurer; DEGENHARDT, Roberto. Epidemiologia Dos Surtos De Salmonelose No Brasil: Revisão De Literatura. **XXIII Seminário de Iniciação Científica, SIEPE**, 2017.

LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA: RELATO DE CASO DE UM CÃO ATENDIDO EM MANHUAÇU-MG

Acadêmicas: Aléxia Carla de Oliveira Palha e Luana Estanislau Prata

Orientador: Rogério Oliva Carvalho

RESUMO

A leishmaniose visceral é uma doença causada por protozoários do gênero *Leishmania*, por meio da picada da fêmea do flebotomíneo *Lutzomya*. A doença tem grande importância na saúde pública, pois é uma zoonose e pode levar tanto o animal quanto o ser humano a óbito. O objetivo deste trabalho foi relatar o caso de um cão diagnosticado com leishmaniose visceral no Município de Manhuaçu-MG. O animal apresentou sinais clínicos, como êmese, apatia e emagrecimento. Foram feitos exames de rotina, hemograma, perfil renais e bioquímicos e sorológicos, RIFI e ELISA. O tratamento instituído incluiu, entre outros medicamentos, o Milteforan, fármaco aprovado recentemente para tratar a doença no Brasil. Após o tratamento, apesar de ainda apresentar algumas alterações nos exames laboratoriais, o animal não apresentou mais sinal clínico. Para se confirmar a cura e eficácia são necessários novos exames.

PALAVRAS-CHAVE: leishmaniose; cão; zoonose; Zona da Mata.

1. INTRODUÇÃO

As leishmanioses tegumentar e visceral são consideradas zoonoses, pois podem acometer o homem, quando este entra em contato com o ciclo de transmissão do parasito (SAÚDE, 2006). São causadas por protozoários do gênero *Leishmania* (Amaral, 2014). A forma de transmissão de ambas é por meio da picada dos vetores, que pertencem a diferentes espécies (SAÚDE, 2007).

A Leishmaniose Visceral é de grande importância para a saúde pública pela sua magnitude, relevância e pouca vulnerabilidade às medidas de controle. Encontra-se presente nas cinco regiões brasileiras, sendo que os casos em humanos e caninos têm aumentado significativamente nas áreas urbanas (SOARES, 2012). Esse fato é devido ao intenso processo migratório do campo para a cidade, aumento da interação de animais silvestres com os animais domésticos em decorrência do processo de desmatamento e a adaptação do vetor (BARÇANTE, 2015). A forma tegumentar da doença tem caráter infeccioso, acomete pele e mucosas (SAÚDE, 2010) e assim como ocorre com a Visceral, também têm deixado de ser uma zoonose de animais silvestres e têm ocorrido casos em zonas rurais desmatadas e regiões periurbanas (BARRETTO, 1981; SAÚDE, 2000).

O objetivo deste trabalho é relatar um caso de Leishmaniose Visceral em um cão atendido em uma Clínica Veterinária na cidade de Manhuaçu-MG.

Trabalhos como este são importantes já que as Leishmanioses são consideradas um grande problema de saúde pública e possuem importante espectro clínico e diversidade epidemiológica (SAÚDE, 2007).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. ETIOLOGIA

A Leishmaniose é causada por protozoários do gênero *Leishmania*, sendo classificada em Visceral e Tegumentar. A forma visceral é causada pela espécie *Leishmania (Leishmania) chagasi* e a forma cutânea podem ser causadas pelas espécies *L. (Viannia) braziliensis*, *L. (L.) amazonenses* e *L. (V.) guyanensis* (SAÚDE, 2007).

2.2. VETORES E TRANSMISSÃO

A transmissão ocorre por meio da picada da fêmea do gênero *Lutzomyia* (BANITH *et al.*, 2008). Seu ciclo de vida compreende 4 fases de desenvolvimento: ovo, larva, pupa e adulto. As fêmeas colocam seus ovos sobre local úmido, rico em matéria orgânica, garantindo assim a alimentação das larvas (SAÚDE, 2006).

Os ovos eclodem 7 a 10 dias após a postura. A fase larval normalmente dura entre 20 a 30 dias. Após esse período, se transformam em pupas. Estas tendem a permanecer imóveis e fixas ao substrato, pela extremidade posterior. Este período dura em média 2 semanas. Do ovo ao inseto adulto decorrem aproximadamente 30 a 40 dias (SAÚDE, 2006).

Na Leishmaniose Tegumentar, a espécie do vetor varia de acordo com a espécie da *Leishmania*. A *L. amazonenses* tem como vetor a *Lutzomyia flariscutellatta*, *L. reducta*. A *L. guyanensis* tem como vetor a *L. anduzei*, *L. whitmani*, *L. umbratilis*. A *L. braziliensis* pode ser transmitido pelo *Psychodopigus wellcomei* é encontrado na área silvestre e *L. intermedius*, *L. migonei* e *L. whitmani* em ambientes rurais e peridomiciliados. (SAÚDE, 2007). Já os vetores da Visceral podem ser de 2 espécies, *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia Cruzi* (SAÚDE, 2006).

2.4. RESERVATÓRIOS

Na Leishmaniose Visceral o cão doméstico é considerado o principal reservatório urbano da doença (SCHIMMING, 2012), pois tem alta prevalência da infecção, que pode chegar até 40% da população em determinadas áreas. Além disso, há um grande número de animais assintomáticos, cerca de 80%, o que o torna uma fonte vasta para o flebótomo (PACHECO *et al.*, 2013). No ambiente silvestre, as raposas (*Discyon vitulus*) e os marsupiais (*Didelphis albiventris*) são os principais reservatórios (SAÚDE, 2010).

A Leishmaniose Tegumentar apresenta reservatórios silvestres, como os roedores, marsupiais, edentados e canídeos silvestres. Os animais domésticos são considerados hospedeiros acidentais (SAÚDE, 2007).

2.5. EPIDEMIOLOGIA

O Brasil é responsável por mais de 90% dos casos de Leishmaniose Visceral que são relatados na América Latina e a doença está presente em todas as regiões brasileiras. Os principais focos conhecidos são encontrados nas regiões semiáridas do Nordeste, parte do Sudeste e Centro-Oeste. Em Minas Gerais, a maior incidência de Leishmaniose Visceral ocorre na região metropolitana de Belo Horizonte, Vales do Jequitinhonha e Doce e São Francisco. (MICHALICK *et al.*, 2016).

Um estudo realizado com cães na cidade de Belo Horizonte, demonstrou uma diferença significativa entre machos e fêmeas positivos para Leishmaniose Visceral. Embora as fêmeas tivessem em proporção maior no estudo, a prevalência de Leishmaniose foi maior em machos, sendo 32,9% contra 29,9%. A própria autora associou esse resultado ao fato de que os machos desempenham o papel de guarda nos domicílios ao anoitecer e, dessa forma, ficam mais expostos ao vetor (PAPA, 2010).

A distribuição da leishmaniose tegumentar está relacionada à distribuição dos insetos vetores. Porém, os ciclos de transmissão estão mais ligados ao movimento dos reservatórios mamíferos do que dos vetores, sendo a ecologia dos reservatórios fatores determinante para traçar o perfil epidemiológico da doença (GONTIJO e REIS, 2016).

2.6. CICLO

A fêmea do flebotomíneo injeta formas promastigotas na pele do hospedeiro, enquanto se alimenta. Posteriormente, as promastigotas são fagocitadas pelos macrófagos, acumulando-se em fagolisossomas, mas não são destruídas por eles. No interior do macrófago os promastigotas perdem seu flagelo e tornam-se amastigotas. Estas vão destruir os macrófagos e infectar novas células ao redor. A infecção vai progredir da pele para órgãos mais internos do hospedeiro por meio da migração de macrófagos infectados ou das formas amastigotas isoladas pelo sistema vascular. O flebotomíneo se infecta ao ingerir formas amastigotas, no momento em que se alimenta do hospedeiro infectado. Dentro do intestino do inseto, as amastigotas tornam-se promastigotas. Estas migram para o aparelho bucal do flebotómo que, ao se alimentar, injeta promastigotas no hospedeiro e assim um novo ciclo biológico se inicia (MARQUES, 2008).

2.7. PATOGENIA

No que diz respeito à Leishmaniose Visceral, o período de incubação é variável tanto para o ser humano quanto para o cão. No homem varia de 10 a 24 meses, com média de 2 a 6 meses; no cão varia de 3 meses a anos, com média de 3 a 7 meses (SAÚDE, 2010). Já a Tegumentar varia de 2 semanas a 3 meses, segundo observações realizadas no Brasil (GONTIJO e REIS, 2016).

2.8. SINAIS CLINICOS

Os sinais clínicos podem variar de acordo com diversos fatores, como o estado nutricional, a resposta imune à infecção do animal e a espécie do parasita envolvido (COURO-VITAL, 2011).

Quanto às manifestações clínicas, os cães podem ser classificados em: assintomáticos, oligossintomáticos e sintomáticos, sendo o primeiro a ausência de sinais clínicos e os últimos até três sinais e mais de três sinais, respectivamente (SONODA *et.al.*, 2013).

Nos cães que manifestam sinais clínicos, pode-se relatar linfadenomegalia generalizada, descamação da pele, perda de apetite e, conseqüentemente, de peso, pelagem opaca e alopecia com espessamento na extremidade da orelha. À medida que doença evolui, a alopecia pode se estender para toda a cabeça e, de maneira

acentuada, para a região periorbital ou generalizada para o focinho e as extremidades (MICHALICK *et.al.*, 2016).

As lesões renais são frequentes nesta doença e podem evoluir para síndrome nefrótica ou insuficiência renal crônica. A falência renal ocorre de maneira progressiva e é a causa da morte de muitos animais. (MICHALICK *et al.*, 2016).

Na forma tegumentar, os primeiros sinais costumam ser uma pápula eritematosa, evoluindo para um nódulo. Pode ocorrer adenopatia regional com presença ou não de linfagite. As lesões podem se apresentar ulceradas, com bordas elevadas e tecido de granulação. Pode evoluir para uma cura espontânea ou progredir para lesões em mucosa, por via hematogéna e/ou linfática do parasito (BARCELLOS 2013).

2.9. DIAGNÓSTICO

Dentre os exames possíveis de serem feitos, têm-se o parasitológico, que se baseia na demonstração do parasito. Deve ser pesquisado em órgãos linfoides, como no baço e linfonodos. A sensibilidade quando é realizado com a medula óssea é de 60% e decresce para 30 a 40% quando feito com linfonodos. (MICHALICK *et al.*, 2016). Sua especificidade é de 100% (GONTIJO MELO, 2004).

A técnica molecular engloba o exame de PCR (Proteína C Reativa) que apresenta alta sensibilidade e especificidade e pode ser feito em sangue periférico, aspirado de medula óssea, linfonodo ou fragmento de pele. (MICHALICK *et al.*, 2016). O PCR é um método baseado na identificação de uma região do DNA do parasito para se desenvolver oligonucleotídeos iniciadores que em temperatura e Ph ideais misturam-se na região escolhida, levando à amplificação exponencial desse fragmento (SOLCÁ, 2012).

Os métodos sorológicos, RIFI (Imunofluorescência Indireta) e ELISA (Enzyme Linked Immunono Sorbent Assay), visam detectar os anticorpos anti-*Leishmania* e são essenciais para o diagnóstico de Leishmaniose Visceral Canina. De um modo geral, apresentam de 80 a 98% de sensibilidade. Porém tem baixa especificidade e podem ocorrer reações cruzadas caso os cães estejam infectados com *Trypanossoma* e outras espécies de *Leishmania*. (MICHALICK *et al.*, 2016).

O teste de ELISA é o método convencional para o diagnóstico de leishmaniose visceral. É uma técnica executada de maneira fácil e rápida, porém menos específica

que a RIFI e que mais sensível. Sendo ele sensível, para identificar baixo número de anticorpos, mas com pouca precisão em casos de animais que não apresentam sintomas. (LACHAUD *et al.*,2002).

2.10. TRATAMENTO

Apesar de existirem fármacos com potencial terapêutico para Leishmaniose Visceral Canina, estes estão destinados somente para o tratamento em humanos — uma vez que o Ministério da Saúde e o MAPA, em julho de 2008, por meio da portaria interministerial n° 1426, proibiram o tratamento dos cães doentes ou infectados com as drogas já existentes ou que não estejam registrados no MAPA. Isso porque não existe nenhum esquema terapêutico ou fármaco que garanta a eficácia do tratamento no cão, bem como a redução do risco de transmissão e, com isso, há a possibilidade de esses animais se tornarem fonte de infecção para o vetor. Há também a questão do surgimento de resistência aos medicamentos utilizados para tratar a doença em seres humanos (SAÚDE, 2008).

Os fármacos já existentes e que poderão ser utilizados nos cães, caso sejam autorizados e aprovados pelo MAPA, são: antimoniais, alopurinol, aminosidina, pentamidina, anfotericina B, marbofloxacina, miltefosina e nimadipina (ARTACHO, 2009).

O mecanismo de ação da miltefosina sobre a *Leishmania*, primeiramente, interfere na membrana celular, modula a composição lipídica, a permeabilidade e sua fluidez, assim como o metabolismo de fosfolípidos (CASTRO, 2011).

No tratamento da forma cutânea, pode-se usar o antimonial pentavalente, que se encontra em 2 tipos: N-metilglucamina e Stilbogluconato de sódio. Caso não haja uma resposta satisfatória, tem-se a opção de utilizar o Anfotericina B associado ao Isotionato de Pentamidina (SAÚDE, 2007).

2.11. PREVENÇÃO E CONTROLE

Como forma de prevenção da Leishmaniose Visceral, nos cães, existem as vacinas e as coleiras impregnadas com deltametrina. A primeira vacina foi desenvolvida pela equipe da UFRJ e foi aprovada e comercializada em 2004 (GUIMARAES, 2013). Mais de 150 mil cães puderam ser imunizados com a vacina em todo país (FEITOSA, 2011), até que, em novembro de 2014, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento suspendeu a licença de fabricação e

comercialização da vacina, sob a justificativa de que esta não estava de acordo com o Regulamento Técnico para Pesquisa, Desenvolvimento, Produção, Avaliação, Registro e Renovação de Licenças, Comercialização e Uso da vacina contra Leishmaniose Visceral Canina, aprovado pela instrução Normativa Interministerial nº 31/2007 (JÚNIOR LEANDRO, 2014).

De acordo com a nota publicada, a vacina não atendeu completamente aos registros para estudo na fase 3 — que se refere à avaliação da eficácia vacinal — descritos no regulamento citado acima, conforme análises feitas pelo MAPA e Ministério da Saúde. Foi recomendada, também, a descontinuidade do seu uso nos protocolos vacinais (JÚNIOR LEANDRO, 2014).

Passados alguns anos, foi aprovada outra vacina antileishmaniose: Leish Tec. Desta vez, todas as exigências contidas na Instrução Normativa foram realizadas, conforme está descrito no Manual Técnico da vacina (HERMONT, 2008).

De acordo como fabricante, a vacina não tem caráter curativo, portanto deve ser aplicada somente em animais não infectados com a Leishmania. Por isso, antes de ser iniciado um protocolo vacinal para Leishmaniose, é imprescindível a realização de um teste sorológico (HERMONT, 2008).

Quanto às medidas de controle, tem como objetivo principal interromper o ciclo da doença. Dentre as medidas de profilaxia, a de fazer o controle do vetor tem se mostrado eficaz, devendo ser feita tanto no ambiente quanto no animal. No ambiente, recomenda-se borrifar inseticidas à base de piretroides, remover qualquer espécie de matéria orgânica e manter o ambiente limpo (HERMANT, 2008).

Já nos cães, têm-se as coleiras impregnadas com Deltametrina, mas existem também inseticidas tópicos, repelentes naturais ou incorporados em loções. Eles exercem função repelente e letal sobre o flebotomíneo, de forma a minimizar a ocorrência do repasto sanguíneo e, conseqüentemente, a infecção dos animais (HERMONT, 2008).

3. RELATO DE CASO, RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi atendido em uma Clínica Veterinária em Manhuaçu-MG um cão da raça Golden Retriever de 5 anos, pesando 30 quilos. A queixa inicial era que o animal apresentava alguns episódios de êmese e secreção ocular purulenta excessiva. Também foi relatado, pela tutora, que houve episódios de diarreia — o que já havia

acontecido há alguns meses e foi tratado com probiótico prescrito pelo médico veterinário. A ingestão de água e alimento não apresentou alterações.

Fighera *et al.* (2003) relataram, em uma avaliação feita com 11 cães, que, entre os sinais clínicos mais frequentemente observados, o vômito estava presente.

Em um estudo realizado no Maranhão, foram avaliados 420 cães domiciliados no Município de Imperatriz e demonstrou-se que 25% dos cães apresentaram diarreia como sinal clínico (BRAGA *et.al.*, 2015).

Ao verificar as vacinas de virose, o médico veterinário constatou que elas estavam desatualizadas, assim como o vermífugo. Verificou também que o animal não havia tomado as vacinas referentes à Leishmaniose.

No exame físico, foi observado que o animal estava magro, apático, apresentava pelo opaco e seus olhos apresentavam secreção no momento da avaliação. Seus parâmetros vitais (frequência cardíaca: 140 bpm, frequência respiratória: 34 mm, TPC: <2) estavam dentro do intervalo de referência para a espécie (FEITOSA, 2014).

Em uma avaliação do quadro clínico de 61 cães infectados com *Leishmania chagasi*, na Bahia, demonstrou-se que 53,9% — positivos na sorologia (ELISA) — apresentaram algum tipo de alteração ocular como ceratite, ceratoconjutivite seca, blefarite e conjutivite. (AGUIAR *et.al.*, 2007).

Kussler *et.al.* (2011) relatam que, entre os sinais clássicos da Leishmaniose Visceral, está a presença de pelo opaco e na fase mais avançada o animal pode se encontrar apático.

Em uma avaliação feita com 40 caes portadores de Leishmaniose Visceral no município de Belo Horizonte-MG, demonstrou-se que 33,3 % apresentaram, como um dos sinais clínicos da doença, a perda de peso (LIMA, 2007).

Diante da situação exposta pela tutora durante anamnese, os sinais clínicos e a não vacinação do animal foi solicitado hemograma completo, perfil bioquímico (alanina aminotransferase-ALT, aspartato aminotransferase- AST, ureia e creatinina), RIFI e ELISA para Leishmaniose Visceral. Para a realização do hemograma e bioquímico, foi coletado sangue da veia cefálica. Uma parte foi acondicionada em tubo com EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) e a outra em tubo sem anticoagulante.

Para os exames sorológicos, foram coletados 4 ml sangue da veia cefálica. Foi armazenado em tubo contendo anticoagulante e, posteriormente, encaminhado

para o laboratório para serem feitas as análises. Foi prescrito Oxitetraciclina pomada (24/24 horas) durante 3 dias para ser aplicado na pálpebra inferior e Metaclopramida 0,5 mg/kg (8/8 horas) 4 gotas, durante 4 dias, via oral.

O primeiro fármaco foi prescrito para tratar a secreção ocular, pois tem ação sobre bactérias Gram + e Gram – (FLOWER *et.al.*, 2016). Já a Metaclopramida atua estimulando a motilidade do trato gástrico superior e tem ação antiemética (PAPICH, 2012). No presente caso foi utilizada para tratar a êmese. A dosagem recomendada é de 0,2 a 0,4 mg/kg, a cada 6 a 8 horas, por meio das seguintes vias de administração: via oral, intramuscular e subcutânea (SPINOSA, *et.al.*,2017).

Após 20 dias, o cão retornou para uma nova avaliação. A tutora afirmou que a secreção ocular já não estava presente, assim como a êmese. Ao ser realizado um novo exame físico, foi constatado alopecia na cauda que, segundo a responsável, havia surgido há uns 10 dias e que o animal parecia não apresentar prurido no local.

A alopecia está entre os principais sinais clínicos dermatológicos da Leishmaniose Visceral (MIYAGUI *et.al.*, 2008). A perda de pelos pode ser causada por 3 motivos: ação direta da *Leishmania* no folículo piloso, distúrbio do metabolismo do ácido pantotênico em decorrência de lesões hepáticas ou, ainda, devido à deposição de imunocomplexos na pele, que induzem a um processo autoimune que culmina em alopecia (MICHALICK *et.al.*, 2016). Esta alteração é relatada também por Kusller *et.al.* (2011).

Quanto aos exames sorológicos, ambos deram reagentes para Leishmaniose RIFI: 1/80 (VR: >1:40) ELISA: 0,362 (VR: > 217). Têm-se como métodos convencionais para diagnóstico de Leishmaniose Visceral, os testes sorológicos RIFI (reação de imunofluorescência indireta) e ELISA (ensaio imunoenzimático) e para realizá-los pode-se utilizar soro (SAÚDE, 2006).

No hemograma demonstrou hematócrito baixo 35% (VR: 37 a 55%). Entretanto, apesar de estarem normais, os valores de VGM 75fl demonstram anemia normocítica normocrômica (VCM: 60 a 77f/l, CHGM: 32 a 36%). Resultado semelhante foi encontrado em um trabalho realizado em Aracaju. Nele, a maioria dos cães (18/25) apresentou anemia não regenerativa (ANDRADE *et.al.*, 2014). Em um levantamento feito no Hospital Veterinário de Sobral, demonstrou-se que 60% dos animais avaliados apresentaram anemia normocítica e hipocrômica, também não regenerativa. (SA; LEITE, 2013).

Um estudo feito no Hospital Veterinário de Uruguiana-RS, demonstrou que cães portadores de Leishmaniose Visceral, quando comparados àqueles que não possuem a doença, apresentam menor valor de hematócrito (MENDES, 2011).

Na Leishmaniose Visceral, a causa mais significativa da anemia é a diminuição na produção de células sanguíneas devido a dois mecanismos: insuficiência renal, que leva à redução de eritropoetina, ou a própria *Leishmania* presente na medula óssea (MENDES, 2011).

No leucograma, leucocitose (19.000/mm³, VR: 6 A 17.000/mm³) por neutrofilia (bastonetes 3005 mm³, segmentados 2.900mm³, VR: 0 a 300/ mm³ e 3.000 a 11.500/mm³, respectivamente). Esses achados podem ser corroborados por um estudo feito com 10 cães machos do Município de Bom Jesus, no qual ambos os grupos (positivos e negativos) apresentaram as mesmas alterações (ALBANO *et. al.*, 2014).

Quanto ao perfil bioquímico, uréia (116 g/dl, VR: 21.4 a 59.92 mg/dl) e creatinina (7g/dl, VR: 0,5 a 1,5 mg/dl), ALT (130 UI/L, VR: 21 a 102 UI/L) e AST (80 UI/L, VR: 23 a 66 U/L) se apresentaram aumentadas quando comparadas a valores de referência (BUSH, 2004). Na literatura, há dados afirmando que a alanina aminotransferase é a que mais frequentemente se altera, mas ambas podem estar acima dos valores de referência em alguns casos (SANTO *et.al.*, 2008). Um estudo feito em Natal – RN, em 2009, demonstrou que 44,4% dos cães classificados como polissintomáticos, apresentaram aumento de ALT e AST (COUTINHO, 2005).

Quanto à avaliação do perfil renal, Borges *et al.* (2011) descrevem que 4 dos 17 cães avaliados em um estudo, realizado em Uberlândia-MG, apresentaram assim como no caso relatado, aumento de uréia e creatinina. Foi observado também, nesse mesmo estudo, animais que apresentaram baixos níveis de ureia e creatinina (7 animais) e houve aqueles que não apresentaram nenhuma alteração renal (6 animais).

Mediante o histórico do animal, associado aos sinais clínicos, alterações dos exames laboratoriais e resultados dos sorológicos, o diagnóstico foi Leishmaniose Visceral Canina.

Diante do quadro, foi instituído o seguinte tratamento: Miltefosina (1 ml/10 kg) 3 ml, via oral, a cada 24 horas, por 28 dias; Alopurinol 300mg (10 mg/kg) 1 comprimido, via oral, a cada 24 horas, uso contínuo; suplemento vitamínico, mineral e aminoácido

(1 comprimido/10 kg) 3 comprimidos, via oral, a cada 24 horas durante 30 dias; solução homeopática de Cantharis, Terebinthium, Berberis Vulgaris, Serum d' anguille, Solidago virgaurea (3 borrifadas/ animal), 3 borrifadas na mucosa, via oral, 8/8 horas por 90 dias; solução de ácido fólico e nicotínico, Pantotenato de cálcio, Vitamina B1, B2, B6, C e K3; Extrato de Mirtilo, Flavonoides, polifenóis, Zinco quelatado, Cobre Quelatado, Ferro Quelatado, Cobalto, Maltodextrina, Frutose e Glicose (0,1 ml/ kg), via oral, 30 gotas, 12/12 horas por 28 dias e uso contínuo da coleira com Deltametrina (25 g). Solicitou-se retorno após 30 dias.

A dosagem da Miltefosina está de acordo com o descrito na literatura (VIANA, 2014). Seu mecanismo de ação consiste em inibir a penetração da *Leishmania* nos macrófagos por meio da interação com os glicosomas e com moléculas de glicosil-fosfatidil-inositol (GPI), muito importantes para a sobrevivência intracelular deste protozoário, além de perturbar a transdução do sinal da membrana da *Leishmania* por meio da inibição da fosfolipase C (DSMPUV, 2007).

A solução composta por diversas vitaminas tem indicação para melhorar a condição corporal dos animais e é importante para a formação das células sanguíneas (VETNIL, 2012).

O medicamento homeopático tem como função estimular o funcionamento dos rins, a fim de promover a recuperação dos néfrons comprometidos (REAL; REZENDE, 2014). Sua eficácia é descrita por Castro *et al.* (2016), segundo o qual cães com insuficiência renal crônica foram tratados com este fármaco e apresentaram melhora nas taxas de uréia e creatinina e no quadro clínico em curto espaço de tempo. Diferentemente da dose utilizada no presente trabalho, foi recomendada 1 borrifada via oral de 8 em 8 horas.

O suplemento vitamínico, mineral e aminoácido tem como finalidade auxiliar no metabolismo de gorduras e proteínas (VETNIL, 2012).

O fármaco Alopurinol tem, entre outras indicações, a função de tratar os sinais clínicos da Leishmaniose. Nesses casos, recomenda-se associá-lo a um antimônio pentavalente, como o antimoniato de meglumina ou ao estibogluconato de sódio (PAPICH, 2012). A dose utilizada neste trabalho é a preconizada por alguns autores, como sendo a dose mínima (PAPICH, 2012; VIANA, 2014). Foi prescrito que o animal utilizasse o medicamento sem previsão do término do tratamento, ao contrário do

descrito por Papich (2012) que recomenda no mínimo 4 e máximo 6 meses de uso do medicamento.

Apesar de esse medicamento ser proibido para tratar a doença em cães, (STHEPHANES; TEMPORÃO, 2008), existem relatos da sua eficácia no tratamento desses animais, conforme demonstrado por Nogueira (2007). Segundo esse estudo, 20 animais com a doença foram submetidos ao tratamento com Alopurinol (10mg/kg, via oral, 12/12 horas) associado à Anfotericina B (0,5 mg/kg, intravenoso durante 1 hora) e Prednisolona (0,5 mg/kg, via oral, 24/24 horas); 17 destes apresentaram, após o tratamento, diminuição na carga parasitária presente na pele, por meio do exame de Imunohistoquímica. Foi observado também melhora clínica relacionada à diminuição da presença do parasita.

Além dos medicamentos, foi recomendado o uso da coleira contendo 25 g de Deltametrina. Esse recurso é utilizado no controle de carrapatos e contra a picada do flebotomíneo transmissor da Leishmaniose (ANDRADE *et.al.*, 2016). O mecanismo de ação da Deltametrina ocorre pela ativação dos canais de sódio dos filamentos nervosos, impedindo sua abertura e fechamento, encurtando a fase despolarizante. Dessa forma, diminui-se o tempo de entrada dos íons de sódio no interior da célula. Outro mecanismo é a ligação da deltametrina aos receptores GABA, bloqueando canais de cloro e sua ativação, o que pode ocasionar hiperexcitabilidade (LOSANO, 2015).

Após 40 dias do término do tratamento com Milteforan, o animal retornou para uma nova avaliação. Naquela ocasião permanecia fazendo uso do Alopurinol e coleira com Deltametrina (25 g). No novo exame físico, observou-se que o animal não tinha mais alopecia na cauda, ganhou peso e sua pelagem já não estava mais opaca. A tutora relatou que, após 15 dias de uso da coleira, o animal começou a apresentar lesões crostosas na região cervical. Mediante a isso, ela fez a remoção da coleira, tratou por conta própria as lesões com pomada antialérgica durante 3 dias o que fez com que as mesmas sarassem e, em seguida, colocou a coleira com 4 g de Deltametrina e 12 g de Propoxur.

O Propoxur pertence à classe dos carbamatos. Seu mecanismo de ação consiste em inibir a acetilcolinesterase. Os artrópodes, quando entram em contato com esta substância, podem apresentar hiperatividade, ataxia, convulsões e paralisia seguida de morte (SANTARÉM; SARTOR, 2017). São considerados menos tóxicos

devido a sua ligação com a acetilcolinesterase ser lentamente reversível (ALHO *et.al.*, 2017). Esse fato pode explicar o porquê de a segunda coleira não ter causado reação ao animal do presente trabalho.

Após 5 meses, o animal retornou apenas para realizar novamente o hemograma e perfil bioquímico (ALT, AST, uréia e creatinina).

O perfil renal, apesar de ter diminuído em relação ao anterior, ainda permanece alto em relação aos valores de referência para a espécie (uréia 113g/dl creatinina 5,10 g/dl). Esse fato pode estar associado à administração contínua do Alopurinol, pois este pode levar a insuficiência renal progressiva (ARAÚJO *et.al.*, 2017). Outra justificativa para esse fato pode ser a deposição de imunocomplexos na membrana basal do glomérulo que pode levar a alterações, como glomerulonefrites (BANETH *et.al.*, 2009).

No hemograma, percebeu-se que, apesar de apresentar uma leve diminuição se comparado ao primeiro exame, o hematócrito (32%) ainda não se encontra no intervalo considerado de referência para a espécie. VGM e CHGM também apresentaram leve redução (70,6 fl e 32.8% respectivamente). Portanto, a anemia normocítica normocrômica se manteve. Esse fato pode ter relação como o mau funcionamento dos rins, pois eles produzem um hormônio denominado eritropoetina, responsável por estimular a produção de hemácias na medula óssea (SANCHES, 2005).

O perfil hepático está dentro dos valores de referência (ALT 27 UI/L, AST 65 U/L).

O leucograma demonstrou melhora nos níveis de leucócitos (7.800 mm³) e a neutrofilia também não se apresenta mais (bastonetes 0 mm³; segmentados 5.772 mm³). Houve discreta eosinopenia (78 mm³). Segundo Ciarlini *et.al.* (2016), a leucocitose está associada à melhora clínica dos animais com Leishmaniose Visceral e o quadro de neutrofilia é uma resposta transitória ligada à fase inicial de maior destruição da *Leishmania*.

A tutora relatou que o animal não apresenta nenhum sinal clínico e permanece com as medicações Alopurinol, solução homeopática e o uso da coleira (4 g de Deltametrina e 12 g de Propoxur) até a conclusão do presente trabalho.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos sinais clínicos, histórico e exames laboratoriais e sorológicos foi diagnosticado um cão com Leishmaniose Visceral Canina no município de Manhuaçu-MG. O tratamento da doença que consistiu na administração do milteforan associado a outros fármacos, resultou em melhora clínica, apesar de o animal ainda apresentar alterações na série vermelha e rins. Necessitando de novos exames e acompanhamento do cão para verificar se não vai haver recidiva.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, R.H.P.; BARROW-MELO, S.T.; BITTENCOURT, D.V.V.; COSTA, R.L.G.; JULIÃO, F. da S.; PINHEIRO, A.A.; SANTOS, W.L. Quadro clínico de cães infectados naturalmente por *Leishmania chagasi* em uma área endêmica do estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Pública**. V.8, n.4, p.283-294,2007.

ALBANO, S.G.C.; ALVES, N.M.; MACHADO, L.P.; RÊGO, G.M.S.do.; SOUSA, R.A.de. Teste rápido imunocromatográfico no diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina no município de Bom Jesus, Piauí. **Centro Científico Conhecer**. 15.11.2014.

ALHO, A.M.; CARVALHO, L.M. MATOS, M.S. Utilização correta de ectoparasiticidas: eis o fim da picada. **ClinicaAnimal**. Disponível: https://dorgo.net./philosophy-of-money.html?wm_source=utilização-correta-de-ectoparasiticidas-eis-o-fim-da-picada. Acessado em: 25/06/18.

ANDRADE, R.L.F.S. de; CARDOSO, P. G. da S.; CONCEIÇÃO, A.M. dos S.; DIAS, V.B.; MORSCHEL, F. Perfil hematológico em cães soropositivos para leishmaniose. **Anais 35º ANCLIVEPA**. Aracaju-SE. 2014. Disponível em: www.infoteca.inf.br/docs/ANC14335.

ARAÚJO, V.A.; AZEVEDO, V.F.; C. THOLINO, N.M.; LOPES, M.P.; PAIVA, E. dos S.; PINHEIRO, G da R.C. Revisão crítica do tratamento medicamentoso da gota no Brasil. **Revista Brasileira de Reumatologia**. 2017. P.346-355. Março. 2017.

ARTACHO, N.S. A Leishmaniose no Brasil e o conflito ideológico: eutanásia ou tratamento? São Paulo, 2009. F.57. Trabalho de Conclusão de Curso do curso de Medicina Veterinária-FMU, Centro Universitário das faculdades metropolitanas unidas.

ASSUNÇÃO, R. M.; OLIVEIRA, C. DI L. PROIETT, F. AUGUSTO. Spatial distribution of human and canine visceral leishmaniasis in Belo Horizonte, Minas Gerais state. Brasil, 1994-1997. **Caderno de Saúde pública**. Rio de Janeiro, V.17, p.1231-1239, 10.01.

BANETH,G.BOURDEAU,R.CARDOSO,L.;FERRER,L.KOUTINAS,A; PENNISI, M.G.; OLIVA,G.; SOLANO-GALLEGO,L. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**. 2009. P.1-18.

BARÇANTE, J.M. de P. Urbanização e Leishmaniose. 19/11/15. Disponível em: pré.univesp.br/urbanização-e-leishmaniose#.Wxh9phnyYom. Acessado em: 01/06/18.

BARCELLOS, M.P. **Uso da furazolidona no tratamento clínico de cães com Leishmaniose Tegumentar Americana**. 2013. F.77. Dissertação de pós-graduação em Ciências Veterinárias, UFES- Universidade Federal do Espírito Santo.

BORGES, A. C.; CASTRO, I. de P. LIMONGI, J.E.; MAGALHAES,G.M.; MEDEIROS,A.P.;MUNDIM,A.V.;NOLETO,P.G.;SOARES,N.P.;SOUSA,M.V.C.de.Níveis séricos de ureia e creatinina em cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi*.**Pubvet**. Londrina, v.5, p.5-8, 2011.

BRAGA, G.M. da S.; COSTA, C.P.S.G. FAUSTINO, S.M. J; FERNANDES, T.F; LIMA, M.V.S.L. Leishmaniose Visceral em cães naturalmente infectados no município de Imperatriz, Maranhão, Brasil. **42º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária e 1º Congresso Sul-Brasileiro da ANCLIVEPA**. Curitiba-PR, n.10/11, p.3-4, 2015.

CAMPINO, L.; CARDOSO, L.; CORTES, S.; MAIA, C.; NEVES, R.; VAZ, Y. Risk factors for canine leishmaniasis in an Mediterranean region. **Veterinary Parasitology**, p.189-196, 2012.

CASTRO FILHO, M.; CINATO, M.F.T.; DEFANTE JÚNIOR, A.; REAL, DR.C.M.; SILVA, R.J. da. **Uso de medicação homeopática no tratamento de cães com insuficiência renal crônica-Relatos de caso**. 2011. Disponível em: gerencieme.sejamaior.com.br/content/conteúdo/vita-vet-distribuidora/files/CBA-PRÓ-RIM-Abril2011.pdf. Acessado em: 31/05/18.

CASTRO, W. **Miltefosina exerce sua ação leishmanicida através do receptor da PAF**. Ouro Preto,2011, F.68. Dissertação,Ciências Biológicas-UFOP.

CIARLINI,P.C;GARCIA,F.A.I.;LIMA,V.M.F.de.;MARCONDES,M.;VALADARES,T.C.L. eucograma e metabolismo oxidativo dos neutrófilos de cães com Leishmaniose Visceral antes e após tratamento com antimoniato de meglumina e alopurinol.**Anim.Bras**.Goiânia.V.11,P.369-375.Abr-Jun.2010.

COURO-VITAL, W.; ESCALDA, P.M. F.; MALAQUIAS COTTAS COSME, L.; MIRANDA, T.M. DE; OLIVEIRA, R.C.; RAMALHO, K. C.; REIS, A.B. Descriptive study of American tegument leishmaniasis in the urban area of the municipality of Governador Valadares. **Revista Pan Amaz-Saúde**, v.2, p.27-35, 2011.

COUTINHO, J.F.V. **Estudo clínico e histopatológico de cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi* com diferentes graus de manifestação clínica**. Natal-RN, p.30-32, 2005.

DVM, P. C.; DVM, M. C. Canine Leishmaniasis clinical and diagnostic aspects. **Compendium on continuing education for the practicing veterinarian**. São Paulo, vol.25, p. 361.2009.

DSMPUV. Anexo I: resumo das características do medicamento. 2007. Disponível em: <http://medvet.dgav.pt/RCM/Index/1059>. Acessado em: 31/05/2018.

FEITOSA, F.L. Exame Físico Geral ou de Rotina. In: FEITOSA, F.L. **Semiologia Veterinária: A arte do diagnóstico**. 3ª edição. São Paulo: Roca, p.1-640, 2004.

FIGHERA, R.A. GRAÇA, D.L. KRAUSPENHAR, C. Anemia Hemolítica em cães associada á protozoários. **Revista Científica de Medicina Veterinária**. Curitiba. 2003. P.274-281.

FLOWER, R.J.; HENDERSON, G; RANG, A.P.; RITTER, J.M. Farmacologia. 8ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

GONTIJO, C.M.F.; MELO, M.N. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**. v.7, n.3, p.338-349,2004.

GONTIJO, C. M. F. e REIS, A. B.. Leishmaniose Tegumentar Americana. In: LINARD, P. M.; MELO, A. L. DE; NEVES, D. P.; VITOR, R. W. A. **Parasitologia Humana**. 13ª ed., São Paulo, Atheneu, junho, p.49-65, 2016.

GUIMARAES, T. Equipe da UFRJ cria a primeira vacina canina para leishmaniose visceral. 15/08/2013. **Folha de São Paulo**. Disponível em: www1.folha.uol.com.br/FSP/cotidian/FF1508200329.html/. Acessado em: 23/09/17.

HERMONT, V.J. **Manual Técnico: Leish Tec**. Outubro. 2008. Disponível em: <https://www.scribd.com/document/236170032/Manual-Tecnico-Leish-Tec>. Acessado em: 04/06/18.

JÚNIOR LEANDRO, MARCOS VINICIUS DE S. **Nota técnica nº038**. Brasília, 11/11/14. Disponível em: www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios/arquivos-comunicacoes-e-instrucoes-tecnicas/nota-tecnica-dfip-38-14leishmune.pdf/view. Acessado em: 04/06/18.

KUSSLER, A.; MARTINUZZI, P.A.; MENTZ, D.A; NONNENMACHER, D.B.; VIANA, A.N. **Leishmaniose Visceral Canina**. XVI Mostra de Iniciação Científica.

LACHAUD, L.; MARCHERGUI-HAMMAMIS.; CHABBERT, E.; DEREURE, J.; DEDET, J.P.; BASTIEN, P. Comparason of six PCR methods using peripheral blood for detection of canine visceral leishmaniasis. **Journal of Clinical Microbiology**, v.40, n.1, p.210-215, 2002.

LAURENTI, M. D.; LIMA, V. M. F.; MARCONDES, M.; PACHECO, A. D.; TOMOKANE, T. Y. *Leishmania* SP. Infection in dogs from Florianópolis, SC, Brazil. **Research Animal Science**. São Paulo-SP, V.50, n.3, p.220-225, novembro, 2013.

LIMA, W.G. **Leishmaniose Visceral Canina: estudo quantitativo e comparativo da expressão do receptor do complemento do tipo C-3(CR-3CD 11b-CD18) com alguns aspectos histológicos e parasitológicos do baço, fígado e linfonodos dos**

cães naturalmente infectados com *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Belo Horizonte, 2007. Tese de doutorado, Patologia Geral-UFMG.

LOSANO, N.F. Efeitos da exposição a inseticida deltametrina em morcegos frugívoros. Viçosa, 2015. F.1-42. Dissertação de Pós-Graduação, Biologia animal, Universidade Federal de Viçosa-UFV.

MARQUES, M. I. L. DE M. **Leishmaniose Canina, Lisboa, 2008**. f.1-189. Dissertação de mestrado em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa.

MENDES, L. de F., **Relato de caso: acupuntura na leishmaniose canina (recuperação de quadro de anemia severa)**. monografia para conclusão do Curso de Especialização em Acupuntura Veterinária Apresentada ao Instituto Homeopático JacquelinePeker, Belo Horizonte. p.20-25,2011.

MICHALICK, M. S. M.; RIBEIRO, R. R.; SILVA, S. M. DA. Gênero *Leishmania*. In: LINARDI, P. M.; MELO, A. L. DE; NEVES, DAVID PEREIRA; VITOR, R. W. A. **Parasitologia Humana**. 13ª edição. São Paulo: Atheneu. Junho. 2016. P.69-90.

MIYAGUI, M.L; MODENESE, T.D. SANTOS, T.A.dos S.QUEIROZ, V.C.de; YOSHIOKA, M.K. Leishmaniose Visceral. **Pubvet**. 2008. Jun.V.2, nº25, P.15-96.

NOGUEIRA, F. dos D. **Avaliação clínico-laboratorial de cães naturalmente infectados por Leishmaniose Visceral, submetidos à terapia com Anfotericina-B**. Botucatu, 2007. F.1-119. Tese de Pós Graduação. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho".

NOGUEIRA, F. dos S. Novos desafios na qualidade de vida dos animais infectados por Leishmaniose Visceral- Uso da Miltefosina. **Vet science informativos**. Disponível em: [www.tecsa.com.br>assets>pdfs](http://www.tecsa.com.br/assets/pdfs). Acessado em: 31/05/18.

PAPA, D. N. **Perfil epidemiológico da Leishmaniose Visceral em cães diagnosticados no laboratório de escola de Veterinária de Universidade Federal de Minas Gerais, 2004 a 2008**. Belo Horizonte, 2010. F. 2-42. Dissertação de Mestrado, Epidemiologia, Escola de Veterinária, UFMG.

PAPICH, M.G. **Terapia Veterinária: pequenos e grandes animais**. 3 edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

SANTOS, T.A.B.dos, YOSHIOKA, M. K.; MIYAGUI, M. L.; MODENESE, T.D.; QUEIROZ, V.C. Leishmaniose Visceral. **Pubvet**. Botucatu/SP, v.2, 46p., 2008.

SPINOSA, H. de S. Medicamentos que Interferem nas Funções Gastrointestinais. In: BERNARDI, M.M; GÓRNIK, S.L; SPINOSA, H. de S. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**. 6 edição. Rio de Janeiro: editora Guanabara Koogan. 2017.1-1420.

STEPHANES, R.; TEMPORÃO, J.G. **Portaria Interministerial nº 1426, de 11 de Julho de 2008.**

REAL, C.M.; REZENDE, P.M. Animal com insuficiência hepática e renal tratado com complexo homeopático – Relato de caso. **41° CONBRAVET.** Disponível em: sovergers.com.br/site/conbravet2014/artigos/trabalhos-1326.htm. Acessado em: 25/06/18.

SA, G. J. de L.; Leite, A. K. R. de M. Achados laboratoriais em cães soropositivos para Leishmaniose na cidade de Sobral, Ceará. **Revista Científica eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 20, p. 5. 01.2013.

SCHIMMING, B. C. E S.; PINTO, J. R. C. Leishmaniose Visceral Canina- Revisão de Literatura. **Revista Científica eletrônica de Medicina Veterinária**; n.19, p.1-17, 2012.

SANCHES, O. de C. **Histopatologia da série eritroide da medula óssea e do tecido renal de cães com insuficiência renal crônica.** Botucatu-SP, 2005.102p.Tese de mestrado-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista.

SANTARÉM, V.A.; SARTOR, I.F. Agentes empregados no controle de ectoparasitas. In: BERNARDI, M.M.; GÓRNIK, S.L.; SPINOSA, H. de S. Farmacologia **aplicada à Medicina Veterinária.** 6ª edição. São Paulo: Guanabara Kogan, 2017. P.1-1420.

SAÚDE, M. da. **Manual de vigilância e controle da Leishmaniose Visceral.** Brasília-DF, p.7-113, 2006.

SAÚDE, M. da. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana.** Brasília/DF. 1 ed. p.15-24, 2007.

SAÚDE, M. da. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso, 7º edição.** Brasília: 2008.

SAÚDE, M. da. **Formulário Terapêutico Nacional.** Brasília-DF. 1ed. 150p., 2008.

SAÚDE, M. da. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso. 8º edição,** Brasília: 2010.

SOARES, D. F. DE M.. **Cadernos técnicos de Veterinária e Zootecnia: Leishmaniose Visceral.** Belo Horizonte: FEEPMVZ. v.65, p.11-136, 2012.

SOLCÁ, M. da S.. **Uso de PCR no diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina: uma abordagem comparativa de diferentes protocolos e tecidos.** 2012. F.94. Dissertação de mestrado em Patologia experimental. Fundação Oswaldo Cruz. Universidade Federal da Bahia.

SONODA, M. C.. Estudo Retrospectivo de casos caninos de Leishmaniose atendidos na cidade de São Paulo, Brasil (1997-2007). **Redação de revistas científica de América Latina y El Caribe, Espanã y Portugal, Londrina**, v.34, n.2, p.741-758, março/abril. 2013.

VETNIL. Hemolitan Gold. Disponível em: www.vetnil.com.br/produtos/hemolitan-gold/. Acessado em: 25/06/18.

VETNIL. HepVet. Disponível em: www.vetnil.com.br/produtos/hepvvet-2/. Acessado em: 25/06/2018.

VIANA, F.A.B. **Guia Terapêutico veterinário**. 3ª edição. Lagoa Santa: Editora Cem, 2014.

LESÕES PULMONARES EM SUÍNOS ABATIDOS EM ESTABELECIMENTO SOB SERVIÇO DE INSPEÇÃO FEDERAL NA ZONA DA MATA MINEIRA

Acadêmicos: Carolina Nogueira Glória e Otávio Eloi da Silva

Orientadora: Letícia Ferreira da Silva

RESUMO

Durante a inspeção *post mortem* dos suínos, o exame dos pulmões possibilita a detecção de diversas afecções respiratórias, além de indicar a adoção ou não das práticas de bem-estar animal durante o abate. Assim, o objetivo do presente trabalho foi a prevalência das principais causas de condenação de pulmões suínos em um abatedouro frigorífico sob SIF, situado na Zona da Mata mineira, no período compreendido entre 2007 a 2013. Para isso, foram utilizadas fichas relativas ao movimento mensal de abate de suínos e de causas de condenação no referido estabelecimento. Durante esse período, foram abatidos 60.142 suínos e a prevalência de condenação pulmonar entre os anos variou de 14,62% a 56,77%. As principais causas de condenação foram aspiração de sangue, aspiração de água e pneumonia, responsáveis por 14,04%, 10,22% e 7,23% das condenações, respectivamente. Além disso, foi observada tendência de aumento na frequência de condenação por aspiração de água de 7,89% ao ano, e redução nas condenações por aspiração de sangue (3,83%) e por pneumonia (4,05%) ao ano. Fica evidente, portanto, a necessidade da adoção dos princípios do abate humanitário por parte do estabelecimento de abate e a importância do manejo sanitário adotado na granja na prevenção da pneumonia.

PALAVRAS-CHAVE: Aspiração de água, aspiração de sangue, inspeção *post mortem*, pneumonia, suinocultura.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é atualmente o quarto maior produtor mundial de carne suína, sendo que essa produção vem aumentando constantemente ao longo dos anos. Segundo os dados mais recentes da Associação Brasileira de Proteína Animal, somente no ano de 2016 foram produzidas 3.731 mil toneladas de carne suína, sendo que 80,4% dessa carne foi destinada ao mercado interno e 19,6% à exportação. Entre os estados brasileiros, Minas Gerais se destaca entre os principais produtores, ficando atrás apenas dos estados pertencentes à região Sul do país. (ABPA, 2017).

A qualidade da carne suína que chega à mesa do consumidor é resultado de um esforço que atende aos diversos elos da cadeia produtiva e tem como eixo central, o produtor (EMBRAPA, 2017). Os suínos são bastante susceptíveis às patologias do sistema respiratório devido ao sistema intensivo de criação, sendo a pneumonia o achado *post mortem* mais frequente (COSTA *et al.*, 2000; ALBERTON & MORES, 2008). Essas patologias são responsáveis por depreciação da carcaça, uma vez que

podem resultar em aproveitamento condicional ou condenação da mesma, e também por queda na produção dos animais, resultando em prejuízos para o produtor. (MORÉS, SOBESTIANSKY & LOPES, 2000; DAGUER, 2004; BRASIL, 2017).

Além das alterações patológicas, na linha de inspeção dos pulmões, também são comumente identificadas lesões operacionais, que têm origem em falhas durante a execução do abate desses animais (DAGUER, 2004). Essas alterações acarretam em condenações que são responsáveis por grandes prejuízos econômicos para o estabelecimento de abate. (GIOVANINI *et al.*, 2014; BRASIL, 2017).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a prevalência das principais causas de condenação de pulmões suínos em um abatedouro frigorífico sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), situado na Zona da Mata mineira, no período compreendido entre janeiro de 2007 a dezembro de 2013. O conhecimento de tais informações permitirá a gerência do estabelecimento estabelecer mudanças pensando no conceito de abate humanitário, bem como sugerir aos suinocultores medidas de controle a serem tomadas com o intuito de promover a melhoria da sanidade da granja, evitando assim perdas econômicas para ambos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A inspeção de carnes tem como objetivo principal garantir a inocuidade e a qualidade do produto final. Contudo, essa prática não se limita somente a isso, uma vez também é fundamental para assegurar a saúde animal, por meio do fornecimento de importantes informações epidemiológicas capazes de auxiliar no controle das doenças em rebanho, incluindo, àquelas de significativo impacto econômico, embora não sejam zoonoses. (PINTO, 2014).

Na inspeção *post mortem*, além das carcaças, todas as vísceras, comestíveis ou não comestíveis, são inspecionadas de forma sistêmica. Nessa abordagem, são observadas as características externas das vísceras, que também passam por palpação e, quando necessário, são realizados cortes sobre o parênquima (BRASIL, 2017). Os órgãos que apresentam alterações são julgados nas linhas de inspeção por Agentes de Inspeção Sanitária e Industrial de Produtos de Origem Animal (AISIPOA) e, quando necessário, pelo Auditor Fiscal Federal Agropecuário com formação em Medicina Veterinária, e podem ter destinações diversas, o que sempre gera depreciação no valor do produto final. (PINTO, 2014; BRASIL, 2017).

Os pulmões são inspecionados na linha “D” de inspeção, onde são realizados exame visual da superfície dos pulmões, traqueia e esôfago e palpação, seguidos de cortes em lâminas longitudinais dos nodos linfáticos apical, brônquicos e esofágicos e incisão dos pulmões na altura da base dos brônquios e bronquíolos a fim de se explorar a luz bronquial para propiciar a observação da mucosa e o diagnóstico de parasitoses, de broncopneumonia, de aspiração de sangue ou de água. A incisão do parênquima pulmonar deve ser realizada somente quando necessário (BRASIL, 1995). Após o julgamento sanitário, o órgão pode receber as seguintes destinações: liberação, quando não forem constatadas lesões; ou condenação, quando forem identificadas alterações patológicas ou acidentais. (BRASIL, 1995; PINTO, 2014).

Entre as causas de condenação de pulmões suínos, aquelas que são mais comumente encontradas durante a rotina de inspeção *post mortem* são pneumonia, abscessos pulmonares e aspiração de água ou sangue (ARAÚJO, 2004; d’ALENCAR *et al.*, 2011; COSTA *et al.*, 2014). A monitoria de lesões pulmonares durante o abate é uma ferramenta muito útil e que permite estabelecer, com boa margem de segurança, a via de infecção e o tipo de patógeno envolvido. (ALBERTON & MORES, 2008).

2.1 ASPIRAÇÃO DE ÁGUA

A aspiração pulmonar de água é uma causa frequente de condenação de pulmões de suínos durante o abate. Trata-se de uma lesão operacional não patológica que tem como causa a escaldagem de suínos vivos e a conseqüentemente morte por afogamento dos suínos nos tanques de escaldagem (FALCÃO *et al.*, 2016b). A origem de tal falha está na sangria deficiente, seja por falha na incisão dos grandes vasos do pescoço ou pelo tempo insuficiente de realização dessa etapa, já que a sangria é responsável pela morte do animal (FALCÃO *et al.*, 2016b). Assim, os suínos ao tentarem forçar a respiração, já dentro do tanque de escaldagem, promovem à ingestão facilitada de água, que chega aos pulmões. Esse tipo de falha operacional fere diretamente o bem-estar o animal e os princípios do abate humanitário. (LUDTKE *et al.*, 2010).

A sangria deve ser realizada no máximo 30 segundos após a insensibilização, uma vez que todo suíno deve estar inconsciente nesse momento, e, para ser completa e ocasionar a morte do animal, deve durar no mínimo 3 minutos (BRASIL, 1995;

LUDTKE *et al.*, 2010). Ainda, para o correto escoamento do sangue deve ser praticada uma incisão nos grandes vasos que emergem do coração (artérias carótidas e veias jugulares), o que provoca uma perda excessiva de sangue e, conseqüentemente, choque hipovolêmico seguido da morte do animal. Além disso, o tamanho do corte também influencia na eficiência da sangria, sendo que cortes inferiores a 5 cm dificultam a saída de sangue, demorando mais para ocorrer a morte do animal; assim, caso seja verificado um baixo fluxo de sangue sendo perdido, o funcionário responsável deve imediatamente repetir o corte. (LUDTKE *et al.*, 2010).

Ainda, segundo o artigo 203 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), alterado pelo decreto 9.069, de 31 de maio de 2017, todos os suídeos que morrerem asfixiados, independente da causa, e aqueles que forem escaldados vivos, devem sempre ser condenados. (BRASIL, 2017). Como esse fato é evidenciado na inspeção *post mortem* pela presença de água (líquido vítreo) intra-alveolar, a aspiração de água acarreta não somente na condenação dos pulmões e sim na condenação total do animal.

2.2 ASPIRAÇÃO DE SANGUE

A aspiração de sangue é um tipo de lesão operacional não patológica bastante encontrada em abatedouros frigoríficos de suínos (d'ALENCAR *et al.*, 2011; FRUET *et al.*, 2013), ocasionada no momento do abate, como consequência de uma sangria mal realizada e que leva à condenação dos pulmões pelo seu aspecto repugnante. (DAGUER, 2004). A origem dessa sangria deficiente está, na maioria das vezes, relacionada com a falta de treinamento do funcionário responsável, que ao realizar um corte muito profundo, além da secção dos grandes vasos do pescoço, carótida e jugular, acaba atingindo também a traqueia. Como o animal se encontra apenas insensibilizado nesse momento, ele acaba por aspirar sangue. (DAGUER, 2004; FALCÃO *et al.*, 2016a).

No pulmão, a presença de sangue aspirado pode ser diferenciada da broncopneumonia pelo fato de que na primeira os brônquios contêm sangue, muito embora o tecido pulmonar permaneça preservado e a cor característica continua a ser vermelho vivo, indicando a recente saída do vaso. Já a broncopneumonia se caracteriza por consolidação cranioventral dos pulmões, deixando as partes afetadas

firmes e, às vezes, friáveis; além disso, na broncopneumonia supurativa, os lóbulos se encontram roxo, porém com exsudato esbranquiçado. (ZIMMERMAN *et al.*, 2012).

A destinação para pulmões com evidência de aspiração de sangue é definida no parágrafo 3º do artigo 136 do RIISPOA, que diz que os pulmões que apresentarem lesão pré-agônica devem ser condenados, sem prejuízo do exame das características gerais da carcaça. (BRASIL, 2017).

2.3 PNEUMONIA

Entre as doenças respiratórias bastante frequentes nos suínos na fase de terminação, destaca-se a pneumonia. Trata-se de uma doença multifatorial, uma vez que sua ocorrência é influenciada não somente pela presença do agente etiológico, mas também pela imunidade do animal, pela nutrição, pelo manejo e pelo ambiente onde o mesmo é criado (SOBESTIANSKY *et al.*, 2001). Ainda, diversos fatores como o tipo de rebanho (granjas de ciclo completo ou de múltiplos sítios), o número de animais transferidos ao mesmo tempo para a terminação, o número de animais por baia e galpão, o volume de ar disponível por animal alojado por galpão, o ambiente térmico (incluindo a ventilação, a umidade e a temperatura) e o excesso de gás ou pó no galpão podem contribuir para agravar o quadro clínico e aumentar a incidência de pneumonia, devido ao aumento de estresse e da redução da capacidade de resposta do sistema imune. (BARCELLOS *et al.*, 2008).

Mycoplasma hyopneumoniae é o patógeno primário da Pneumonia Enzoótica, uma doença crônica que acomete suínos de diversas idades, e um dos agentes primários envolvido no Complexo de Doenças Respiratórias dos Suínos (CDRS) (MAES *et al.*, 2018). Infecções por esse micro-organismo são prevalentes em todo o mundo e causam enormes perdas econômicas à produção suinícola, uma vez que causa cílio-estase e imunossupressão, além de predispor a infecções secundárias por agentes bacterianos, como *Pasteurella multocida* e *Actinobacillus hyopneumoniae*, virais, vírus da Influenza A, e parasitários (CONCEIÇÃO & DELLAGOSTIN, 2006; MAES *et al.*, 2018). Atualmente a vacinação é uma das medidas utilizadas para prevenção da doença, contudo não possui a capacidade de eliminar o agente dos rebanhos, sendo necessária ainda a utilização de antibioticoterapia na granja para minimizar os prejuízos. (MAES *et al.*, 2018).

A perda de rendimento e a condenação de carcaças por problemas respiratórios em suínos ocasionam perdas econômicas significativas para o setor (MAES *et al.*, 2018). Pois, de acordo com o artigo 136 do RIISSPOA, as carcaças de animais acometidos de afecções extensas do tecido pulmonar, em processo agudo ou crônico, purulento, necrótico, gangrenoso ou fibrinoso e com repercussão no estado geral da carcaça, devem ser condenadas. E, quando não houver comprometimento da carcaça, os pulmões que apresentarem lesões patológicas de origem inflamatória ou infecciosa devem ser condenados, sem prejuízo do exame das características gerais da carcaça. (BRASIL, 2017).

3. METODOLOGIA

O estudo foi realizado em parceria com um abatedouro frigorífico sob SIF, localizado na Zona da Mata mineira, o qual disponibilizou todos os dados aqui utilizados. Trata-se, portanto, de um estudo retrospectivo realizado por meio de um levantamento epidemiológico de dados no referido estabelecimento.

Foram utilizadas, como fonte de informação, fichas relativas ao movimento mensal de abate de suínos, no período compreendido entre janeiro de 2007 a dezembro de 2013, em um abatedouro frigorífico localizado na Zona da Mata mineira, registrado no SIF. Essas fichas forneceram os registros das atividades de abate realizadas durante a rotina de inspeção *post mortem*, proporcionando informações como a data do abate, o número de animais abatidos, a parte animal acometida, o diagnóstico e a destinação das peças. Foram considerados os dados relativos às alterações identificadas nos pulmões na linha de inspeção “D”, em exame *post mortem*, responsáveis por condenação.

Os animais foram abatidos e inspecionados segundo às normas estabelecidas pelo Mapa (BRASIL, 1995; BRASIL, 2017). Os pulmões nos quais foram detectadas alterações ou lesões durante a sua linha de inspeção foram condenados pelo AISIPOA e destinados à unidade de beneficiamento de produtos não comestíveis. Os achados foram anotados em papeleta específica de condenação do Departamento de Inspeção Final, sendo, em seguida, transferido para o sistema *online* de notificação do Mapa, o Sistema de Informações Gerenciais do Serviço de Inspeção Federal.

Todos os dados coletados foram processados em planilhas do Microsoft Excel e, para analisar a tendência da série histórica da frequência, foi realizada a análise de regressão linear no programa Sigma Plot 14.0.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

No período de janeiro de 2007 a dezembro de 2013 foram abatidos 60.142 suínos no referido abatedouro frigorífico. Desse total, foram condenados 18.942 pulmões por apresentarem algum tipo de lesão ou alteração pulmonar, registrando, assim, uma prevalência total de 31,50% na Zona da Mata Mineira (TABELA 1). Ainda na Tabela 1, pode-se observar que a frequência das condenações pulmonares apresentou grande aumento de 14,82%, em 2007, para 25,97%, em 2013.

Tabela 3. Número de suínos abatidos e frequência das condenações de pulmões, em um abatedouro frigorífico da região da Zona da Mata mineira, nos anos de 2007 a 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal.

Ano	Número de suínos abatidos	Pulmões condenados	
		n	%
2007	7.872	1.167	14,82
2008	3.772	1.319	34,97
2009	8.153	4.010	49,18
2010	9.194	5.219	56,77
2011	9.075	2.932	32,31
2012	12.669	1.852	14,62
2013	9.407	2.443	25,97
Total	60.142	18.942	31,50

Os resultados observados podem ser considerados semelhantes aos obtidos por d'Alencar *et al.* (2011), que encontraram um percentual de condenação de pulmões suínos de 43,8% em três abatedouros frigoríficos sob Serviço de Inspeção Estadual (SIE), localizados na região metropolitana de Recife e na Zona da Mata do estado de Pernambuco, entre os anos de 2008 e 2009. Já Costa *et al.* (2014) encontraram valor ainda maior, com 62,27% de pulmões de suínos condenados em um abatedouro frigorífico sob SIE, localizado na região de Alagoinhas, Bahia, entre os anos de 2010 a 2012. Andrade *et al.* (2006) obtiveram valor próximo ao citado anteriormente, com 69,50% de condenações pulmonares em estabelecimento sob SIE, localizado em Simões Filho, também na Bahia, no ano de 2006.

Por outro lado, Pedri (2011) relatou uma prevalência inferior à apresentada na Tabela 1, com 24,94% de pulmões lesionados em estabelecimentos de abate de suínos registrados no Serviço de Inspeção do Paraná, no ano de 2010.

Entre as causas de condenações pulmonares ilustradas na Figura 1, a aspiração de sangue apresentou a maior prevalência (14,04%), seguida por aspiração de água (10,22%) e pneumonia (7,23%). Essas foram às únicas causas reportadas no período estudado no referido estabelecimento.

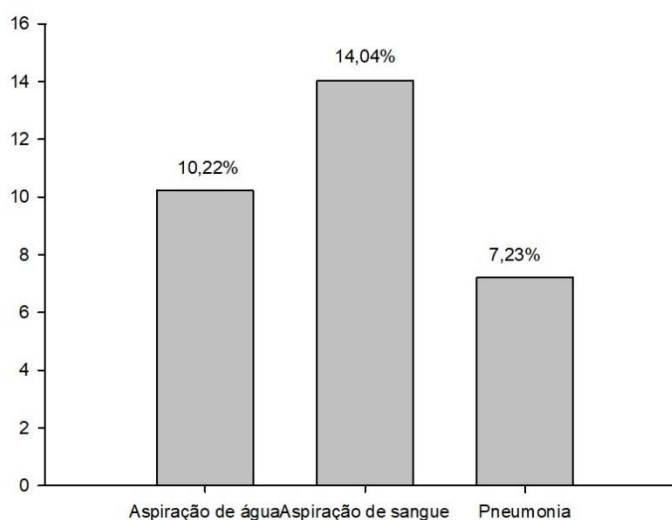


Figura 7. Prevalência (%) das causas de condenação pulmonares diagnosticadas em um abatedouro frigorífico da Zona da Mata mineira, entre os anos de 2007 a 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal.

Concordando com esses resultados, Fruet *et al.* (2013) também encontraram a aspiração de sangue como a principal causa de condenações pulmonares de suínos em abatedouros frigoríficos sob Serviço de Inspeção Municipal (SIM), localizados em Santa Maria, Rio Grande do Sul, no período de outubro de 2010 a março de 2011. Tais autores observaram que dos 6.193 suínos abatidos, 1.231 tiveram os pulmões condenados em consequência dessas tecnopatias, correspondendo a uma prevalência de 19,88% (FRUET *et al.*, 2013). Ainda de acordo com o apresentado na Figura 1, Falcão *et al.* (2016a) ao acompanharem o abate de 400 suínos em um abatedouro frigorífico sob SIF, localizado também na Zona da Mata mineira, verificaram que 55 destes animais apresentaram aspiração por sangue, correspondendo a uma prevalência de 13,75%.

Contudo, discordando do presente trabalho, d'Alencar *et al.* (2011) concluíram que a aspiração de sangue foi a terceira principal causa de condenação de pulmões suínos em três abatedouros frigoríficos sob SIE localizados em Recife e Pernambuco,

entre os anos de 2008 e 2009. A prevalência atribuída a essa lesão foi de apenas 1,54% (d'ALENCAR *et al.*, 2011), bastante inferior quando comparada ao valor atribuído na Figura 1.

Com relação às condenações por aspiração de água, Falcão *et al.* (2016b) encontraram prevalência consideravelmente inferior à deste estudo, uma vez que apenas 21 dos 400 suínos abatidos apresentaram essa lesão, correspondendo a 5,21% dos animais. A aspiração de água indica que o suíno foi escaldado vivo, o que é proibido por lei e resulta, portanto, em condenação total da carcaça desse animal (BRASIL, 2017). Tal destino é adotado justamente como forma de coibir esse tipo de prática por parte do estabelecimento.

Seguindo esse raciocínio, 6.149 carcaças suínas (10,22%) foram condenadas no estabelecimento estudado, no período de 2007 a 2013 (FIGURA 1). Levando-se em consideração o peso médio da carcaça suína em 83,2 kg (EMBRAPA, 2003) e o valor pelo qual o referido estabelecimento repassa atualmente esse produto ao mercado (R\$ 5,00/kg), pode-se estimar que o estabelecimento teve um prejuízo de R\$ 2.557.984,00 somente no período estudado. Esse prejuízo poderia ser evitado pela simples adoção das práticas de bem-estar animal e de abate humanitário previstas em lei. (LUDTKE *et al.*, 2010).

Já no que diz respeito às condenações por pneumonia, d'Alencar *et al.* (2011), diferentemente do exposto na Figura 1, encontraram essa como a principal causa de condenação de pulmões suínos, no período de julho de 2008 a maio de 2009, em três abatedouros sob SIE, com prevalência de 40,70%, superior à do presente trabalho. Para Andrade *et al.* (2009), a pneumonia também figurou como a primeira causa de condenações pulmonares. Já Jorge *et al.* (2004) obtiveram prevalência de 14,40% de condenações por pneumonia, ao avaliarem dois abatedouros frigoríficos no estado de São Paulo. Esses achados corroboram que a pneumonia, atualmente, se enquadra entre os principais problemas da suinocultura tecnificada. (ALBERTON & MORES, 2008).

A Tabela 2 traz o percentual das condenações pulmonares, mostrando a influência de cada uma dessas causas ao longo dos sete anos estudados.

Tabela 4. Quantitativo e percentual das causas de condenação de pulmões suínos na linha de inspeção “D”, em um abatedouro frigorífico da Zona da Mata mineira, nos anos de 2007 a 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal.

Causa	2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Aspiração de água	0	0,00	4	0,30	1.270	31,67	1.891	36,23	1.159	39,53	716	38,66	1.109	45,40
Aspiração de sangue	793	67,95	683	51,78	1.804	44,99	2.108	40,39	1.325	45,19	842	45,46	888	36,35
Pneumonia	374	32,05	632	47,92	936	23,34	1.120	23,38	448	15,28	294	15,87	446	18,26
Total	1.167	100,00	1.319	100,00	4.010	100,00	5.219	100,00	2.932	100,00	1.852	100,00	2.443	100,00

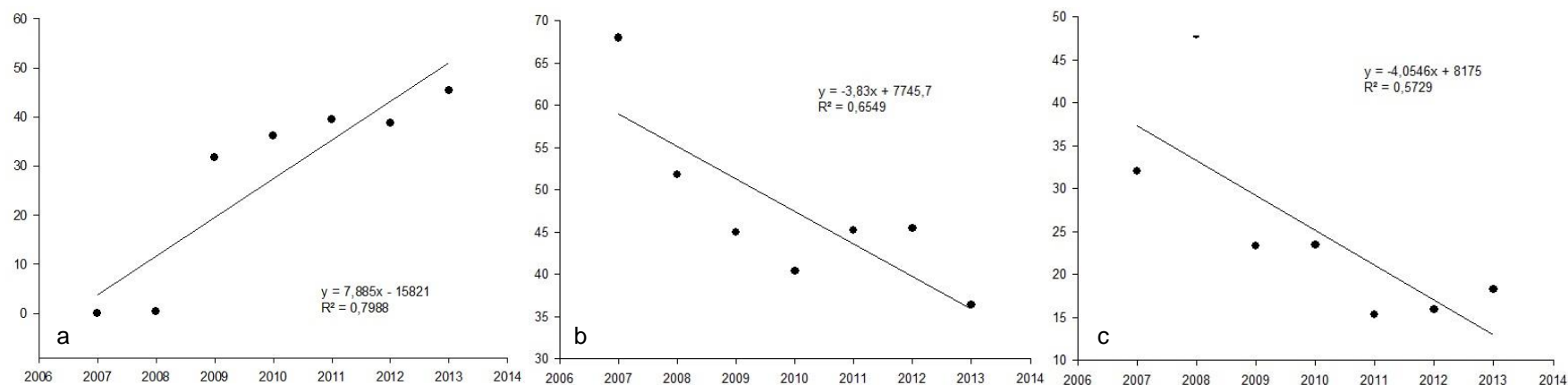


Figura 8. Análise de regressão linear da frequência (%) das causas de condenação de pulmões suínos, em um abatedouro frigorífico da Zona da Mata mineira, entre 2007 e 2013, pelo Serviço de Inspeção Federal: a) aspiração de água; b) aspiração de sangue; e c) pneumonia.

Segundo a Tabela 2, o percentual de condenações pulmonares por aspiração de água variou de 0,00% a 45,40% durante o período estudado. Corroborando esses resultados, Pedri (2011) relatou que essa lesão foi responsável por 10,55% das condenações pulmonares em abatedouros sob SIE no estado do Paraná, no ano de 2010. A ocorrência de tal tecnopatía indica que o suíno apresentou respiração agônica no tanque de escaldagem, como consequência de uma sangria rápida ou deficiente. Portanto, esse deveria ser um achado pouco frequente em estabelecimentos de abate de suínos, uma vez que os mesmos deveriam operar segundo os princípios do abate humanitário oficialmente regulamentado (BRASIL, 2008; FALCÃO *et al.*, 2016b).

A aspiração de sangue foi responsável por 36,35% a 67,95% das condenações pulmonares de 2007 a 2013 na região da Zona da Mata mineira (TABELA 2). Esses valores estão em concordância com os obtidos por Fruet *et al.* (2013), que relataram que esse achado *post mortem* foi responsável por 54,09% das condenações pulmonares em Santa Maria, Rio Grande do Sul, indicando ineficiência dos procedimentos adotados durante o abate. Entretanto, discordando desse resultado, Costa *et al.* (2014) e Pedri (2011) encontraram frequências de 21,84% e de 21,53% para a condenação por aspiração de sangue, respectivamente. Enquanto que d'Alencar *et al.* (2011) descreveram frequência bastante inferior para essa causa de condenação, de apenas 3,5%.

Trata-se de um achado frequente no exame *post mortem* de suínos e está relacionado a falhas no momento do abate, mais precisamente durante a realização da sangria, quando a traqueia é seccionada juntamente com os grandes vasos do pescoço (carótida e jugular), fazendo com que o animal aspire sangue (FALCÃO *et al.*, 2016a). Ainda, a insensibilização ineficiente aumenta a chance de ocorrência de aspiração pulmonar de sangue, uma vez que se torna mais difícil realizar a sangria (FALCÃO *et al.*, 2016'a). Assim, as variações encontradas entre os trabalhos podem ser justificadas pelo nível de treinamento dos funcionários responsáveis por essas etapas do abate em cada um dos estabelecimentos estudados.

Ainda, pode ser observado também na Tabela 2, que o percentual de condenação por pneumonia variou de 15,28% a 47,92% entre os anos estudados. Concordando com esse resultado, Fruet *et al.* (2013) verificaram que entre 2010 e 2011, 2.276 pulmões de suínos foram condenados, sendo que deste total, 399 somente por pneumonia, correspondendo a uma frequência de 17,53% de

condenações. Ainda de acordo com o intervalo obtido no presente trabalho, Costa *et al.* (2014) descreveram uma frequência de 33,25% de condenações por pneumonia em Alagoinhas, Bahia. Contudo, outros trabalhos observaram resultados bastante superiores a esses, como, por exemplo, o de d'Alencar *et al.* (2011) e o de Ribeiro (2014), onde a pneumonia foi responsável por 93,0% das condenações pulmonares na região metropolitana do Recife e na Zona da Mata do estado de Pernambuco e por 74,6% em um abatedouro frigorífico sob SIE, na Bahia, respectivamente.

A diferença observada nas diferentes pesquisas pode ser atribuída aos diferentes manejos sanitários adotados em cada região (d'ALENCAR *et al.*, 2011), uma vez que, mesmo com a vacinação, o manejo inadequado com superlotação das baias e com higiene deficiente, além de um ambiente adverso, que gera desconforto térmico a esses animais, propiciam o aparecimento de problemas respiratórios (SOBESTIANSKY *et al.*, 2001; BARCELLOS *et al.*, 2008). Logo, para evitar prejuízos aos produtores em decorrência da pneumonia, ainda são utilizados altos teores de antimicrobianos nas rações dos plantéis positivos para *M. hyopneumoniae* (MAES *et al.*, 2018).

Por fim, com base ainda nos dados fornecidos pela Tabela 2, foram realizadas análises de regressão linear das séries históricas das três causas de condenações de pulmões suínos observadas no presente estudo. Pode-se observar que a frequência de condenações por aspiração de água aumentou, enquanto que as frequências de condenações por aspiração de sangue e pneumonia decresceram ao longo dos sete anos estudados. (FIGURA 2).

Segundo a Figura 2a, observa-se para as condenações por aspiração de água, entre os anos de 2007 a 2013, um aumento na frequência de 7,89% ao ano, com 79,88% de confiança. Esse resultado é preocupante, uma vez que comprova que os suínos abatidos no estabelecimento estudado estão sendo escaldados vivos, seja por não respeitarem o tempo mínimo da sangria (três minutos) ou por falhas na técnica, que acabam por dificultar o escoamento do sangue e a morte do animal (BRASIL, 1995; LUDTKE *et al.*, 2010). Tal prática vai contra os princípios de bem-estar animal e abate humanitário, que priorizam pelo não sofrimento do animal durante o abate (LUDTKE *et al.*, 2010) e seria facilmente resolvida com a instrução dos funcionários.

Já com relação ao percentual de condenações por aspiração de sangue, foi observado um decréscimo de 3,83% da frequência ao ano (65,49% de confiança),

durante o período avaliado (FIGURA 2b). Apesar da alta prevalência dos casos de aspiração de sangue e, novamente, das falhas no cumprimento dos requisitos de bem-estar animal e abate humanitário, essa redução indica melhora gradativa no procedimento de sangria, provavelmente em decorrência do treinamento do funcionário responsável. (LUDTKE *et al.*, 2010).

Sobre a tendência de condenações por pneumonia, observou-se uma redução de 4,05% ao ano, com confiança de 57,29% apenas, devido às variações observadas ao longo dos anos estudados (FIGURA 2c). A redução nos casos de pneumonia é economicamente importante para a indústria da carne, uma vez que suínos acometidos apresentam diminuição de 3% a 8% no ganho médio de peso diário, o que acaba por refletir no rendimento de carcaça (SOBESTIANSKY *et al.*, 2001). E, também, porque dependendo do grau de comprometimento da carcaça em decorrência dessa afecção pulmonar, a mesma pode ser totalmente condenada. (BRASIL, 2017).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante o período estudado, a aspiração de sangue, a aspiração de água e a pneumonia foram responsáveis, nessa ordem, pelas condenações de pulmões suínos. Dessas alterações, a aspiração de água foi responsável por grande prejuízo ao estabelecimento em decorrência da condenação das carcaças dos animais acometidos. Assim, o monitoramento das lesões pulmonares é bastante útil, uma vez que permite estabelecer, com bastante confiança, sobre o comprometimento do estabelecimento com o bem-estar animal e com os princípios do abate humanitário, e também para avaliar o manejo sanitário adotado nas granjas de origem, com base na saúde e na produção animal.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **2017. Relatório Anual.** Disponível em: <http://abpa-br.com.br/storage/files/3678c_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web_reduzido.pdf>. Acesso em: 15 de mar. 2018.

ALBERTON, G.C.; MORES, M.A.Z. Interpretação de lesões no abate como ferramenta de diagnóstico das doenças respiratórias dos suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.36, n.1, p.95-99, 2008.

ANDRADE, N.S.; CRUZ, A.L.; TORRES, P.E.L.M.V.; EDINGTON, L.N.; CAREGNATO, C.Z. **Principais causas de condenação de órgãos suínos em matadouro com inspeção estadual em Simões Filho – BA em 2006**. Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/site/higienistas/trabalhos/10209.pdf>>. Acesso em: 01 de mai. 2018.

ARAÚJO, A.O.W. **Abscessos pulmonares em suínos abatidos industrialmente: bacteriologia, anatomopatologia e relação entre portas de entrada e lesões macroscópicas**. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2004. 86f.

BARCELLOS, D.E.S.N.; BOROWSKI, S.M.; GHELLER, N.B.; SANTI, M.; MORES, T.J. Relação entre ambiente, manejo e doenças respiratórias em suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.36, n.1, p.87-93, 2008.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Aprova as normas técnicas de instalações e equipamentos para abate e industrialização de suínos**. Portaria 711, de 01 de novembro de 1995, 1995.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Estabelecer os procedimentos gerais de Recomendações de Boas Práticas de Bem-Estar para Animais de Produção de Interesse Econômico**. Instrução Normativa nº 56, de 06 de novembro de 2008, 2008.

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.

CONCEIÇÃO, F.R.; DELLAGOSTIN, O.A. Etiopatogenia e imunoprofilaxia da pneumonia enzoótica suína. **Ciência Rural**, v.36, n.3, p.1034-1.042, 2006.

COSTA, O.A.D.; MORÉS, N.; SOBESTIANSKY, J.; BARIONI JR., W.; PIFFER, I.A.; PAIVA, D.P.; AMARAL, A.L.; GUZZO, R.; LIMA, G.J.M.M.; PERDOMO, C.C. **Fatores de risco associados à rinite atrofica progressiva e pneumonias crônicas nas fases de crescimento e terminação**. 2000. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/58350/1/CUsersPiazzonDocuments267.pdf>>. Acesso em: 20 de set. 2017.

COSTA, R.A.; LEITE, P.A.G.; BARROS, C.G.G.; LOPES, G.M.B. Principais causas de condenações em vísceras comestíveis de suínos abatidos em um matadouro frigorífico sob Inspeção Estadual na região de Alagoinhas-BA. **Veterinária e Zootecnia**, v.21, n.4, p.616-623, 2014.

DAGUER, H. Inspeção sanitária de pulmões de suínos. **A Hora Veterinária**, n.141, p.43-46, 2004.

d'ALENCAR, A.S.; FARIAS, M.P.O.; ROSAS, E.O.; LIMA, M.M.; MENEZES, M.M.; SANTOS, F.L.; ALVES, L.C.; FAUSTINO, M.A.G. Manejo higiênico-sanitário e lesões pulmonares em suínos na região metropolitana de Recife e Zona da Mata de Pernambuco, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, n.3, p.1111-1122, 2011.

EMBRAPA. **Qualidade na produção de suínos**. 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/qualidade-da-carne/carne-suina/producao-de-suinos>>. Acesso em: 20 de ago. 2017.

EMBRAPA. **Produção Suínos. Mercado e Comercialização**. 2003. Disponível em: <<http://www.cnpsa.embrapa.br/SP/suinos/mercado.html>>. Acesso em: 20 de mai. 2018.

FALCÃO, J.P.M.; CUNHA, A.F.; FERREIRA, S.S.; FREITAS, V.C.; CARDOSO, V.A.F.X.; NUNES, M.F. Influência da insensibilização ineficiente de suínos na ocorrência de aspirações pulmonares por sangue durante abate. **Revista Científica Univiçosa**, v.8, n.1, p.521-527, 2016a.

FALCÃO, J.P.M.; CUNHA, A.F.; FERREIRA, S.S.; NUNES, M.F.; FREITAS, V.C. Efeito da insensibilização ineficiente de suínos na ocorrência de aspirações pulmonares por água durante abate. **Revista Científica Univiçosa**, v.8, n.1, p.341-347, 2016b.

FRUET, A.P.B.; SCORTEGAGNA, A.; FABRICIO, E.A.; KIRINUS, J.K.; DÖRR, A.C.; NÖRNBERG, J.L. Perdas econômicas por condenação de órgãos suínos em matadouros sob Serviço de Inspeção Municipal. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v.11, n.11, p.2307-2312, 2013.

GIOVANINI, L.M.; BUENO, R.; BORDIN, R.A.; VARGAS, G.A.; SAMPAIO, K. Descrição das condenações de carcaças suínas em abatedouro inspecionado pelo Serviço de Inspeção Federal no estado de São Paulo. **Revista Eletrônica Thesis**, n.22, p.46-51, 2014.

JORGE, P.S.; PRATA, L.F.; FERRANTE, F.C.; FUKUDA, R.T.; KIECKHÖFER, H. Monitoração de afecções crônicas no abate de suínos: I. Ocorrência de quadros pneumônicos em granjas selecionadas, durante o período de um ano. **A Hora Veterinária**, n.142, p.48-52, 2004.

LUDTKE, C.B.; CIOCCA, J.R.P.; DANDIN, T.; BARBALHO, P.C.; VILELA, J.A.; COSTA, O.A.D. **Abate humanitário de suínos**. Rio de Janeiro: WSPA, 2010. 132p.

MAES, D.; SIBILA, M.; KUHNERT, P.; SEGALÉS, J.; HAESBROUCK, F.; PIETERS, M. Update on *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs: Knowledge gaps for improve disease control. **Transboundary and Emerging Diseases**, v.65, n.1, p.110-124, 2018.

MORÉS, N.; SOBESTIANSKY, J; LOPES, A. **Avaliação patológica de suínos no abate. Manual de identificação**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. 40p.

PEDRI, A.C.B. **O bem-estar de suínos e causas de condenação em abatedouros do serviço de inspeção do Paraná**. Curitiba, 25f. 2011. Monografia (Especialista em Gestão Agropecuária com ênfase em Inspeção de Produtos de Origem Animal) – Universidade Federal do Paraná.

PINTO, P.S.A. **Inspeção e Higiene de Carnes**. 2.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2014. 389p.

RIBEIRO, H.T.S. **Lesões pulmonares em suínos abatidos em matadouro frigorífico na região metropolitana de Salvador: estudo de casos**. Salvador, 48f. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia.

SOBESTIANSKY, J.; COSTA, O.A.D.; MORÉS, N.; BARIONI JR, W.; PIFFER, I.A.; GUZZO, R. **Estudos ecopatológicos das doenças respiratórias dos suínos: prevalência e impacto econômico em sistemas de produção dos estados de Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Paraná**. 2001. Disponível em: < <http://docsagencia.cnptia.embrapa.br/suino/comtec/cot287.pdf> >. Acesso em: 20 de mar. 2018.

ZIMMERMAN, J.J.; KARRIKER, L.A.; RAMIREZ, A.; SCHWARTZ, K.J.; STEVENSON, G.W. **Disease of swine**. 10ª Ed. Wiley-Blackwell – John Wiley & Sons, Inc. 2012. 983p.

AVALIAÇÃO ELETROCARDIOGRÁFICA DE CÃES DE AGILITY E GUARDA ANTES E APÓS ATIVIDADE FÍSICA

Acadêmicas: Karine Sales Pereira Cata Preta e Maria Alice Garcia da Silva
Orientadora: Mayara Cristini Ferreira de Aguiar

RESUMO

Seja para fins competitivos ou para melhoria na qualidade de vida é importante que haja um nível de condicionamento físico com uma adequação de exercícios compatíveis com a capacidade do animal. O eletrocardiograma é primordial na avaliação cardiovascular do paciente podendo auxiliar no diagnóstico de muitas patologias cardíacas. Objetivou-se com este trabalho realizar a avaliação eletrocardiográfica de cães submetidos à atividade física regular, de modo a obter informações sobre a eletrofisiologia cardíaca destes animais. Nesse estudo, foram utilizados 10 cães sendo 5 animais da raça Border Collie, 2 animais da raça Rottweiler, 2 animais da raça Pastor Belga de Malinois e 1 animal da raça Pastor Alemão, oriundos de canis das cidades de Caratinga (MG), Abre Campo (MG) e Viçosa (MG). Esses animais passaram por avaliação eletrocardiográfica em dois momentos, antes e após a realização de exercício, para traçar o perfil eletrocardiográfico dos mesmos. Foi realizada a comparação entre os momentos avaliados, e foram observadas alterações quanto a duração e amplitude de ondas e alterações em segmentos e em eixo cardíaco. A prática do exercício físico é fundamental, sobretudo o seu excesso pode causar alterações cardíacas, fisiológicas ou patológicas. É importante a realização de exames periódicos nesses animais.

PALAVRAS-CHAVE: Eletrocardiograma; cães atletas; exercício; coração.

1. INTRODUÇÃO

Seja para fins competitivos ou para melhoria na qualidade de vida, é importante que haja um nível de condicionamento físico com uma adequação de exercícios compatíveis com a capacidade do animal (MOTTA, 2009). Dentre os benefícios da prática de exercício regular, em longo prazo, observa-se uma melhora do aparelho respiratório, endócrino, muscular, humoral e cardiovascular, principalmente pela redução da pressão arterial sistêmica e por efeitos autonômicos antiarrítmicos, bem como uma melhora na qualidade do sono (BILLMAN, 2002; BUCH *et al.*, 2002; ANTUNES *et al.*, 2008).

Em cães praticantes de exercícios, há mudanças no sistema nervoso central, que aumenta a atividade simpática, e conseqüentemente, ocorrem alterações cardíacas que vão variar de acordo com a intensidade do exercício (BUSS, 2006; GUYTON, 2006; STICKLAND *et al.*, 2009; STEPHENSON, 2014).

É importante o conhecimento do padrão de repouso (maior atividade parassimpática) em relação ao exercício, para assim alcançar maior desempenho físico, como também para inferir o nível de estresse do treinamento, pois alterações nesses padrões podem decorrer de um treinamento físico excessivo (ANTUNES *et al.*, 2008).

O eletrocardiograma (ECG) é primordial na avaliação cardiovascular do paciente. Dentre suas diversas importâncias incluem diagnóstico de arritmias cardíacas, informações quanto ao tamanho das câmaras cardíacas e estado de oxigenação do miocárdio (BELERENEAN *et al.*, 2003).

Objetivou-se com este trabalho realizar a avaliação eletrocardiográfica de cães submetidos à atividade física regular, de modo a obter informações sobre a eletrofisiologia cardíaca destes animais.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ELETROFISIOLOGIA CARDÍACA

Segundo Truex (1976, citado por MAIA, 2001) o automatismo e a condução do estímulo elétrico, propriedades eletrofisiológicas básicas do coração, se processam de forma homogênea e previsível, graças à existência de um tecido especializado que é constituído pelo nódulo sinusal, com capacidade de se auto estimular e propagar o potencial elétrico gerado.

O sistema nervoso autônomo (SNA) controla, em parte, o sistema cardiovascular, fornecendo nervos eferentes e aferentes ao coração, na forma de terminações simpáticas por todo o miocárdio e parassimpáticas para o nódulo sinusal, o nódulo atrioventricular e o miocárdio atrial (AUBERT *et al.*, 2003).

A excitação cardíaca tem início com um impulso gerado no nódulo sinusal (nódulo de Keith-Flack) que se localiza no átrio direito, sendo que essa é a primeira área do coração a se despolarizar. O estímulo atinge o átrio esquerdo, o nódulo atrioventricular (nódulo de Aschoff-Tawara), o feixe de His, e seus ramos (esquerdo e direito), as fibras de Purkinje, os ventrículos e então desaparece (TRANCHESI, 2001; JAMES *et al.*, 2007).

O potencial de ação se forma pela despolarização espontânea de células cardíacas especializadas. O batimento cardíaco é o resultado do potencial de ação

das células marcapasso, iniciam o batimento do coração e determinam a frequência (BARBOSA *et al.*, 2002; BECK *et al.*, 2011).

A frequência cardíaca (FC) é modificada em consequência das informações aferentes, que por meio de uma complexa interação de estímulo e inibição das respostas das vias simpática e parassimpática adaptam os batimentos cardíacos às necessidades de cada momento.

O aumento da FC é decorrente da maior ação da via simpática e da menor atividade parassimpática (AUBERT *et al.*, 2003; PASCHOAL *et al.*, 2003; RAJENDRA *et al.*, 2006).

O coração pode apresentar modificações na FC, definidas como variabilidade da frequência cardíaca (VFC), que são usuais e esperadas, indicando a capacidade do coração em responder aos múltiplos estímulos fisiológicos e ambientais, tais como, respiração, exercício físico, estresse, alterações metabólicas e sono, além de compensar desordens induzidas por doenças (AUBERT *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2003; RAJENDRA *et al.*, 2006).

A VFC descreve as oscilações dos intervalos entre batimentos cardíacos consecutivos, que é influenciada pelo SNA sobre o nódulo sinusal, sendo uma medida não invasiva, que pode ser utilizada para identificar ocorrências relacionadas ao SNA tanto em indivíduos saudáveis quanto em atletas e portadores de doenças (PUMPRLA *et al.*, 2002; AUBERT *et al.*, 2003).

2.2 ELETROCARDIOGRAMA

O ECG é o registro das alterações do potencial elétrico do músculo cardíaco em atividade e é mensurado por meio de um eletrocardiógrafo. O eletrocardiógrafo é um galvanômetro, aparelho que mede a diferença de potencial entre dois pontos, que determina intensidades sucintas de corrente, recolhidas através de eletrodos (RAMOS, 2007). O eletrocardiograma é constituído por doze derivações de registro, sendo seis do plano elétrico frontal: as derivações periféricas D1, D2, D3 (bipolares ou standards), aVR, aVL e aVF (unipolares), e seis do plano elétrico horizontal: as derivações precordiais que vão de V1 a V6 (unipolares) (GOLDWASSER, 2002).

A realização de uma interpretação sistemática do eletrocardiograma tem a finalidade de facilitar o diagnóstico, e deve seguir algumas etapas, tais como: avaliação de frequência cardíaca (FC) e ritmo cardíaco (RIT); mensuração de onda P,

segmento PR (PR), intervalo PR, complexo QRS, ponto J e segmento ST (ST), onda T, intervalo QT (QT) e onda U (SURAWICZ *et al.*, 2001). A frequência cardíaca é medida através do intervalo de tempo entre duas ondas R consecutivas, e o ritmo cardíaco é avaliado pela medida dos intervalos entre os ciclos cardíacos (SURAWICZ *et al.*, 2001; GUYTON, 2002).

A onda P é produzida no nódulo sinoatrial, e está relacionada à condução elétrica nos átrios, e o intervalo médio entre o início da onda P e o início do complexo QRS é denominado como segmento PR (GUYTON, 2002). O intervalo PR representa o tempo de condução do nódulo sinusal à primeira fibra ventricular despolarizada e é medido pelo início da onda P ao início do complexo QRS (FILIPPI, 2000). Já o complexo QRS representa a despolarização ventricular (GOODWIN, 2002).

O segmento ST inicia-se no ponto J (ponto que une QRS a ST), e representa a fase inicial da repolarização ventricular. A onda T representa a fase de repolarização dos ventrículos, e pode ser positiva, difásica, negativa ou chanfrada (FILIPPI, 2000; TILLEY, 2005). O intervalo QT representa a despolarização e repolarização ventricular, e é medido pelo início do complexo QRS até o fim da onda T. A onda U é a última do ciclo P-QRS-T, e existem duas hipóteses para sua origem: a primeira diz que seu aparecimento representa uma repolarização tardia de algumas regiões do miocárdio; já a segunda diz que seu surgimento representa um pós-potencial (FILIPPI, 2000).

2.3 ALTERAÇÕES CARDÍACAS DEVIDO AO EXERCÍCIO

As arritmias cardíacas podem aumentar sua incidência devido ao exercício físico, tanto em humanos quanto em animais, especialmente em três condições: quando há um preaquecimento inadequado, quando o exercício dinâmico se aproxima da capacidade máxima e durante uma recuperação rápida, chamada período arritmogênico (VÁZQUEZ *et al.*, 1998; NEGRÃO, 2010).

Em humanos há uma diminuição do retorno venoso durante a recuperação rápida, devido a uma redução da atividade muscular e uma vasodilatação causada pelo exercício. A taquicardia, juntamente com as catecolaminas podem reduzir o volume por minuto e o fluxo sanguíneo do miocárdio quando a demanda de oxigênio (O₂) miocárdica permanece alta, podendo levar a ocorrência de arritmias durante a recuperação precoce (NEGRÃO, 2010).

Em humanos há um aumento da resistência coronariana durante a atividade física devido a um aumento na viscosidade sanguínea, à constrição dos músculos lisos e dos capilares; e ocorre um sofrimento dos vasos intramurais durante a sístole, prejudicando o fluxo coronariano. Todos esses fatores causam, mesmo que de modo transitório, uma isquemia miocárdica relativa, que pode ocasionar distúrbios de ritmo cardíaco, devido a alterações no tempo em que o tecido cardíaco demora a recuperar (NEGRÃO, 2010).

Nos seres humanos, esportes onde há dependência de metabolismo anaeróbico, geram acúmulo de ácidos graxos livres devido a uma menor oxidação. Ocorre a mobilização desses ácidos e aumentam sua concentração plasmática, podendo afetar a atividade elétrica cardíaca, principalmente em situações de hipóxia, levando a um aumento no risco de arritmias no período de atividade intensa e recuperação precoce (NEGRÃO, 2010).

Sugere-se que, as arritmias nos animais, assim como nos humanos, podem ser justificadas pelo aumento de catecolaminas, alta concentração de ácidos graxos livres no sangue, isquemia do miocárdio ou a combinação desses fatores (VÁZQUEZ *et al.*, 1998; NEGRÃO, 2010).

Na medicina humana, a ocorrência de bloqueio atrioventricular (BAV) de primeiro e segundo grau Mobitz, tipo I, é observado em atletas de esporte que requer maior resistência, como corridas, ao passo que a presença de BAV total e BAV de segundo grau Mobitz, tipo II, é mais comum em atletas do que em indivíduos sem treinamento (KAŞIKÇIOĞLU, 2011; PEIDRO, 2003 citado por SANTOS, 2017).

Devido às várias alterações que atletas podem apresentar, foi criada uma lista de recomendações para avaliação do ECG em repouso de atletas pela Sociedade Europeia de Cardiologia, onde as alterações foram separadas em grupos de acordo com a frequência com que são observadas. O grupo 1 são das mais frequentes encontradas e nesse grupo estão o BAV de primeiro grau, bradicardia sinusal, repolarização precoce, bloqueio de ramo direito incompleto e indicativos de hipertrofia ventricular esquerdo. O grupo 2 é composto das alterações menos frequentes observadas, e são elas a depressão do segmento ST, bloqueio completo de ramo, alterações na polaridade de onda T, e QT curto ou longo (CORRADO *et al.*, 2010).

Atletas humanos podem apresentar complexo ventricular prematuro (CVP) tanto em repouso quanto em atividade, e essa ocorrência também foi observada em

animais. (NEGRÃO, 2010; BARRETTO *et al.*, 2013). Buhl, Meldgaard e Barbesgaard (2010) observaram que de 34 cavalos de salto, 18% apresentaram CVP durante a atividade física e 7% durante a recuperação.

Em cães, dos 23 animais saudáveis observados com Holter durante o exercício, três apresentaram CVP, onde dois apresentaram as alterações principalmente após o exercício e um apresentou um CVP isolado durante o exercício, porém, essa arritmia pode ser devido a alteração gerada pela falta de condicionamento físico desses animais, visto que os cães desse estudo não eram atletas (BARRETTO *et al.*, 2013).

Em uma pesquisa utilizando 399 galgos de corrida, Vázquez *et al.*, (1998) observaram a ocorrência de 15 casos de CVP, sendo sete antes e oito após a prova dos 399 animais observados. Durante a monitoração eletrocardiográfica por 5 minutos, as ocorrências dos CVP's diminuíram, indicando sua natureza transitória.

Distintas alterações na conformidade das ondas podem ser observadas em diferentes espécies. Em relação à onda P, em equinos foi observada redução de sua duração após a realização de exercício nos animais praticantes de enduro, polo, três tambores e salto (PICCIONE *et al.*, 2003; DUMONT *et al.*, 2010; BELLO *et al.*, 2012; BINDA *et al.*, 2016). O aumento da FC pode levar a essa redução de onda P (NEGRÃO, 2010). Em equinos que realizaram prova de três tambores e cães participantes de prova de resistência foi observado o aumento na amplitude da onda P após realização de exercício (CONSTABLE *et al.*, 2000; BINDA *et al.*, 2016).

O aumento dessa onda pode sugerir uma sobrecarga de átrio esquerdo, e pessoas tanto quanto animais que praticam exercício podem apresentar um aumento de duração do complexo QRS, devido a uma hipertrofia cardíaca fisiológica em atletas (NEGRÃO, 2010). Esse aumento também foi observado quando Constable *et al.* (1994) compararam cães de trenó com cães não praticantes de atividade física.

Outros achados que podem ser encontrados nos equinos de enduro, polo, três tambores e salto, é a redução dos intervalos PR e QT, que é causado pela condução átrio ventricular acelerada, para permitir a elevação da FC; e a redução da duração do potencial de ação gera um encurtamento de QT por diminuir o período refratário (PICCIONE *et al.*, 2003; GILMOUR JR., 2006; DUMONT *et al.*, 2010; BELLO *et al.*, 2012; BINDA *et al.*, 2016). O contrário foi observado em cães de trenó comparados com cães sedentários e em cães participantes de prova de resistência após exercício, onde revelou – se um aumento de intervalo QT, que pode ser devido a alterações de

ritmo cardíaco, tamanho do coração, administração de fármacos e concentração eletrolítica sérica (CONSTABLE *et al.*, 1994; CONSTABLE *et al.*, 2000).

Alterações de onda T podem estar ligadas a condições fisiológicas e patológicas, e essas alterações encontradas antes ou depois do exercício, não são de valor diagnóstico para isquemia miocárdica, sendo indicado exames complementares (GILMOUR JR, 2006; NEGRÃO, 2010).

Binda *et al.* (2016), em seu estudo com equinos que realizaram prova de três tambores, obteve resultados de polaridade de onda T variados, podendo ser monofásica positiva, monofásica negativa e bifásica, e tais resultados podem estar associados ao estresse físico sofrido por esses animais.

Equinos de prova de resistência apresentaram desvio de eixo cardíaco antes e depois do exercício, sendo sugestivo de sobrecarga do ventrículo ao qual corresponde o desvio (DUMONT *et al.*, 2010). Esses achados são compatíveis com alterações que podem ser encontradas em casos de hipertrofia cardíaca (NEGRÃO, 2010).

O segmento ST pode sofrer alterações em humanos, o que indica uma repolarização ventricular precoce e isquemia, estando diretamente ligado com a intensidade de duração do exercício (NEGRÃO, 2010; KAŞIKÇIOĞLU, 2011). Em equinos, Dumont *et al.*, (2010; 2011) observaram que não houve alteração no segmento ST dentre os finalistas da prova de enduro, porém, 43% dos animais desclassificados por exaustão apresentaram alteração desse segmento. Foi proposto pelos autores que a alteração do segmento ST pode ser devido a uma desidratação que leva a um choque hipovolêmico, diminuindo o volume diastólico e o suprimento de sangue e O₂ ao miocárdio.

3. METODOLOGIA

Foram utilizados 10 cães com idade média de 4,9 ±2,7 anos, sendo 5 animais da raça Border Collie, 2 da raça Pastor Belga de Malinois, 1 Pastor Alemão e 2 da raça Rottweil e residentes de canis nas cidades de Viçosa (MG), Abre Campo (MG), e Caratinga (MG), no período de setembro de 2017 a abril de 2018. Os animais foram agrupados de acordo com sua aptidão, em 2 grupos sendo estes agility (A1 a A5) e guarda (G1 a G5).

Os animais A1 a A5 realizaram treinamento de circuito com obstáculos e os animais G1 a G5 realizaram treinamento de ataque.

Todos os animais foram avaliados eletrocardiograficamente em dois momentos distintos, denominados de momento 0 (M0) e momento 1 (M1). O M0 foi realizado com os cães em repouso e o M1 imediatamente após a realização de um treinamento de 5 minutos.

O exame eletrocardiográfico foi realizado utilizando um eletrocardiógrafo portátil computadorizado (ECG PC Veterinário – TEB – Tecnologia Eletrônica Brasileira®) com eletrodos modelo jacaré e gel condutor. Os animais foram posicionados em decúbito lateral direito e os eletrodos posicionados de acordo com recomendações de Tilley (1992). A monitorização eletrocardiográfica teve duração média de 5 minutos em cada um dos momentos e a avaliação foi feita utilizando a derivação DII.

Foram avaliados frequência cardíaca, duração e amplitude de onda P, complexo QRS, e onda T; duração do segmento PR e QT; amplitude das onda Q, R e S; presença de onda U; eixo e ritmo cardíaco.

Os valores obtidos foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Os parâmetros paramétricos ($P < 0,05$) foram avaliados utilizando-se o teste de ANOVA ao passo que os valores não paramétricos ($P > 0,05$) foram testados com o teste de Kruskal-Wallis.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ritmo sinusal e a arritmia sinusal respiratória foram os ritmos cardíacos observados nos animais avaliados em ambos os momentos (M0 e M1), como observado na Tabela 1. Um cão que apresentava arritmia sinusal no M0 passou a apresentar ritmo sinusal em M1. A arritmia sinusal é uma variação normal do ritmo cardíaco em cães, e é influenciada pelo tônus vagal, podendo desaparecer após o exercício devido às catecolaminas liberadas como resposta ao estresse simpático com inibição do tônus vagal (VÁZQUEZ *et al.*, 1998).

Tabela 1. Valores percentuais e absolutos de ocorrência de ritmo sinusal e arritmia sinusal respiratória, registradas por meio do método eletrocardiográfico computadorizado nos cães do presente estudo.

Momentos	Ritmo sinusal (%)	Arritmia sinusal (%)
M0	80% (8)	20% (2)
M1	90% (9)	10% (1)

Os valores de frequência cardíaca foram significativamente diferentes, entre M0 e M1. A média encontrada em M0 foi de 105 ±16 bpm, e em M1 foi de 134 ±19 bpm, sendo que o maior valor em M0 e M1 foi encontrado nos cães de Agillity (Tabela 2). A FC visivelmente mais elevada nos animais do grupo A pode ser explicada devido esses animais manterem exercícios físicos constantemente (TILLEY, 1992). A FC dos animais estudados encontra-se dentro dos padrões de referência de acordo com Tilley (2002), segundo quem os valores de normalidade devem estar entre 60 e 180, tendo variações entre raças.

Quadro 1. Valores de referência dos parâmetros descritos nas tabelas 2, 3 e 4:

Valores normais de ECG para cães	
Frequência cardíaca	60 a 180 bpm
Ritmo	Ritmo sinusal Arritmia sinusal Marca-passo migratório
Onda P	
Altura	Máxima: 0,4 mV
Largura	Máxima: 0,04 s
Intervalo PR	0,06 - 0,13 s
QRS	
Altura	Máximo: 3,0 mV
Largura	Máximo: 0,06 s
Segmento ST	
Infradesnivelamento	Não mais que 0,2 mV
Supradesnivelamento	Não mais que 0,15 mV
Intervalo QT	0,15 a 0,25 s em FC normal
Ondas T	Pode ser positiva, negativa ou bifásica Amplitude varia de 0,05 a 1,0 mV em qualquer derivação Não mais do que 1/4 da amplitude da onda R
Eixo elétrico	+ 40 para + 100

Fonte: Tilley (2002).

Tabela 2. Valores de frequência cardíaca encontrados nos dois momentos de avaliação.

Identificação	FC em M0 (bpm*)	FC em M1 (bpm*)
A1	85	166
A2	88	104
A3	109	142
A4	126	119
A5	131	157
G1	88	121
G2	114	128
G3	101	145

G4	100	150
G5	114	111

*bpm: batimentos por minuto

Os valores de duração de onda P foram significativamente diferentes entre os momentos M0 e M1, ao passo que a duração dos segmentos PR, QRS e QT não apresentaram diferença significativa entre as avaliações. Segundo Tilley (1992), o aumento na duração da onda P nos sugere sobrecarga atrial e ventricular esquerda, respectivamente.

Ao avaliar individualmente os animais em M0 (Tabela 3), foram observadas alterações quanto à duração da onda P dos animais A4, A5, G1, G3, G4 e G5; do segmento PR dos animais G4 e G5; e do complexo QRS dos animais A5 e G1 quando comparados aos valores de referência determinados por Tilley, (2002). Na avaliação de M1 (Tabela 4), foram observadas alterações quanto à duração da onda P nos animais A1, A2, A3, A5, G1, G2, G3 e G4; do segmento PR dos animais A3, G4 e G5; do complexo QRS do animal A4, e do segmento QT dos animais A5 e G3 onde também foram comparados aos valores de referência determinados por Tilley, (2002).

Tabela 3. Valores encontrados na avaliação eletrocardiográfica de cães de agility e guarda antes da realização da atividade física (M0).

Animal	P (ms)	PR (ms)	QRS (ms)	QT (ms)	U	P (mV)	Q (mV)	R (mV)	S (mV)	T (mV)	Eixo
A1	48 ^a	113 ^a	45 ^a	210 ^a	presente	0.10 ^a	0.19 ^a	1.07 ^a	0 ^a	0.25 ^a	86 ^{oa}
A2	58 ^a	125 ^a	55 ^a	195 ^a	ausente	0.06 ^a	0.21 ^a	1.81 ^a	0 ^a	0.20 ^a	62 ^{oa}
A3	43 ^a	128 ^a	50 ^a	182 ^a	ausente	0.16 ^a	0.08 ^a	1.60 ^a	0.03 ^a	0.25 ^a	83 ^{oa}
A4	58 ^a	113 ^a	63 ^a	188 ^a	ausente	0.12 ^a	0.08 ^a	0.95 ^a	0.09 ^a	0.33 ^a	64 ^{oa}
A5	55 ^a	118 ^a	72 ^a	187 ^a	ausente	0.19 ^a	0 ^a	0.85 ^a	0.12 ^a	0.16 ^a	51 ^{oa}
G1	65 ^a	118 ^a	70 ^a	218 ^a	presente	0.14 ^a	0 ^a	0.55 ^a	0.04 ^a	0.05 ^a	56 ^{oa}
G2	43 ^a	132 ^a	60 ^a	228 ^a	ausente	0.08 ^a	0.08 ^a	0.82 ^a	0 ^a	0.24 ^a	107 ^{oa}
G3	50 ^a	137 ^a	42 ^a	180 ^a	presente	0.21 ^a	0.33 ^a	0.88 ^a	0 ^a	0.10 ^a	79 ^{oa}
G4	52 ^a	153 ^a	39 ^a	182 ^a	presente	0.15 ^a	0.36 ^a	0.52 ^a	0 ^a	0.15 ^a	40 ^{oa}
G5	65 ^a	168 ^a	43 ^a	192 ^a	presente	0.19 ^a	0.56 ^a	0.62 ^a	0 ^a	0.15 ^a	78 ^{oa}

Valores seguidos por letras distintas dentro da coluna são significativamente diferentes. P (ms): duração de onda P em milissegundos; PR (ms): duração do segmento PR em milissegundos; QRS (ms): duração do complexo QRS em milissegundos; QT (ms): duração do segmento QT em milissegundos; U: onda U; P (mV): amplitude da onda P em milivolts; Q (mV): amplitude da onda Q em milivolts; R (mV): amplitude da onda R em milivolts; S (mV): amplitude da onda S em milivolts; T (mV): amplitude da onda T em milivolts; Eixo: posição do eixo cardíaco em graus

Tabela 4. Valores encontrados na avaliação eletrocardiográfica de cães de agility e guarda depois da realização da atividade física (M1).

Animal	P (ms)	PR (ms)	QRS (ms)	QT (ms)	U	P (mV)	Q (mV)	R (mV)	S (mV)	T (mV)	Eixo
A1	60 ^a	120 ^a	57 ^a	162 ^a	presente	0.18 ^a	0.21 ^a	0.96 ^a	0.03 ^a	0.27 ^a	81 ^{oa}
A2	52 ^a	137 ^a	52 ^a	165 ^a	ausente	0.16 ^a	0.08 ^a	1.62 ^a	0 ^a	0.19 ^a	65 ^{oa}
A3	52 ^a	145 ^a	57 ^a	152 ^a	presente	0.14 ^a	0.12 ^a	1.41 ^a	0.04 ^a	0.31 ^a	83 ^{oa}
A4	37 ^a	98 ^a	82 ^a	175 ^a	presente	0.09 ^a	0.05 ^a	1.07 ^a	0.07 ^a	0.22 ^a	73 ^{oa}

A5	60 ^a	125 ^a	62 ^a	155 ^a	ausente	0.12 ^a	0.03 ^a	0.98 ^a	0 ^a	0.18 ^a	74 ^{oa}
G1	68 ^a	105 ^a	68 ^a	190 ^a	presente	0.14 ^a	0 ^a	0.41 ^a	0.10 ^a	0.14 ^a	55 ^{oa}
G2	62 ^a	130 ^a	52 ^a	187 ^a	presente	0.12 ^a	0.14 ^a	1.05 ^a	0 ^a	0.20 ^a	82 ^{oa}
G3	67 ^a	138 ^a	48 ^a	143 ^a	presente	0.34 ^a	0.14 ^a	0.98 ^a	0 ^a	0.16 ^a	53 ^{oa}
G4	60 ^a	147 ^a	50 ^a	162 ^a	presente	0.19 ^a	0.25 ^a	0.77 ^a	0.06 ^a	0.16 ^a	64 ^{oa}
G5	48 ^a	173 ^a	37 ^a	183 ^a	presente	0.19 ^a	0.37 ^a	0.59 ^a	0 ^a	0.15 ^a	33 ^{oa}

Valores seguidos por letras distintas dentro da coluna são significativamente diferentes. P (ms): duração de onda P em milissegundos; PR (ms): duração do segmento PR em milissegundos; QRS (ms): duração do complexo QRS em milissegundos; QT (ms): duração do segmento QT em milissegundos; U: onda U; P (mV): amplitude da onda P em milivolts; Q (mV): amplitude da onda Q em milivolts; R (mV): amplitude da onda R em milivolts; S (mV): amplitude da onda S em milivolts; T (mV): amplitude da onda T em milivolts; Eixo: posição do eixo cardíaco em graus.

Levando em conta os valores de referência estabelecidos para a espécie canina, o presente estudo evidenciou que as medidas de duração da onda P ultrapassaram esses valores em 60% dos cães em M0 e em 80% dos cães em M1. Quando há um aumento no átrio esquerdo, a onda P pode sofrer alargamento (P mitrale) devido a um aumento na duração da despolarização (TILLEY, 2002; WARE, 2013).

Analisando os resultados obtidos em um estudo feito por Lima *et al.* (2016) é possível observar um discreto aumento na duração da onda P em cães das raças Labrador e Pastor Belga de Malinois. Eles relacionaram a alteração na onda P, assim como o aumento de duração do intervalo PR e no valor de QT com o método eletrocardiográfico que foi utilizado, visto que o método computadorizado pode apresentar diferença de sensibilidade se comparado ao método convencional.

No presente estudo, foi verificado que a idade do animal não interferiu de forma significativa nas medidas de amplitude e duração do complexo QRS. Porém, verificou-se uma tendência ao aumento da duração da onda P com o aumento da idade. Pode haver apoptose e deposição de tecido fibroso no tecido cardíaco, bem como aumento progressivo na quantidade de tecido conjuntivo no interstício do coração, sendo ambos relacionados ao envelhecimento (BENEDICT, 2003). Como isso, pode ocorrer um retardo do tempo de condução que leva a medidas prolongadas, o que aumenta a duração de onda P e do complexo QRS.

A amplitude das ondas P, Q e S apresentaram diferença significativa entre os momentos avaliados, enquanto a amplitude do complexo QRS e da onda R em M1 não foram estatisticamente diferentes se comparadas ao M0. Na avaliação individual dos animais, foram observadas alterações quanto à amplitude da onda P do animal

A2 em M0 quando em comparação aos valores de referência determinados por Tilley (2002).

Segundo Ware (2006) A amplitude de P pode sofrer elevação quando há aumento de átrio direito (P pulmonale). Observou-se em alguns estudos a elevação dos valores de duração e amplitude de onda P, duração do complexo QRS, amplitude da onda R e duração do intervalo Q-T na eletrocardiografia computadorizada em comparação a convencional (GAVA *et al.*, 2011).

As alterações de amplitude ou duração destes e outros segmentos observados podem sugerir aumento ou distúrbio de condução de uma câmara cardíaca em particular. Desta forma, no ato da interpretação do exame eletrocardiográfico, os valores basais para tais parâmetros devem estar corretamente estabelecidos dependendo do método a ser utilizado(WARE, 2006).

O eixo cardíaco apresentou diferença significativa entre M0 e M1. O eixo elétrico cardíaco, tanto do grupo de Agility quanto do grupo de Guarda, apresentou valores dentro da normalidade, exceto no animal G2 no M0 e no animal G5 no M1. O animal G2 apresentou um desvio do eixo para a direita de 7 graus, enquanto o animal G5 apresentou um desvio de eixo para a esquerda de 7 graus. (TILLEY, 1992). Esse desvio pode ser consequência do posicionamento aproximadamente perpendicular do coração em relação ao esterno. Cardoso et al. (2013) avaliaram cães da raça American Pit Bull Terrier, e observaram desvio do eixo para a esquerda (35 graus). Este desvio pode indicar aumento ventricular ou distúrbios na condução (WARE, 2013).

Entre os animais utilizados no presente estudo, foram verificadas algumas alterações como bloqueio átrio ventricular (BAV), onda T bifásica, onda T negativa e presença de onda U. Alterações sugestivas de BAV Mobitz tipo I avançando para Mobitz II encontrado no animal G1 em ambos os momentos avaliados podem ser relacionadas, segundo Tilley (1992), a uma diminuição da condução atrioventricular (AV), porém, existem outras causas possíveis como a fibrose idiopática, impulso vagal, uso de drogas (digoxina) e desequilíbrios eletrolíticos.

Tal enfermidade é uma alteração eletrocardiográfica significativamente grave, pois pode reduzir o débito cardíaco e inclusive culminar a morte do indivíduo com o bloqueio átrio ventricular total (TILLEY, 2002). Medeiros, (2015) ressaltou que independentemente de sinais clínicos evidentes o implante de marcapasso deve ser

considerado em todos os cães com bloqueio persistente de segundo ou terceiro grau. Medicamentos vagolíticos pode ser a melhor escolha se o tratamento médico for justificado.

Houve aparecimento de onda U em 50% dos animais no M0 e em 80% dos animais no M1. Seu surgimento ainda é motivo de muita discussão. Algumas teorias incluem repolarização tardia de certas regiões do miocárdio, repolarização das fibras de Purkinje, pós-potenciais precoces e tardios encontrados nas fibras de Purkinje e no miocárdio contrátil, em determinadas condições (FILIPPI, 2000).

Foram observadas mudanças de polaridade na onda T. No M0 todos os animais do grupo Agillity apresentaram onda T negativa, e isso representa 50% dos animais avaliados neste estudo. No M1 30% dos animais apresentaram onda T bifásica e outros 40% apresentaram onda T negativa.

A onda T pode sofrer alterações por diversos fatores fisiológicos e patológicos como excitação, tônus vagal, esforço físico, fármacos, hipóxia do miocárdio, miocardite e distúrbios eletrolíticos (GILMOUR JR., 2006).

Neste estudo a ocorrência de inversão de polaridade de onda T pode ser associada com a realização do exercício físico, assim como observado em equinos por Binda *et al.*, (2016). No entanto, esta alteração é inespecífica e sem valor diagnóstico para a isquemia do miocárdio a influência de alterações na onda T sobre o desempenho atlético (NEGRÃO, 2010).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que animais de trabalho podem ter alterações, tais como aumento na duração de onda P, segmento PR e complexo QRS; diminuição de segmento QT; desvios de eixo elétrico cardíaco; mudanças de polaridade de onda T e bloqueio átrio ventricular.

A prática de exercício físico levando em conta a capacidade física de cada animal é fundamental para uma melhor qualidade de vida e prevenção de diversos problemas cardiovasculares, sobretudo o seu excesso pode causar alterações cardíacas, fisiológicas ou patológicas. É importante a realização de exames periódicos nesses animais.

6. REFERÊNCIAS

- ANTUNES, H.K.M.; ANDERSEN, M.L.; TUFIK, S. *et al.* Privação de Sono e Exercício Físico. **Rev Bras Med Esporte**, v.14, p.51-56, 2008.
- BARBOSA, E. C.; BARBOSA, P. R. B.; BOMFIM, A. S.; ROCHA, P. J.; GINEFRA, P. **Repolarização precoce no eletrocardiograma do atleta. Bases iônicas e modelo vetorial.** Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2002.
- BARRETTO, F. L.; FERREIRA, F. S.; FREITAS, M. V.; SANTOS, V. S.; CORREA, E. S.; CARVALHO, C. B. Eletrocardiografica contínua (holter) em cães saudáveis submetidos a diferentes exercícios físicos. **Arq Bras Med Vet Zootec**, v.65, n.6, p.1625-1634, 2013.
- BECK, E. K.; SCHEEREN, E. M.; NOGUEIRA, G. N. N.; BUTTON, V. L. S. N.; NEVES, E. B.; NOHAMA, P. Potencial de ação: do estímulo à adaptação neural. **Fisioter Mov.** v. 24, n. 3, p. 535-547, jul./set. 2011.
- BELERENEAN, G. C.; MUCHA, C. J.; CAMACHO, A. A. **Afecções cardiovasculares em pequenos animais.** São Caetano do Sul: Inter Book; 2003.
- BELLO, C. A. O.; VASCONCELOS, C. E. S.; GODOY, R. F.; TEIXEIRA NETO, A. R.; BORGES, J. R. J.; LIMA, E. M. M. Ecocardiografia de equinos Puro Sangue Árabe após exercício de enduro de diferentes intensidades. **Cienc Rural**, v.41, n.1, p.132-136, 2011.
- BELLO, C. A. O.; DRUMONT, C. B. S.; SOUZA, T. C.; PALMA, J. M.; LIMA, E. M. M.; GODOY, R. F.; NETO, G. B. P.; MOREIRA, M. Avaliação eletrocardiográfica de equinos após exercício de polo (baixo handicap). **Pesq Vet Bras**, v.32, p.47-52, 2012.
- BELLO, C. A. O.; DRUMONT, C. B. S.; SOUZA, T. C.; CANIELLO, N. T.; GODOY, R. F.; BORGES, J. R. J.; MOREIRA, M.; LIMA, E. M. M. Avaliação ecocardiográfica de equinos após exercício de polo. **Pesq Vet Bras**, v.32, p.1191-1195, 2012.
- BENEDICTO H.G. & BOMBONATO P.P. 2003. Quantificação de tecido conjuntivo do músculo cardíaco de cães. **Braz J Vet Res Anim Sci.** 40:108-116.
- BILLMAN, G.E. Aerobic exercise conditioning: a nonpharmacological antiarrhythmic intervention. **J. Appl. Physiol.**, v.92, p.446-454, 2002.
- BINDA, M. B.; TEIXEIRA, F. A.; CARVALHO, R. S.; MACEDO, L. P.; CONTI, L. M. C.; MANSO FILHO, H. C.; COELHO, C. S. Effects of 3-barrel racing exercise on electrocardiographic and on blood parameters of quarter horses. **J Equine Vet Sci.** v. 47, p. 71-76. 2016.
- BUCH, N.A.; COOTE, J.H.; TOWNEND, J.N. Mortality, cardiac vagal control and physical training what's the link? **Exp. Physiol.**, v.87, p.423-435, 2002.
- AUBERT, A. E.; SEPS, B.; BECKERS, F. Heart rate variability in athletes. **Sports Med.**; p. 889-919; 2013.

BUHL, R.; MELDGAARD, C.; BARBESGAARD, G. Cardiac arrhythmias in clinically healthy showjumping horses. **Equine Vet J**, v.38, p.196-201, 2010.

BUSS, D. D. Circulações especiais. In: REECE W. O. **Dukes – Fisiologia dos Animais Domésticos**, cap. 20, p.299-315. Rio de Janeiro. Guanabara Koogani, 2006

CAMACHO A.A., PAULINO J.R.D., PASCON J.P.E. & TEIXEIRA A.A. Comparison between conventional and computerized electrocardiography in cats. **Arq Bras Med Vet Zootec**, 62:765- 769, 2010.

CARDOSO M.J.L., MELUSSI M., JUNIOR A.Z., CLAUDINO J. & FAGNANI R. Eletrocardiografia computadorizada em cães da raça *American pit Bull Terrier*. **Semina**, 34:2341-2348, 2013.

CONSTABLE, P. D.; HINCHCLIFF, K. W.; OLSON, J.; HAMLIN, R. L. Athletic heart syndrome in dogs competing in a long-distance sled race, **J Appl Physiol**, v.76, n.1, p.433, 1994.

CONSTABLE, P.D.; HINCHCLIFF, K. W.; OLSON, J.; STEPIEN R. L. Effects of endurance training on standard and signal-average electrocardiograms of sled dog. **Am J Vet Res**, v. 61, n.5, p. 581-588, 2000.

CORRADO, D. *et al.* Recommendations for interpretation of 12-lead electrocardiogram in the athlete. **Eur Heart J**, v. 31, n.2, p. 243-259, 2010.

DUMONT, C. B. S.; LEITE, C. R.; MORAES, J. M.; ALVES, R. O.; GODOY, R. F.; LIMA, E. M. M. Parâmetros eletrocardiográficos de equinos puro sangue árabe submetidos a exercício de enduro. **Cien Rural**, v. 40, n.9, p.1966-1973, 2010.

DUMONT, C. B. S.; MORAES, J. M.; LEITE, C. R.; ALVES, R. O.; MOREIRA, M.; MOSCARDINI, A. R. C.; GODOY, R. F.; LIMA, E. M. M. Parâmetros eletrocardiográficos de equinos desclassificados por exaustão em competição de enduro. **Arq Bras Med Vet Zootec**, v.63, n.1, p.29-27, 2011.

FILIPPI, L. H. **O Eletrocardiograma na Medicina Veterinária**. Editora ROCA, 2000.

GAVA F.N., PAULINO-JUNIOR D., PEREIRA-NETO G.B., PASCON J.P.E., SOUSA M.G., CHAMPION T. & CAMACHO A.A. Eletrocardiografia computadorizada em cães da raça Beagle. **Arq Bras Med Vet Zootec**, 63:317-321, 2011.

GILMOUR JR., R. F.; MÖISE, N. S. Eletrocardiograma e arritmias cardíacas. In: REECE, W.O. **Dukes – Fisiologia dos Animais Domésticos**. cap.13, p.197-207. 12ª ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogani, 2006.

GOLDWASSER, G. P. **Eletrocardiograma orientado para o clínico**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2002.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 10ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2002.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 13ª edição. Rio de Janeiro. Elsevier, 2017.

JAMES, A. F.; CHOISY, S. C.; HANCOX, J. C. Recent advances in understanding sex differences in cardiac repolarization. **Prog Biophys Mol Biol.** v. 94, n. 3, p. 265-319 2007.

KAŞIKÇIOĞLU, E. The incognita of the known: the athlete's heart syndrome. **Anadolu Kardiyol Derg.** v.11, p. 351-359, 2011.

LIMA, A. M.; FERREIRA, L. T.; SILVA, S. C.; JORGE, S. F.; RAMOS, M. T.; PASCON, J. P. E.; MOREIRA, R. M.; ABIDU-FIGUEIREDO, M. Avaliação eletrocardiográfica em cães da Polícia Militar do Estado do Rio de Janeiro. **Rev Bras Med Vet**, 38(Supl.2):61-66, 2016

MAIA, I. G.; SILVA SÁ, R. M. Anatomia e eletrofisiologia do coração. **RELAMPA** 2001. Disponível em: <http://relampa.org.br/detalhe_artigo.asp?id=604>. Acesso em: 27 Out. 2017.

MEDEIROS, L. D.; BASTOS, C. M.; ABIDU-FIGUEIREDO, M.; SANTOS-SOUZA, C. A.; MENCALHA, R. Utilização do cateter epidural em cadela portadora de bloqueio átrio ventricular de segundo grau Mobitz tipo II submetida a mastectomia total bilateral: relato de caso. **Rev Port de Cienc Vet.** 2015.

MOTTA, R. R. **Bom pra Cachorro! Qualidade de Vida para seu Cão.** 1ª edição. Editora Gente, 2009.

NEGRÃO, C. E.; BARRETO, A. C. P. **Cardiologia do Exercício: do Atleta ao Cardiopata.** 3ª ed. São Paulo: Manole, 2010.

PASCHOAL, M. A.; PETRELLUZZI, K. F. S.; GONÇALVES, N. V. O. Estudo da variabilidade da frequência cardíaca em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica. **Rev Cienc Med.** v. 11, p. 27-37; 2002.

PASCHOAL, M. A.; PETRELLUZZI, K. F. S.; GONÇALVES, N. V. O. Controle autonômico cardíaco durante a execução de atividade física dinâmica de baixa intensidade. **Rev SocCardiol.** v. 13, p. 1-11; 2003.

PICCIONE, G. et al. Electrocardiographic changes induced by physical exercise in the jumper horse. **Arq Bras Med Vet Zootec**, v.55, n.4, p.397-404, 2003.

PRITCHARD, J. C.; LINDBERG, A. C.; MAIN, D. C. J.; WHAY, H. R. Assessment of the welfare of working horses, mules and donkeys, using health and behaviour parameters. **Appl Anim Behav Sci.** v. 69, p. 265-283; 2005.

PUMPRLA, J.; HOWORKA, K.; GROVES, D.; CHESTER, M.; NOLAN, J. Functional assessment of heart rate variability: physiological basis and practical applications. **Int J Cardiol.** v. 84, p. 1-14; 2002.

RAJENDRA, A. U.; PAUL J. K.; KANNATHAL N.; LIM C. M.; SURI J. S. Heart rate variability: a review. **Med Biol Eng Comput.** v. 44, n. 12, p. 1031-51; 2006.

RAMOS, P. A.; SOUSA, S. B. **Eletrocardiograma: princípios, conceitos e aplicações.** Tese de Doutorado, Engenharia Elétrica. Universidade de Brasília, 2007.

SANTOS, M. D. B.; MORAES, F. R.; MARÃES, V. R. F. S.; SAKABE, D. I.; TAKAHASHI, A. C. M.; OLIVEIRA, L., *et al.* Estudo da arritmia sinusal respiratória e

da variabilidade da frequência cardíaca de homens jovens e de meia-idade. **Rev Soc Cardiol.** v. 13, p. 15-24; 2003.

SANTOS, P. O. P. R. **Avaliação cardiovascular de cães em treinamento de busca, resgate e salvamento.** Tese de Mestrado, Ciências Veterinárias. Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, 2017.

STEPHENSON, R. B. Fisiologia cardiovascular. In: KLEIN, B.G. Cunningham – **Tratado de Fisiologia Veterinária.** 5ª edição. Rio de Janeiro. Elsevier, 2014.

STICKLAND, M. K.; SMITH, C. A.; SORIANO, B. J.; DEMPSEY, J. A. Sympathetic restraint of muscle blood flow during hypoxic exercise. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** v. 296, p. 1536-1546; 2009.

SURAWICZ, B.; KNILANS, T. K. **Chou's Electrocardiography. In Clinical Practice.** 5ª ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2001.

TILLEY, L. P. **Essentials of Canine and Feline Electrocardiography: Interpretation and Treatment.** 3ª ed. Philadelphia: Lea &Febiger, 1992.

TILLEY, L. P.; GOODWIN, J. K. **Manual de Cardiologia para Cães e Gatos.** 3ª ed. São Paulo: Editora ROCA, 2002.

TILLEY, L. P., BURTNICK, N. L. **Eletrocardiografia para o Clínico de Pequenos Animais.** 1ª ed. Editora ROCA, 2005.

TRANCHESI, J. **Eletrocardiograma normal e patológico: Noções de Vetocardiografia.** Revisada por Moffa PJ, Sanches PCR. São Paulo: Roca; 2001.

TRUEX, R. C. The sinoatrial node and its connections with the atrial tissues. In WELLES, H. J. J. (ed.): **The conduction System of the Heart: Structure, Function and Clinical Implications.** Philadelphia L&F, 1976.

VÁZQUEZ, J.P.; GOMÉZ, F. P.; BADILLO, A. A.; LUNA, J. F. D.; RODRÍGUEZ, L. P. R. Arritmias cardíacas inducidas por el ejercicio dinámico máximo de corta duración (sprint): estudio em el galgo greyhound. **Rev Esp Cardiol Supl,** v.51, p.559-565, 1998.

WARE, W.A. Diagnostic tests for the cardiovascular system. In: NELSON, R.W. & COUTO, C.G., **Small Animal Internal Medicine.** 5th ed. Mosby Elsevier, Missouri, 2013.

WARE, W. A. Exames diagnósticos do sistema cardiovascular. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais.** 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. cap.2.

SINCRONIZAÇÃO DE RECEPTORAS PARA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS *IN VIVO* EM TEMPO FIXO

Acadêmicos: Pedro Henrique Caminhas Dias e Sabrina de Freitas Vieira
Orientadora: Vívian Rachel de Araújo Mendes

RESUMO

A transferência de embriões possui uma grande importância para a produção animal, pois é um método econômico e prático para aumentar a eficiência reprodutiva de uma propriedade. O objetivo desse trabalho, foi realizar a sincronização do estro em receptoras, para transferência de embriões bovinos em tempo fixo. O presente trabalho, foi realizado na fazenda Tabuões no município de Queluzito – MG, utilizando 17 receptoras, sendo 12 novilhas e 5 vacas da raça Holandesa. As receptoras, foram submetidas a um protocolo hormonal, que consistiu na colocação de um implante de progesterona e aplicação de benzoato de estradiol no dia 0. No dia 8, foi realizada a retirada do implante de P4, aplicação de prostaglandina, eCG e cipionato de estradiol. No dia 10, foi realizada a aplicação de GnRH. No D16 foi, realizada a seleção das receptoras aptas a receber embriões, por meio de uma avaliação ultrassonográfica, que foram transferidos no D17. A taxa de sincronização obtida, foi de 100% nas novilhas e vacas. A taxa de concepção foi 33,3%, sendo apenas quatro novilhas gestantes. Conclui-se que houve sucesso na sincronização das receptoras, mas, devido a interferência dos fatores ambientais como, estresse térmico, obteve uma taxa de concepção abaixo da média esperada.

PALAVAS-CHAVE: Estresse calórico; Receptora; Sincronização; Transferência de embriões.

1. INTRODUÇÃO

O rebanho bovino brasileiro, alcançou 215,2 milhões de cabeça no ano de 2015, tendo um aumento de 1,3% em relação ao ano anterior (IBGE, 2015). A pecuária bovina brasileira, vem mostrando um grande avanço na reprodução, com a utilização de técnicas da reprodução, como a: Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), a Transferência de Embriões (TE) e a produção *in vitro* de embriões (PIVE), gerando lucro aos produtores (BURATINI JR., 2006).

A transferência de embriões, consiste em transferir o embrião de uma fêmea doadora para uma fêmea receptora, no intuito de completar o período de gestação. Possui uma grande importância para produção animal, pois com ela, tem a possibilidade de uma fêmea produzir um número de descendentes superior ao que seria possível fisiologicamente durante sua vida reprodutiva (REICHENBACH *et al.*, 2002). A TE, é um método econômico e prático para aumentar taxas reprodutivas de

uma propriedade que possui fêmeas de alto valor genético. Além de apresentar uma maior segurança no ponto de vista epidemiológico para transmissão de enfermidades, quando comparado ao trânsito livre de matrizes e reprodutores vivos (NEVEZ, 2010).

De acordo com Andrade *et al.* (2002), a TE apresenta uma série de vantagens para seleção zootécnica com reflexos na produção animal, como: aumento do número de descendentes de animais de genética superior, redução do intervalo de gerações, acelerando o melhoramento genético. Para o sucesso na transferência de embriões, deve-se observar o estro das doadoras e receptoras quanto à sincronização, regularidade e intensidade (TANEJA *et al.*, 2000).

Segundo BÓ *et al.* (2002), a TE apresenta algumas limitações que restringem a sua difusão, tais como: a variabilidade na resposta dos tratamentos hormonais e a variação nos resultados obtidos. A seleção e o manejo adequado das receptoras de embriões, são indispensáveis para o sucesso do programa, pois a mortalidade embrionária após a transferência, ainda é expressiva e limita a eficiência dessa técnica.

Vários fatores podem afetar a eficiência do resultado da TE. O estado nutricional é de grande importância, pois afeta a performance reprodutiva das fêmeas. O escore de condição corporal (ECC), altera a regulação do desenvolvimento folicular ovariano e esteroidogênese, e reflete na qualidade e quantidade dos embriões produzidos (SARTORI *et al.*, 2007). Altas temperaturas, umidade e radiação, fazem com que diminua a eficiência do animal em perder calor, o que compromete o estado reprodutivo. Novilhas que passam por esse estado de estresse antes, durante ou depois do procedimento de inovulação, vão apresentar queda na taxa de prenhez (COSTA FILHO, 2013).

As receptoras de embriões, devem apresentar um bom estado de saúde, com boas condições corporais, com no mínimo de 50 a 60 dias pós parto. Devem estar livres de doenças e anomalias no trato reprodutivo, e com ECC entre 3 e 4 (PASA, 2008). De acordo com Scarpelli (2003), é ideal conhecer o histórico reprodutivo das receptoras.

Outro fator de extrema importância, é a escolha do protocolo de sincronização de estro (BELTRAME *et al.*, 2010). Para controle da onda folicular e ovulação, têm sido utilizados fármacos desprezando a detecção do estro, para facilitar o manejo de doadoras e receptoras de embrião (BARUSELLI *et al.*, 2011). Existem vários

protocolos de sincronização de estro a base de progestágenos associados à luteolíticos e estradiol para regressão espontânea do corpo lúteo. Esse tipo de protocolo, vem sendo muito utilizado para sincronização de estro nas receptoras (BÓ *et al.*, 2004).

O objetivo desse trabalho, foi realizar a sincronização do estro em receptoras para transferência de embriões bovinos em tempo fixo.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 - CICLO ESTRAL

O ritmo funcional dos órgãos das fêmeas de animais domésticos, se estabelece a partir da puberdade, eles são regulados por mecanismos endócrinos e neuroendócrinos, mas principalmente pelos hormônios hipotalâmicos, as gonadotrofinas e esteróides secretados pelos ovários. O ciclo estral, é onde ocorre o desenvolvimento e atresia dos folículos com presente manifestação de cio e ovulação, podendo acontecer de apenas um ou vários folículos amadurecerem (HAFEZ, 2004).

O ciclo estral dos bovinos dura em torno de 21 dias, podendo variar de 17 à 24 dias, apresentando geralmente duas ou três ondas de crescimento folicular, raramente, apresenta uma ou quatro ondas (GINTHER *et al.*, 1996). O estro, em uma vaca dura em média 18 horas, mas a ovulação ocorre entre 10 à 12 horas após o final do estro (AIELLO, 2001). O ciclo estral nos bovinos se divide em quatro etapas, sendo: proestro, estro, metaestro e diestro, ou dividido em duas fases de acordo com predomínio de hormônios, sendo fase folicular com presença de estrógeno e a fase luteal com presença de progesterona. A fase folicular ou estrogênica vai do proestro ao estro, momento em que ocorre o desenvolvimento do folículodominante, no estro é o período onde vai ter receptividade sexual (aceitação da monta). Já a segunda fase é a fase luteínica, onde se caracteriza pelo desenvolvimento do CL no metaestro e o diestro a maturação do CL (REIS, 2004).

2.2. SINCRONIZAÇÃO DE RECEPTORAS

A sincronização entre o processo de desenvolvimento do embrião e o trato reprodutivo da receptora, é um pré-requisito para transferência de embriões. Geralmente, é conseguido quando selecionam receptoras que apresentam estro ao mesmo tempo que a doadora, seja de forma natural ou através de protocolos de sincronização de estro. Para melhores resultados, a receptora deve apresentar o estro

em um prazo de 12 horas em relação à doadora. As taxas de prenhez podem diminuir, se a diferença for maior que 24 horas (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Fatores fundamentais para o sucesso da sincronização de receptoras são: idade, grau de assincronia embrião-receptora, reutilização das receptoras, condições nutricionais (CALLESEN *et al.*, 1996; HASLER *et al.*, 1987; SREENAN e DISKIN, 1987; EVANGELISTA e SOUSA, 1999; PEIXOTO *et al.*, 2004; JONES e LAMB, 2008).

Segundo Valentim e Gofert (2004), a sincronização de receptoras é extremamente importante para o sucesso da TE. Para que ocorra uma boa implantação do embrião no útero da receptora, é necessário que ela esteja numa fase de ciclo estral em que as doadoras estavam quando o embrião foi coletado (VIEL JÚNIOR, 2007).

A sincronização, consiste em encurtar ou prolongar o ciclo estral com utilização de hormônios que induzam a luteólise ou prolonguem a vida do corpo lúteo (CL) (MORAES *et al.*, 2001).

Existe várias técnicas de controle do ciclo estral para sincronização de receptoras, que vai do mais antigo, a base de prostaglandina (PGF2a), aos mais modernos protocolos, que utilizam o conceito de sincronização do crescimento folicular e da ovulação (VALENTIM E GOFERT, 2004).

2.3. HORMÔNIOS USADOS PARA SINCRONIZAÇÃO

2.3.1. Progesterona (P4)

A progesterona, é um hormônio utilizado na regulação do funcionamento do sistema reprodutor feminino, ela é produzida principalmente pelo corpo lúteo (CL), sendo este, proveniente da reorganização das células foliculares após o processo ovulatório. Dentre as funções fisiológicas da P4, está o crescimento das glândulas uterinas e mamárias e a estimulação das glândulas endometriais para secreção de fluido endometrial, também necessário para manutenção da gestação. Atua sinergicamente com hormônios estrógenos em diversas funções fisiológicas. A P4 em altos níveis, vai inibir o estro e a onda ovulatória de LH (Hormônio luteinizante), assim, estabelecendo essa importância da regulação do ciclo estral (HAFEZ, 2004).

2.3.2. hCG (Gonadotrofina coriônica humana)

É um hormônio glicoproteico sintetizado pelo embrião entre 2-8 dias após a fertilização, depois desse período, é principalmente produzido pelas células sinciciais placentárias (de MEDEIROS e NORMAN, 2009).

Nos animais domésticos, o hCG é utilizado devido a sua atividade ser semelhante à do LH. O tratamento do hCG por sua vez, aumenta a vida útil do CL, aumentando a produção de P4 (SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAM, 1992); promove a formação do CL acessório, quando administrado no início da fase luteal (SANTOS *et al.*, 2004) e modifica a dinâmica folicular (DIAZ *et al.*, 1998).

2.3.3. eCG (Gonadotrofina coriônica equina)

O eCG é um hormônio glicoproteico, é produzido nos cálices endometriais do útero de éguas prenhas. Tem atividade semelhante do Hormônio folículo estimulante (FSH) e LH (Hormônio luteinizante), e tem sido utilizado com frequência para provocar desenvolvimento de folículos e ovulação (GRUNERT e GREGORY, 1984).

2.3.4. GnRH (Hormônio liberador de gonadotrofina)

O GnRH, é produzido pelo hipotálamo e ocupa um papel central na função reprodutiva de bovinos (FERREIRA, 2010). Através da sua produção, estimula-se a hipófise anterior a liberar FSH e LH através do sistema-hipotalâmico-hipofisário (HAFEZ e HAFEZ, 2004). A administração de GnRH, induz a ovulação ou a luteinização do folículo dominante presente no momento do tratamento. O GnRH, induzirá um pico de LH, resultando na ovulação ou luteinização do folículo dominante e emergência de uma nova onda de crescimento folicular (BÓ *et al.*, 2004).

2.3.5. Estrógenos

O tratamento com estrógeno, tem sido cada vez mais empregado em programas de sincronização do estro em bovinos. O tratamento consiste, na inserção de um dispositivo contendo progestágeno/progesterona e na administração de estrógeno e progestágeno/progesterona no dia 0 para emergência de uma nova onda de crescimento folicular e prevenção de folículos persistentes, e subsequente aplicação de reduzida dose de estradiol para sincronização da ovulação (BÓ *et al.*, 2004).

2.3.6. Prostaglandina (PGF2a)

Para o uso de PGF2a em sincronização, é necessário que o animal tenha atividade ovariana cíclica normal. Osluteolíticos, promovem uma luteólise prematura, para sua eficácia é necessário observar o estágio em que o CL se encontra (FERNANDES *et al.*, 2005). Segundo Fernandes *et al.* (2004), na aplicação da PGF2a, o período ideal é, entre o 6º e o 17º dia do ciclo da fêmea. Juntamente com este tratamento, é ideal a observação do estro.

2.4. Seleção de receptoras

A seleção das receptoras é um ponto crítico, pois, a aquisição é custosa e delicada, o ideal, é a utilização de animais do rebanho para evitar problemas infecciosos (SCANAVEZ *et al.*, 2013). A seleção final de uma fêmea como receptora de embriões, deve ocorrer no dia da transferência em função principalmente, dos sintomas de estro evidente após a sincronização e da avaliação do CL cíclico (GONÇALVES *et al.*, 2008).

As novilhas e as fêmeas múltíparas, que estejam com o ciclo estral regular, que estejam no mínimo com 60 dias de paridas, que o puerpério tenha decorrido normalmente, e que o trato reprodutivo estejam livres de doenças e anormalidades, podendo ser selecionadas como receptoras de embriões (GOLÇALVES *et al.*, 2008).

Para seleção de uma receptora, é fundamental, tais como: possuir porte compatível com a raça do embrião a ser transferido garantindo uma gestação e parto normal, livre de auxílio obstétrico, que apresente boa habilidade materna e rusticidade (ANDRADE *et al.*, 2002).

2.5. Fatores que influenciam (Estresse térmico)

O aumento da temperatura e umidade do ambiente, observado durante as épocas mais quentes do ano, pode exercer uma influência negativa sobre a qualidade do embrião bovino (ALVES, 2008).

Na TE, deve-se ter um cuidado com o embrião devido à relação de estresse por calor, embora se elimine os efeitos deletérios quanto ao ovócito e espermatozóide, pois o aumento da temperatura e umidade relativa do ar, dificulta a dissipação de calor tanto para as receptoras como para as doadoras, onde irá influenciar nos níveis

séricos de P4 no momento ou pós ovulação, interferindo na fixação e reconhecimento embrionário (HONORATO *et al.*, 2013).

O estresse calórico, ocasiona efeitos negativos na fixação embrionária por não haver produção suficiente de sinais bioquímicos e proteicos, o embrião em hipertermia, perde fatores de reconhecimento impedindo que haja gestação e ocasionando a regressão do CL (OLIVEIRA *et al.*, 2012).

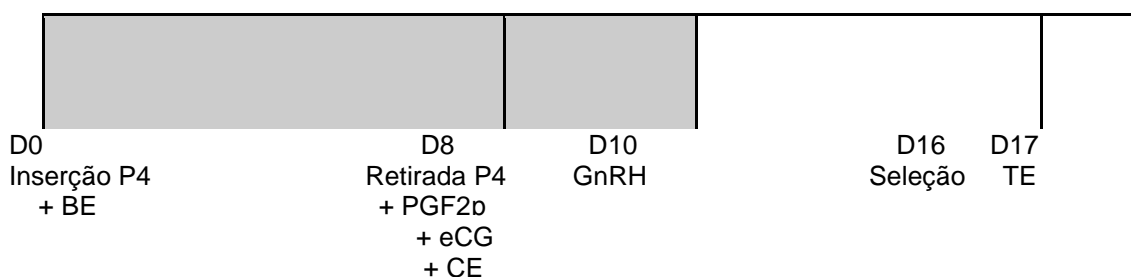
3. METODOLOGIA

3.1. ANIMAIS

O experimento foi realizado no período de outubro à dezembro do ano de 2017. Os embriões utilizados, foram produzidos *in vivo*, coletados na fazenda Tabuões no município de Queluzito – MG. Foram utilizadas 17 receptoras, sendo 12 novilhas e 5 vacas da raça Holandesa, com escore de condição corporal (ECC) entre 3,25 e 3,5 na escala de 1 a 5. Os animais eram criados em manejo semi-intensivo, em pastagem de *Panicum maximum* (Mombaça), alimentados uma vez ao dia com silagem de milho, fubá, soja, mineral e ureia.

3.2. PROTOCOLO UTILIZADO NAS RECEPTORAS

O protocolo utilizado, consistiu na colocação de um implante de progesterona à 1g (P4 - Sincrogest®), e aplicação de 2ml de benzoato de estradiol (BE - Bestrol®) no dia 0. No dia 8, foi realizada a retirada do implante de P4, aplicação de 2ml de prostaglandina (PGF2a - Lutalyse), 400UI de Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG - Foligon®), e 0,5ml de cipionato de estradiol (CE - E.C.P.). No dia 10 foi realizada a aplicação de 1,5ml de Hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH - Fertagyl®).



3.3. AVALIAÇÃO DAS RECEPTORAS

No dia zero (D0) do protocolo (inserção do implante de P4), foi realizado a avaliação reprodutiva das receptoras, com o auxílio do ultrassom (Chison D600 VET), com uma probe linear transretal de sete MHz. Onde foi avaliado a presença de folículos e corpo lúteo nos ovários e a saúde uterina.

3.4. SELEÇÃO DAS RECEPTORAS

A seleção das receptoras aptas a receber embriões, foi realizada no D16, dia anterior à inovação dos embriões com a identificação de um CL ativo por meio da avaliação ultrassonográfica. Foram avaliados os ovários para identificação de qual lado havia presença de CL para implantação do embrião no dia seguinte.

3.5. TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES

Os embriões utilizados, foram provenientes de um trabalho em paralelo, onde os embriões foram produzidos *in vivo* através de um protocolo de superovulação realizado em novilhas da raça Holandesa, coletados por lavagem uterina, classificados, e os considerados viáveis foram envasados e transferidos à fresco no D17. Para o preparo das receptoras, foi realizado uma higienização na região do períneo com água corrente e papel toalha, em seguida foi realizado a anestesia epidural baixa, com a utilização de 4 a 5ml de lidocaína a2%, com intuito de promover o relaxamento do útero e estruturas do períneo, facilitando a introdução do aplicador.

3.6. DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO

O diagnóstico de gestação, foi realizado 30 dias após a transferência dos embriões, com o auxílio do ultrassom (Chison D600 VET), com uma probe linear transretal de sete MHz, para confirmar a prenhez.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na taxa de sincronização das fêmeas, foi de 100% das vacas e 100% das novilhas. A taxa de prenhez na população investigada, foi de 23,56% (4/17), sendo em vacas, (0/5) 0%, onde não foi confirmado nenhuma prenha, e em novilhas, (4/12) 33,33%, foram confirmadas prenhas (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados obtidos em taxas de sincronização, concepção entre grupos de vacas e novilhas.

Categoria animal	N	Taxa de sincronização n(%)	Taxa de concepção n(%)
Novilhas	12	12 (100%)	4 (33,33%)
Vacas	5	5 (100%)	0 (0%)
Total	17	17 (100%)	4 (23,56%)

No experimento de Adams *et al.* (2013), a taxa de sincronização informada foi de 89% com o uso de implante de P4, e de 62,5%, para animais onde foram utilizados apenas luteolíticos. Vedana *et al.* (2008), descreveu uma taxa de sincronização chegando a 80,3% para animais que receberam eCG em D5 e de 73,3%, para animais que receberam eCG D8, no grupo sem utilização de eCG, essa taxa caiu para 46,6% apenas com o uso de implante P4.

De acordo com Nogueira *et al.* (2013), as taxas de sincronização em tempo fixo, apresentaram índice superior de aproveitamento de receptoras aptas para transferência, de 83,24%, comparado a utilização de prostaglandina e observação de cio, que obteve uma taxa de 60,73% de sincronização entre vacas e novilhas cruzadas. Já Quadros *et al.* (2006), avaliou a eficiência dos protocolos de sincronização de receptoras, trabalhando com protocolo de tempo fixo associando progesterona e ECP, onde obtiveram 76% de eficiência. O aproveitamento das receptoras após a sincronização neste experimento, foi superior aos relatados na literatura. Nenhum dos animais tratados foi considerado inapto para a transferência de embriões, todos responderam ao protocolo de sincronização utilizado, ou seja, todos apresentaram corpo lúteo no dia da avaliação. Este resultado pode ter sido alcançado, porque os animais eram livres de patologias ou afecções no trato reprodutivo, estavam em boa condição corporal, com nutrição equilibrada, e não foram submetidos a estresse de manejo durante a execução do protocolo.

De acordo com Nicacio *et al.* (2006), as taxas de prenhez em embriões produzidos *in vivo*, giram em torno de 60 a 70%. Já as taxas obtidas neste estudo, ficam abaixo do mencionado pelo autor, que pode ser explicada pela época do ano em que foi realizada a TE, onde foram registradas elevadas temperaturas ambientais durante o período do estudo.

Hasset *et al.* (2007), observou que a taxa de prenhez de embriões *in vivo*, é menor que os concebidos naturalmente. Segundo Spell *et al.* (2001), este fato ocorre, porque a sobrevivência embrionária após a TE, onde envolve interrelações entre embrião, ambiente uterino e CL.

Segundo Alves (2008), devido a sensibilidade do embrião ao estresse térmico, que ocorre até o 7º dia de desenvolvimento embrionário, vacas sob estresse calórico que recebe embriões *in vivo* com 7 dias, proveniente de doadoras que não passaram por esse estresse calórico, vão apresentar uma maior taxa de concepção. O que não corrobora com este trabalho, pois mesmo que as doadoras não tenham passado por estresse calórico, os resultados obtidos foram menores, pois as receptoras sofreram esse estresse calórico, sugerindo que a causa das baixas taxas tenham sido pela interferência térmica no ambiente uterino em relação doadora/receptora. O que também é considerado por Sartori, Dode (2008) e Galimberti *et al.* (2001), que a taxa de prenhez, pode ser influenciada por níveis séricos de P4 na receptora e estresse calórico.

Marcolan *et al.* (2016), observou que a taxa de prenhez no verão, onde se tem um aumento de umidade e temperatura, é mais baixa em relação as taxas de prenhez no inverno. Machado *et al.* (2010), também obteve resultados menores durante o verão em relação ao inverno, evidenciando um aumento de uma época para outra, mostrando a interferência ambiental sob a mesma. Vasconcelos *et al.* (2011), demonstrou que a eficácia das biotécnicas reprodutivas podem ser comprometidas quando os animais passam por períodos estressantes, e que em vacas com estresse térmico, o número de animais prenhas é pequeno.

5. CONCLUSÃO:

Conclui-se que houve sucesso na sincronização das receptoras, mas devido a interferência dos fatores ambientais como estresse térmico, obteve-se uma taxa de concepção abaixo da média esperada.

6. REFERÊNCIAS

ADAMS, F. D.; REIS, R. W.; PERIZZOLLO, T. V.; MACHADO, G. K.; MALSCHITZKY, E.; AGUIAR, P. R. L.; Análise de custos e eficiência na sincronização de receptoras de embriões bovinos; **XIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA – ULBRA**; Canoas, 2013.

AIELLO, S.E. **Manual Merck de Veterinária**. Sistema Reprodutivo - Introdução. 8 ed. São Paulo: Roca, p. 1861, 2001.

ANDRADE, J. C. O.; OLIVEIRA, M. A. L.; LIMA, P. F. Use steroid hormone treatments prior to superovulation in Nelore donors. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.69, n.1-2, p.9-14, 2002.

ALVES, B.R.C. Produção in vivo e transferência de embriões F1 em rebanhos leiteiros, utilizando-se cruzamento recíproco entre as raças Holandês e Gir, em duas épocas do ano. Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte-MG, 2008.

BARUSELLI, P.S.; FERREIRA, R.M.; SALES, J.N.S.; GIMENES, L.U.; SÁ FILHO, M.F.; MARTINS, C.M.; RODRIGUES, C.A.; BÓ, G.A. Timedembryotransferprograms for management ofdonorandrecipientcattle. **Theriogenology**, v. 76, p. 1583–1593, 2011.

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

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

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIAL, M.; TRIBUTO, R.; TRIBUTO, H.; MALPLETOFT, R. J. The control of follicular wave development for self-pointer embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v. 57, n. 1, p.53-72, 2002.

BURATINI Jr., J. Foliculogênese em bovinos. In: II SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 2006. **Anais...** Londrina, PR, p. 55-62, 2006.

CALLESEN, H.; LIBORIUSSEN, T.; GREVE, T. Practical aspects of multiple ovulation-embryo transfer in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.42, p. 205-214, 1996.

COSTA FILHO, L. C. C. Uso de homeopatia em programas de transferência de embriões bovinos. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – Campo Grande – MS, 2013.

DE MEDEIROS, S. F., NORMAN, R. J. Human choriongonadotrophin protein core and sugar branches heterogeneity: basic and clinical insights. **Human Reproduction Update**, Oxford, v. 15, p. 69-95, 2009.

DIAZ T., SCHMITT E. J., de la SOTA R. L. ., THATCHERM. J., THATCHERW. W. Human chorionic gonadotropin induced alternations in ovary follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. **Journalof Animal Science**, Champaigne, v. 76, p. 1929-1936, 1998.

EVANGELISTA, J.J.F.; SOUSA, R.V. Resposta superovulatória e produção de embriões em vacas da raça Guzerá leiteiro. **Arquivoda Faculdade de Veterinária UFRGS**, v. 27, n.1, 1999.

FERNANDES, C.A.C. **Eficiência da prostaglandina para sincronização de estro em bovinos em diferentes dias do ciclo estral**, 2005. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/radarestecnicos/reproducao/eficiencia-da-prostaglandina-para-sincronizacao-de-estro-em-bovinos-em-diferentes-dias-do-ciclo-estral-24684>> Acesso em: 31 out. 2017.

FERNANDES, C.A.C. **Programas para sincronização de cio em receptoras de embrião-1**, 2004. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/radares-tecnicos/reproducao/programas-para-sincronizacao-de-cio-em-receptoras-de-embriao-1-20387>>. Acesso em: 31 out. 2017.

FERREIRA, A.M. **Reprodução da fêmea bovina: fisiologia aplicada e problemas mais comuns (causas e tratamentos)**. 1ed. Juiz de Fora: Editar, 2010.

GALIMBERTI, A.M.; FONSECA, F.A.; ARAUJO, M.C.C.; COSTA, E.P.; FREITAS, C.; GUIMARÃES, J.D.; FERREIRA, A.M. Taxa de gestação e níveis plasmáticos de progesterona, em receptoras de embrião bovino, tratadas com Buserelina após a inovulação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 2, p. 352-359, 2001.

GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICKE, P.M.; GIBBONS, J.R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v.55, p.1187-1194, 1996.

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

GRUNERT, E., GREGORY, R.M. **Diagnóstico e terapêutica da infertilidade da vaca**. Porto Alegre: Sulina, P. 82-89. 1984.

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

HASLER, J.F.; MCCAULEY, A.D.; LATHROP, W.F.; FOOTE, R.H. Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. **Theriogenology**, v. 27, n.1, p.139-168, 1987.

HASS, G T. S.; FERNANDES, C. A. C.; COSTA, E. P.; TORRES, C. A. A.; MARQUES, P. A. F.; LOPES, F. G.; PAULA, T. A. R. Taxa de prenhez e concentração sérica de progesterona em novilhas receptoras de embrião tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST). **Revista Ceres**, v. 54, n. 311, p. 26-32, 2007.

HONORATO, M.T; FERRO, R.A.C; FERRO, D.A.C; SANTOS, K.J.C; COSTA, M.A; FILHO, L.R . Importância da escolha de receptoras em um programa de transferência de embriões em bovinos. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 19, Ed. 242, Art. 1601, Outubro, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Rebanho Bovino Brasileiro**. 2015. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2016/09/rebanho-bovino-alcanca-215-2-milhoes-de-cabecas-em-2015>>. Acesso em: 12 set. 2017.

JONES, A.L.; LAMB, G.C. Nutrition, synchronization, and management of beef embryo transfer recipients. **Theriogenology**, v. 69, p. 107-115, 2008.

MACHADO, R; BERGAMASCHI, M.A.C.M; SILVA, J.C.B; BINELLI, M. Estratégias para reduzir mortalidade embrionária em bovinos: II. Protocolo para reduzir mortalidade embrionária em vacas de leite receptoras de embrião. **Embrapa**, São Carlos- SP, 2010.

MARCOLAN, R. P.; WISSMANN, D.; SILVA, A. P.; MION, B.; ROSA, F.; BONOTTO, R.; BONOTTO, A. L. M. INFLUÊNCIA TÉRMICA NAS TAXAS DE CONCEPÇÃO EM TRANFERÊNCIAS DE EMBRIÕES BOVINOS. **Revista Ciências agroveterinárias e alimentos**, Itapiranga-SC, 2016.

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

NEVEZ, J. P. Progresso científico em reprodução na primeira década do século XXI. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.39, p. 414 - 421, 2010.

NICACIO, A. C.; ASSUMPCÃO, M. E. O. A.; CAETANO, H. V. A.; GERGER, R. P. C.; MARQUES, M. G.; MELLO, M. R. B.; MENDES, C. M.; MILAZZOTTO, M. P.; OLIVEIRA, V. P.; SIMÕES, R.; YAMADA, C.; VISINTIN, J. A. Criopreservação e desenvolvimento *in vitro* de embriões bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v. 43, n. 1, p. 51-56, 2006.

NOGUEIRA, Eriklis¹; PANTOJA, Rodrigues² T. A.; PEDROSO, Figueiredo³ M.; JUNIOR M., Romero² H.; BORGES, Correa⁴ J.; DIAS, Menezes⁵ A.; ITAVO, Vinhas⁶ L. C. Comparação entre protocolos de sincronização de cio para receptoras de embriões bovinos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.14, n.3, p.558-564 jul./set., 2013.

OLIVEIRA, M.S; TIBURCIO, M; FERREIRA, S.G.C. Influência do estresse calórico sobre a reprodução de bovinos de corte, **VI Amostra interna de trabalhos de iniciação científica**, Anais abertos, CESUMAR, Maringá- PR, 2012.

PASA, C. Transferência de embriões em bovinos. **Biodiversidade**, v. 7, n. 1, 2008.

PEIXOTO, M.G.C.D.; BERGMANN, J.A.G.; ALVIM, M.T.T.; PENNA, V.M. Fatores que influenciaram a prenhez de embriões zebuínos em receptoras mestiças. In: **SIMPÓSIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MELHORAMENTO ANIMAL**, v. 5, 2004. *Anais...* Pirassununga, SP: SBMA, 4 p, 2004.

QUADROS, F.A.; MELO STERZA, F.A.; SANTOS, E.S.; FONSECA, A.; BAUDRAZ, J.A.; MARQUES, V.T.; FERRI, F.; MARQUES, M.O.; SILVA, R.C.P.; BARUSELLI, P.S. Avaliação da eficiência dos protocolos de sincronização de receptoras de embriões bovinos para TETF, utilizando Benzoato de Estradiol e Cipionato de Estradiol. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, p.498, 2006.

REICHENBACH, H. D.; OLIVEIRA, M. A. L. de; LIMA, P.F. de; SANTOS FILHO, A. S. dos; ANDRADE, J. C. O. Transferência e criopreservação de embrião

bovino. In: GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEREDO, J.R.; FREITAS, V. J. F. **Bioteχνicas aplicadas a reprodução animal**. São Paulo: Varela, p.127-177, 2002.

REIS, E.L. **Efeito da dose e do momento da administração de gonadotrofina coriônica eqüina no protocolo de sincronização da ovulação para TETF**. 2004. 101f. Dissertação (Mestrado em Medicina veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

SANTOS J. E.; THATCHER W. W.; CHEBEL R. C.; CERRI R. L.; GALVÃO K. N. The effect of embryo death rates in the cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.82-83, p. 513-535, 2004.

SARTORI, R.; BASTOS, M. R.; MOLLO, M. R.; MARTINS, A. C. Influência da ingestão alimentar na produção de embriões bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, n. 35, p. 869 – 878, 2007.

SARTORI, R.; DODE, M. A. N. Mortalidade embrionária na IA, TE, FIV e clonagem. In: **3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, Londrina-PR, set. 2008.

SCARPELLI, L. C. **Sincronização do ciclo estral em bovinos**. São Paulo: Pharmacia Saúde Animal, 2003.

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

SIANANGAMA, P. C.; RAJAMANHENDRAM, R. Effect of human chorionic gonadotrophin administered at specific times following breeding on Milk progesterone and pregnancy in cows. **Theriogenology**, v.38, p. 85-96, 1992.

SPELL, A. R.; BELL, W. E.; CORAH, L. R.; LAMB, G. C. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. **Theriogenology**, v.56, n.1, p.287-297, 2001.

SREENAN, J.M.; DISKIN, M.G. Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. **Theriogenology**, v. 27, p. 99- 113, 1987.

TANEJA, M.; BOLS, P.E.J.; VELDE, V. Development competence of juvenile calf oocytes in vitro and in vivo: influence of donor animal, variation and repeated gonadotropin stimulation. **Biology of Reproduction**, v.31. p.67–73, 2000.

VALENTIM, R.; GOFERT, L. Conceitos sobre sincronização de receptoras. 06, fev, 2004. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/conceitos-sobre-sincronizacao-de-receptoras-17964/>>. Acesso em 23 out. 2017.

VASCONCELOS, J.L.M; DEMÉTRIO, D.G.B. Manejo reprodutivo de vacas sobre estresse calórico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.396-401, 2011.

VEDANA, C.H.; BALESTRIN, R.A.; CAVALIERI, F.L.B.; RIGOLON, L.P.; LOURENÇO, F.J.; SEKO, M.B.; PICADA, I.; TIBURCIO, M.; RAMOS, F.S. Efeito da aplicação do

eCG na taxa de aproveitamento e de prenhez em receptoras de embriões; **Iniciação Científica Cesumar**, Maringá, v.10, n.02, p.141-143, jul./dez. 2008.

VIEL JUNIOR, J.O. **Transferência de embriões bovinos**. Curso de especialização Latu Sensu em produção e reprodução de bovinos. Universidade Castelo Branco, Três Lagoas 2007. Disponível em: <<http://WWW.qualittas.com.br/documento/transferencia%20de%20embrioes%20debovinos%20-joao%20odair%20viel%20junior>>. Acesso em 23 out. 2017.

UTILIZAÇÃO DE ECG E FSH NO PROTOCOLO HORMONAL PARA IATF EM NOVILHAS DA RAÇA GUZERÁ CRIADAS NO VALE DO RIO DOCE

Acadêmicos: Marcos Gabriel de Oliveira e Otacílio Paixão de Carvalho

Orientador: Alberto Yukio Chaya

RESUMO

Esse trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência da taxa de concepção em novilhas leiteiras da raça Guzerá, submetidas a dois tipos de protocolos base de IATF. Foram utilizados um total de 20 animais da raça Guzerá com peso médio de 367 kg com idade média de 2 e 3 anos. Os animais foram separados em dois grupos de 10 animais. No primeiro grupo, no dia 0 às 8 h foi implantado o dispositivo intravaginal de progesterona e administração de benzoato de estradiol. No dia 8 às 8 h, foi realizado a retirada do dispositivo intravaginal, administração de eCG e prostaglandina. No dia 9, às 8 h, foi realizado a administração de benzoato de estradiol. E no dia 10 às 14 h, foi realizada a inseminação artificial. O segundo grupo foi submetido ao mesmo protocolo de IATF, porém no dia 8 às 8 h, foi administrada o FSH ao invés do eCG. Após 30 dias os animais foram submetidos à ultrassonografia transretal para a avaliação da característica reprodutiva. Concluímos, que ambos os grupos apresentaram uma taxa de prenhez de 60%, índice satisfatório quando comparado à média nacional para IATF.

PALAVRAS-CHAVE: Guzerá, Protocolos, Inseminação Artificial.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o segundo maior rebanho mundial, cerca de 215,2 milhões de cabeças bovinas em 2015, o que faz deste segmento se dividir em duas principais atividades lucrativas, a produção de carne e leite (IBGE, 2016). Estima-se que o faturamento bruto, destes dois seguimentos, seja de R\$ 67 bilhões anual, uma importante parcela do PIB nacional à importância da bovinocultura na economia brasileira (MATTOS, 2014).

A partir das últimas décadas, a pecuária brasileira sofreu uma grande expansão, tanto no volume de animais, quanto na produtividade. A utilização de métodos modernos de produção e biotécnicas aplicadas à reprodução animal contribuíram para que o país alcançasse destaque na pecuária mundial, tornando-se um dos maiores exportadores de carne bovina mundial. Do ponto de vista econômico, a eficiência reprodutiva é um fator muito importante para a pecuária. Sendo assim, o emprego de biotecnologias é de suma importância para se alcançar índices reprodutivos satisfatórios e aumentar os lucros de um rebanho (SANTOS, 2010).

Dentre as biotecnologias aplicadas à pecuária comercial, destaca-se a inseminação artificial (IA) e a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), tendo em vista que estas técnicas colaboram para o melhoramento genético do rebanho e são economicamente viáveis ao campo (FERRAZ *et al.*, 2008).

A inseminação artificial (IA) apesar de ser a principal biotecnologia de melhoramento genético, vem sendo subutilizada devido aos problemas relacionados, principalmente à detecção de estro. Problemas estes que podem levar a uma redução na taxa de concepção (BARUSELLI & SALES, 2015). Um método de se evitar tal problema é a utilização de protocolos de sincronização de estro e da ovulação. Estes métodos têm por finalidade a realização da inseminação artificial em um horário predeterminado, excluindo a necessidade de detecção do estro (PEREIRA, 2014). A IATF é uma realidade na pecuária brasileira e sua utilização proporciona maior eficiência reprodutiva e qualidade genética agregada ao rebanho (INFORZATO *et al.*, 2008).

Uma importante raça que está sendo bastante utilizada na região do Vale do Rio Doce é a Guzerá. Assim como a raça Gir, que possui importante papel na pecuária leiteira, tanto pela sua rusticidade, quanto pela sua fertilidade, principalmente quando usada em cruzamentos com gado Holandês, a raça Guzerá se tornou uma ótima alternativa para constituição de rebanhos leiteiros, possui a capacidade tanto em termo de desempenho de vacas, como de suas crias, contribuindo para o melhoramento da pecuária leiteira nacional (SILVA, 2014).

O Guzerá possui papel crucial para o desenvolvimento da pecuária leiteira nacional, uma vez que sua utilização consiste na otimização de desempenho de animais F1. A raça se destaca pela sua capacidade de dupla aptidão, ou seja, pela sua capacidade de produção de leite e de carne, o que torna o Guzerá, uma das raças mais empregadas em cruzamentos sintéticos (BOLETIM PECUÁRIO, 2013)

Portanto, esse trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência da taxa de concepção em novilhas leiteiras da raça Guzerá submetidas a dois tipos de protocolos base de IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. BOVINOCULTURA BRASILEIRA

A Bovinocultura Leiteira assume um importante papel dentre os seguimentos que compõem a economia do país, principalmente nas regiões predominantemente agropecuárias, fato esse devido à crescente inserção do Agronegócio na “Economia Globalizada” (SANTOS *et al.*, 2017). O Brasil é, tradicionalmente, um grande produtor de leite, e na atualidade ocupa a quarta posição no ranking mundial do segmento com uma produção anual de 34,3 bilhões de quilos de leite, ficando atrás somente dos Estados Unidos com uma produção de 91,3 bilhões, Índia 60,6 bilhões e China, com produção de 35,7 bilhões de quilos anual (WORLDATLAS, 2017).

Os estados brasileiros que mais contribuem com a produção de leite são: Minas Gerais, com uma produção estimada de 9,14 bilhões de quilos de leite, seguido pelo Paraná com 4,66 bilhões, e em terceiro lugar se encontra o Rio Grande do Sul com uma produção de 4,59 bilhões anual (SANTOS *et al.*, 2017). A atividade leiteira no Brasil é bastante heterogênea, ou seja, os animais ordenhados estão amplamente distribuídos pelo país e estima-se que o número total de vacas ordenhadas seja de 23,06 milhões de cabeças com uma produção média de 1.609 litros/vaca/ano, em 2015 (MILKPOINT, 2016).

Outra atividade de grande importância para economia brasileira é a pecuária de corte, o Brasil possui o segundo maior rebanho efetivo do mundo e é responsável por 22,2% do rebanho mundial, ficando atrás apenas da Índia. O país também é o segundo maior exportador de carne bovina, responsável por 15,4% da produção mundial. Em 2016 as exportações de carne bovina brasileira in natura alcançaram 1,08 milhão de toneladas com um faturamento de R\$ 4,35 bilhões evidenciando o potencial do seguimento lucrativo (BEEFPOINT, 2016).

2.2. A RAÇA GUZERÁ

O Guzerá é uma raça originária da Índia, mais especificamente do deserto de Cutch situado na região noroeste do estado de Gujarat, onde a raça é conhecida como *Kankrej*. A raça também é chamada de *Vadhiyari* e *Wagad* nos estados vizinhos. O estado de Gujarat expressa condições climáticas extremas com amplas variações de temperatura, possuindo umidade relativa do ar baixa até mesmo no verão. Apesar das condições adversas, a raça se desenvolveu e se estabeleceu entre os rebanhos bovinos do país com a finalidade para produção de leite e animal de tração (PEREZ, 2016).

Introduzida no Brasil no final do século XIX, a raça prevaleceu até meados de 1940. A partir desta data, ocorreu uma diminuição expressiva no número de animais puros devido ao uso generalizado da raça a fim de se obter animais mestiços (PEIXOTO *et al.*, 2010). Devido sua notória capacidade de adaptação às condições climáticas adversas, em particular ao semiárido e do seu notável sucesso em sistemas de produção de insumos, a raça Guzerá assumiu grande importância na bovinocultura brasileira, apresentando fortes vantagens em relação a outras raças zebuínas (PEREZ, 2016).

Por ser uma raça que possui boa capacidade para produção de leite e de carne, a Guzerá vem sendo utilizada cada vez mais pelos produtores. Perante cruzamentos realizados entre outras raças, melhoramentos genéticos, nutricionais e técnicas de manejo, a raça vem se destacando no cenário da pecuária leiteira nacional (CNPQ, 2000). Além disso, segundo (SILVA, 2014) a raça conta com outras vantagens que a garantem sucesso de produção na região tropical, tais como: resistência à parasitas, pronunciada habilidade materna e alta fertilidade, reproduzindo-se mesmo em condições adversas.

Diante disso, a raça Guzerá, assim como outras raças zebuínas, contribui para capacidade adaptativa e desempenho superior dos cruzamentos *Bos indicus* x *Bos taurus*, que são os grupos genéticos predominantes no sistema de produção de leite do Brasil (MADALENA, 2012).

2.3. INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL (IA)

O termo inseminação artificial implica na deposição de espermatozoides no trato reprodutivo da fêmea por meios artificiais com o auxílio de aplicadores específicos, dispensando o serviço natural que envolve diretamente o macho (BARBOSA & MACHADO, 2008). A técnica é uma das biotecnologias reprodutivas mais antigas do mundo, ela vem sendo aperfeiçoada e amplamente usada nas espécies domésticas com o intuito de se alcançar melhoramento genético e maior eficiência reprodutiva dos rebanhos (SANTOS, 2015).

No Brasil, a prática da Inseminação Artificial (IA) cresceu muito nos últimos anos, apesar da monta natural apresentar uma maior taxa de prenhez, a IA possui várias vantagens se comparada ao natural, e dentre as vantagens de sua utilização podemos ressaltar: controle da qualidade do sêmen usado quando adquirido em

centrais confiáveis, precisão nas informações e registros de cobertura, bem como informações fidedignas quanto a paternidade dos produtos (MOREIRA, 2002). Além disso, a IA apresenta vantagens decorrentes do melhoramento genético dos rebanhos, obtido pelo emprego de sêmen de touros comprovadamente superiores geneticamente, controle de doenças transmissíveis por contato venéreo, e ainda permite o uso de reprodutores que já morreram (ALVAREZ, 2008). Dentre outras vantagens, MAGALHÃES (2013) ressalva que o emprego da técnica de Inseminação Artificial proporciona padronização de lotes, diminuição de custo com reposição de touros e melhoria do rebanho com o cruzamento entre raças.

Contudo, apesar das vantagens observadas com o emprego da IA, as falhas de detecção de estro associada a períodos longos de anestro pós-parto são fatores que influenciam negativamente à eficiência reprodutiva dos rebanhos, sendo indispensável adotar o emprego de novas técnicas afim de se obter melhor índice reprodutivo (NOGUEIRA, 2017). Uma das maneiras de melhorar os resultados da IA, é a utilização de protocolos de sincronização do ciclo estral e ovulação, que tem como finalidade a realização da Inseminação Artificial em um período predeterminado, excluindo a necessidade de detecção de estro (PEREIRA, 2014).

2.4. INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF)

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é uma biotecnologia consagrada e viável, a qual consiste em sincronizar a ovulação em vacas e novilhas por meio de aplicações de hormônios. Com o uso desta técnica, as fêmeas tratadas são inseminadas com data marcada sem haver necessidade de se observar o estro (PEREIRA, 2014).

Segundo NOGUEIRA (2017), em programas de IATF, além de proporcionar melhoramento genético, aumentam os índices reprodutivos de um rebanho reduzindo o intervalo entre partos, permitem padronização de lotes e ainda podem ser aplicados à animais em anestro e de baixo escore corporal.

2.5. HORMÔNIOS UTILIZADOS NA IATF

2.5.1. PROSTAGLANDINAS

As prostaglandinas são substâncias orgânicas de lipídios compostos de ácidos graxos insaturados com 20 carbonos, derivada do ácido araquidônico. A PGF₂α é a

mais importante das prostaglandinas para a reprodução por sua função luteolítica. É sintetizada principalmente no útero, mas também pode ser produzida em menor quantidade no corpo lúteo (CL). Sua ação luteolítica se dá principalmente em promover vasoconstrição e conseqüentemente apoptose do CL. Após sua descoberta, foi modificada dando origem aos seus análogos Dinoprost, Trometamina, Cloprostenol Sódico, Alfoprostol, Femprostalene, Luprostiol e Tiaprost (PEREIRA, 2014).

Devido a capacidade luteolítica, a PGF₂α também induz o estro e conseqüentemente a ovulação, mas para isso, é necessário que haja um corpo lúteo maduro responsivo à mesma, e isso ocorre entre o 6º e o 15º dia após a ovulação (BURGOS, 2012).

Nas fêmeas tratadas com PGF₂α, a ocorrência do estro acontecerá de 2 a 7 dias após a aplicação. Esta variação de intervalo entre a aplicação da PGF₂α, o estro e a ovulação se dá pelo estado de desenvolvimento dos folículos no momento do tratamento (PEREIRA, 2009). Se no momento do tratamento o folículo dominante (FD) estiver mais desenvolvido, o estro e a ovulação ocorrerá mais rápido. Por outro lado, se o FD estiver menos desenvolvido, esses eventos ocorrerão de forma mais demorada (FURTADO, 2011).

Devido as variações que ocorrem entre a aplicação da PGF₂α, o estro e a ovulação, seu uso distinto é inviável para a prática da IATF. Ao ser utilizada em combinação com progestágenos, a PGF₂α promove uma melhor sincronização de estro e ovulação, e ainda é considerado que, devido as contrações pulsáteis de hormônio luteinizante (LH) durante o intervalo entre a luteólise induzida pela PGF₂α exógena e a retirada do dispositivo de progesterona, seu uso culmina em um crescimento mais regular dos folículos pré-ovulatórios (SILVEIRA, 2010).

2.5.2. GONADOTROFINA CORIÔNICA EQUINA (eCG)

A eCG é formada por duas subunidades (α – composta por 96 aminoácidos; e β – composta por 149 aminoácidos), sua molécula possui alto peso molecular devido a grande quantidade de carboidratos em sua massa (BARUSELLI *et al.*, 2008).

Produzidos pelos cálices endometriais da égua gestante, suas principais funções são a ovulação e a formação de corpos lúteo acessórios que aumentam os níveis de progesterona circulante (P4) e a manutenção da gestação. O fármaco possui

uma meia-vida longa, aproximadamente de 1 a 3 dias se ligando aos receptores foliculares de LH e FSH e aos receptores de LH do corpo lúteo (PEREIRA, 2009).

Perante a sua dupla ação como FSH e LH, a eCG atua diretamente estimulando o crescimento folicular com decorrente ovulação (PEGORER, 2009). Em condições nutricionais desfavoráveis, ou em casos de estado fisiológico ruim dos animais, como, por exemplo, baixo escore corporal, vacas com reduzido intervalo pós-parto, fêmeas primíparas, a IATF pode apresentar resultados ineficientes. Neste caso, o uso da eCG no momento da retirada do implante de progesterona, culmina no aumento do crescimento final dos folículos dominantes com maior taxa de ovulação e concepção (BOTTINO, 2014).

2.5.3. 17 β ESTRADIOL

O 17 β Estradiol (E2) é um hormônio derivado do colesterol produzido pelos folículos em desenvolvimento. Seus efeitos causados nos tecidos incluem a estimulação do crescimento das glândulas endometriais, estimulação do crescimento de dutos nas glândulas mamárias, comportamento sexuais femininos e a regulação da secreção de LH e FSH pela hipófise anterior (SOUZA *et al.*, 2011).

O estrógeno tem sido utilizado em protocolos para IATF associados à progestágenos. Inicialmente seu mecanismo de ação é causar um feedback negativo para as gonadotrofinas (FSH e LH), levando à atresia dos folículos. Após a atresia dos folículos, ocorre um pico de FSH estimulando o recrutamento de uma nova onda folicular (SOARES, 2017).

Existem no mercado diferentes ésteres de estrogênio, sendo mais utilizada as bases: valerato de estradiol (VE), cipionato de estradiol (CE) e benzoato de estradiol (BE). Por possuir uma meia-vida mais curta dentre os ésteres, o BE é utilizado no início do protocolo de IATF juntamente com o implante de progesterona, induzindo a emergência de uma nova onda folicular de uma forma mais precoce e sincronizada (SOARES, 2017).

2.5.5. PROGESTERONA

A progesterona (P4) é um hormônio pertencente à classe dos esteróides, e uma substância lipossolúvel, formada através do colesterol sintetizado no ovário pelo CL e

placenta. O P4 no sangue, como quase todos os hormônios esteróides se liga a uma proteína transportadora, neste caso, as globulinas. Além disso, é um importante precursor dos estrogênios, androgênios e dos esteróides no córtex da glândula adrenal. O CL realiza sua produção nas pequenas, e principalmente, nas grandes células luteais (LOIOLA, 2016).

Na corrente sanguínea, as células luteais absorve o colesterol na forma de lipoproteína de baixa e alta densidade e os ésteres de colesterol. Com o colesterol dentro das células luteais, a enzima P450cc ira convertê-lo em pregnolona, que também sofre ação da enzima 3β -HSD e forma a progesterona. O P4 possui algumas funções como diferenciação do estroma uterino, estimula a secreção das glândulas endometriais para redução do edema uterino provocado pelo estrógeno, proporcionando um ambiente favorável para o desenvolvimento inicial do embrião, atuando na manutenção da gestação, neutralizando a contração uterina e estimula as substâncias histotróficas, que são as principais fontes de nutrientes para a gestação até a formação da placenta (LOIOLA, 2016).

Atualmente, o P4 vem sendo utilizado na forma de implantes intravaginais, com o intuito de aumentar seu nível na corrente sanguínea e ser diminuída posteriormente para ocorrência de uma fase estrogênica, para que ocorra o estro em vacas não gestantes. Em associação com estrógeno, o P4 provoca atresia dos folículos, iniciando uma nova onda de crescimento folicular. O tratamento visa manter o alto nível de P4 para inibir a liberação de LH pela hipófise, simulando a fase luteínica do ciclo estral. O implante tem sido o método mais eficiente para administração de P4, por ser eliminado de forma lenta e contínua, mas também pode ser controlado com a remoção do mesmo. Com a retirada do dispositivo, ocorre a redução dos níveis de P4, conseqüentemente, o bloqueio do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal e liberando um pulso mais intenso de LH levando a ovulação (PEREIRA, 2009).

2.5.6. HORMÔNIO FOLÍCULO ESTIMULANTE (FSH)

O FSH é um hormônio glicoproteico, formado por duas cadeias polipeptídicas dividido em subunidades α e β , que tem um papel essencial na reprodução. Essa glicoproteína tem função de recrutamento folicular, formação do antro folicular, desenvolvimento inicial do folículo terciário, regulação da esteroidogênese nas células da granulosa e apoptose dessa mesma célula (BOTTINO, 2014).

Também vem sendo utilizado como indutor de crescimento folicular em protocolos de IATF, pelo fato de existir receptores para essa gonadotrofina nas células da granulosa, após a divergência folicular. A utilização em protocolos de superovulação tanto em vacas *Bos indicus* e *Bos taurus* já se confirmou sua eficiência. No entanto, sua eficácia em protocolos de IATF não está bem estabelecido, sendo que sua ação em alguns protocolos teve efeito similar com a utilização do eCG no momento da retirada do dispositivo de progesterona (BOTTINO, 2014).

3. PROTOCOLOS PARA SINCRONIZAÇÃO DO CICLO ESTRAL

Os protocolos de IATF possuem a função de induzir e sincronizar a emergência e o desenvolvimento de uma nova onda folicular, com ovulação subsequente de um folículo dominante, em um curto intervalo de tempo, possibilitando a inseminação de todos os animais em uma data e horário predeterminados (PEREIRA, 2014).

Dentre os principais hormônios e seus análogos utilizados na sincronização de estros podemos citar: as prostaglandinas (PGF2 α), a progesterona (P4), os progestágenos e os estrógenos (E2). Destacam-se também os fármacos com ação similar às gonadotrofinas, que são: gonadotrofina coriônica equina (eCG) e o hormônio folículo estimulante (FSH) (BRANDÃO, 2012).

3.1. PROTOCOLO 1

Segundo Furtado *et al.*, (2011), a utilização de protocolos usando estrógeno (E2), implantes de progesterona (P4) e eCG vem sendo muito empregados em programas de sincronização de estro e ovulação em bovinos. O protocolo consiste na inserção do implante de P4 no dia 0 (D0) e aplicação de benzoato de estradiol (2 mg), com intuito de promover o crescimento de uma nova onda folicular. Neste tratamento é aplicado PGF2 α e eCG no dia da retirada do implante, neste caso no dia 8. Após 24 horas, no dia 9 (D9), foi realizada uma nova aplicação de benzoato de estradiol na dose de 1mg. A IA é realizada após 30-36 horas no dia 10 (D 10).

Pela sua capacidade de se ligar aos receptores de FSH e LH, a eCG possui função de hormônio folículo estimulante e luteinizante, dessa maneira quando utilizados em programas de IATF, resulta em maior taxa de crescimentos dos folículos e, por consequência culmina em um corpo lúteo maior, melhorando assim a taxa de concepção (BINELLI *et al.*, 2001).

3.2. PROTOCOLO 2

Embora seu uso em protocolos de IATF ainda não ser bem estabelecido, os análogos do hormônio folículo estimulante (FSH) são empregados na prática como indutor de crescimento folicular e ovulação, respectivamente. Porém, dados comprovam que sua eficiência seja similar ao uso do eCG (BOTTINO, 2014).

Oliveira (2009), em experimentos realizados com protocolos, cita o uso do FSH como viável ao uso em IATF, obtendo índices satisfatórios de taxa de concepção. O protocolo consiste na inserção do implante de progesterona (P4) e aplicação de benzoato de estradiol (BE), no dia 0 (D0) do protocolo, no intuito de causar uma atresia folicular com decorrência o crescimento de uma nova onda. Os animais são tratados com PGF2 α no dia da retirada do implante de P4 (D8), com a finalidade de excluir qualquer fonte endógena ou exógena de P4. Ainda no D8 é realizada uma aplicação de FSH como indutor de crescimento folicular e ovulação. No dia 9 (D9), os animais são novamente tratados com benzoato de estradio (BE), esse agindo em sinergismo como indutor de ovulação, realiza feedback positivo para o hormônio luteinizante (LH), aumenta a taxa de ovulação e luteinização, conseqüentemente, aumentando a taxa de concepção. A IA é realizada após 30-36 horas após o último tratamento.

4. METODOLOGIA

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 no período de março a abril de 2018. Foi utilizado um total de 20 animais da raça Guzerá com peso médio de 367 kg com idade média entre 2 e 3 anos.

Todas as novilhas apresentaram bem nutridas, com um escore corporal entre 3 e 4, todas vacinadas contra Brucelose, Raiva e Leptospirose, mantidas em manejo extensivo com pastagem de *Brachiaria decumbens* e capim Mombaça, suplementadas com sal mineral e água *ad libitum*.

Os animais foram separados aleatoriamente em dois grupos de 10, submetidos a dois diferentes protocolos base de IATF. No primeiro grupo, o protocolo foi estabelecido, segundo Oliveira (2009), como: dia 0, às 8 h foi implantado o dispositivo intravaginal contendo 1 g de progestágeno (Primer TECNOPEC) e administração de benzoato de estradiol (Ric-be), por via intramuscular (2 mg/kg = 2 ml para cada novilha). No dia 8 às 8 h, foi realizada a retirada do dispositivo intravaginal e

administração de eCG (Folligon) intramuscular (2,5 ml para cada novilha). Foi administrado também prostaglandina (PROLISE-TECNOPEC) por via intramuscular (1,5 ml por novilha). No dia 9 às 8 h, foi realizada a administração de benzoato de estradiol (Ric-be-TECNOPEC) por via intramuscular (2 mg/kg = 2 ml para cada novilha). E no dia 10 às 15 h, foi realizada a inseminação artificial, utilizando as paletas macrotube de 5 µL de um touro adulto, apto a reprodução, segundo exame andrológico realizado periodicamente da raça Guzerá (1225 SULA).

O segundo grupo foi submetido a outro protocolo de IATF, segundo Furtado *et al.*, (2011), no dia 0 às 8 h foi implantado o dispositivo intravaginal contendo 1 g de progestágeno (Primer TECNOPEC) e administração de benzoato de estradiol (Ric-be) por via intramuscular (2 mg/kg = 2 ml para cada novilha). No dia 8 às 8 h, foi retirado o dispositivo intravaginal e administração FSH (FOLLTROPIN-TECNOPEC) por via intramuscular (10 mg/kg = 0,5 ml por novilha). Sendo também administrado prostaglandina (PROLISE-TECNOPEC) por via intramuscular (1,5 ml por novilha). No dia 9 às 8 h, foi realizado a administração de benzoato de estradiol (Ric-be-TECNOPEC) por via intramuscular (2 mg/kg = 2 ml para cada novilha). E no dia 10 às 15 h, foi realizada inseminação artificial, utilizando as paletas macrotube 5 µL de um touro adulto apto a reprodução da raça Guzerá (BALLGAME).

Após 30 dias, os animais foram submetidos à ultrassonografia transretal para a avaliação da característica reprodutiva.

A análise de dados foi realizada com a utilização do programa BioEstat, utilizando os métodos de análise de variância e Qui Quadrado.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo estão contidos 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 concepção, ou seja, os dois tipos de protocolos base utilizados (eCG e FSH) mostraram eficiência de 60% na taxa de prenhez. Em ambos os protocolos os índices foram satisfatórios, corroborando com Borges *et al.*, (2008), segundo o autor, os resultados satisfatórios quanto a taxa de concepção em protocolos de IATF são dentre 25 e 70%.

Tabela 1: Resultados dos protocolos base de IATF em novilhas Guzerá.

Protocolos	Grupo 1 (eCG)	Grupo 2 (FSH)
Gestantes	6	6
Não Gestantes	4	4
Total De Animais	10	10
Taxa De Concepção(%)	60	60

**($p > 0.05$). Grupo 1: eCG; Grupo 2: FSH

Os resultados avaliados no presente trabalho não estão de acordo com os animais utilizados no experimento, ou seja, são novilhas zebuínas. Sá Filho *et al.*, (2008) afirmam que novilhas *Bos indicus* possuem uma menor taxa de crescimento folicular e conseqüentemente, uma menor taxa de ovulação, quando comparada com novilhas *Bos taurus*. Outro fator importante observado pelos autores é que, os animais *Bos indicus* apresentam normalmente níveis superiores de P4 na circulação em relação aos animais *Bos taurus* durante o tratamento com dispositivo intravaginal. Assim, a concentração elevada de P4 pode diminuir a liberação de LH pela hipófise, comprometendo o crescimento folicular e a ovulação, o que se torna ineficiente este tipo de tratamento para IATF em novilhas zebuínas. Apesar das diferenças reprodutivas entre as fêmeas zebuínas e taurinas no presente estudo, os índices obtidos foram superiores em comparação aos alcançados por Costa *et al.*, (2008) ao obter uma taxa de gestação de 50% em novilhas da raça Girolanda. Tais resultados evidenciam a eficiência dos protocolos utilizados no presente trabalho para a IATF em novilhas zebuínas.

Apesar dos resultados entre os protocolos usados terem sido similares, acreditava-se que o índice do grupo suplementado com eCG pudesse ser superior ao grupo tratado com FSH, devido o seu uso ser maior em programas de IATF. De acordo com Pegorer (2009), o eCG é um dos hormônios mais utilizados em programas de IATF, ele tem a afinidade de se ligar tanto em receptores de FSH quanto de LH, causando assim o aumento dos folículos recrutados e uma melhor maturação final, obtendo maiores chances de ocorrer a ovulação. Porém, Ayres (2011) ressalta que a utilização do FSH é importante em IATF, pois as concentrações deste hormônio abaixo dos níveis basais na fase de dominância, pode levar o folículo à atresia e quando administrado em níveis elevados, causa um aumento no tamanho do folículo dominante e conseqüentemente, um corpo lúteo maior, o que eleva as chances de ocorrer a gestação. Contudo, sua utilização no presente estudo mostrou-se eficiente, corroborando com o trabalho de Oliveira (2009). Este autor obteve a taxa de

concepção similar (60%) ao presente trabalho, utilizando o mesmo hormônio na IATF também em novilhas zebuínas.

Outro fator que contribuiu para os resultados similares obtidos, foi o peso e a condição corporal dos animais utilizados no presente estudo. Estes não apresentaram variações significativas de pesos entre os dois grupos estudados. Segundo Franco *et al.*, (2016), o peso corporal e a condição nutricional das novilhas são os principais fatores responsáveis pelo início da puberdade e maturidade sexual. Os autores afirmam que para as fêmeas taurinas e zebuínas se tornarem sexualmente maduras, deverão apresentar peso mínimo de 60% e 65% de uma vaca adulta para cada categoria respectivamente. Sá Filho *et al.*, (2008) citam que a fêmea bovina ao atingir o peso compatível com a reprodução, ocorre uma diminuição dos gastos energéticos para o crescimento e desenvolvimento corporal, com isso há uma maior liberação de GnRH pelo hipotálamo e de estrógeno pelo ovário, aumentando a frequência de picos de LH, levando à ovulação. A relação de peso e reprodução em novilhas se torna evidente ao se comparar os resultados do presente estudo com os de Bragança (2007), que ao trabalhar com novilhas mestiças (*Bos taurus* x *Bos indicus*) com peso médio de 280 Kg obteve taxa de prenhez de 50%, o que confirma a importância do peso corporal.

No presente experimento, os animais do primeiro grupo que receberam o hormônio eCG no dia 8, apresentaram a taxa de concepção de 60%, índice superior ao obtido por Rodrigues *et al.*, (2004). Estes últimos autores obtiveram uma taxa de concepção de 50.9% em vacas da raça Nelore num período de 40 a 100 dias pós-parto, utilizando protocolo similar. Essa diferença na taxa de concepção é explicada por Baruselli *et al.*, (2008). Segundo estes autores, no período de pós-parto, o ato de amamentação pelo bezerro leva a liberação da ocitocina pela neuro-hipófise, o que pode reduzir a liberação de GnRH e a secreção de LH. Essas alterações podem afetar a maturação final do folículo dominante e conseqüentemente, a ovulação. Os resultados dos protocolos utilizando eCG e FSH no presente estudo foram semelhantes para a taxa de prenhez. Porém, os índices obtidos por Ayres (2011) foram diferentes. Este autor utilizou nos protocolos de IATF os mesmos hormônios utilizados no presente trabalho, eCG e FSH, mas em vacas lactantes, da raça Holandesa e no período de inverno. Os resultados destes foram de 29% e 18%, respectivamente. Segundo o mesmo autor, estes índices inferiores de prenhez se

devem à baixa qualidade dos nutrientes oferecidos e a condição corporal destes animais serem inferiores ao do presente estudo. Por outro lado, Ferreira *et al.*, (2014) utilizando vacas multíparas da raça Nelore criadas em pastejo semi-extensivo, com manejo em curral e piquetes rotacionados, obtiveram uma taxa de prenhez de 86,6%. Resultado superior ao do presente estudo. Um dos fatores que pode ter influenciado a menor taxa de concepção obtida no estudo é o manejo onde os animais foram submetidos, ou seja, as novilhas foram criadas a pasto com sal mineral e não houve manejo em curral diariamente, o que poderia aumentar o estresse destes animais durante o experimento.

De acordo com Russi *et al.*, (2010), o efeito negativo do estresse sobre a reprodução é mediado pela liberação de alguns hormônios, dentre os quais se destacam o hormônio liberador de corticotrofinas, o hormônio adenocorticotrófico, os opióides endógenos e o cortisol, que atuam na fisiologia reprodutiva inibindo a secreção de GnRH, LH e estrógenos, dificultando a ovulação. Além disso, os animais utilizados no presente trabalho foram novilhas ao invés de vacas como de Ferreira *et al.*, (2014). Segundo Sá Filho *et al.*, (2008), mesmo autor já citado acima, afirmam que novilhas *Bos indicus* possuem uma menor taxa de crescimento folicular e conseqüentemente, uma menor taxa de ovulação, o que diminuiria as chances destas novilhas obterem maiores taxas de fecundação e prenhez.

6. CONCLUSÃO

Através do presente trabalho, concluiu-se que não houve diferença na taxa de concepção entre os grupos tratados com eCG e FSH em protocolos base para IATF em nulíparas da raça Guzerá. Contudo, os índices reprodutivos alcançados foram satisfatórios, confirmando a viabilidade do emprego de ambos hormônios como indutores de ovulação.

7. REFERÊNCIAS

ALVAREZ, R. H. Considerações Sobre o Uso da Inseminação Artificial em Bovinos. **Centro P&D Genética e Reprodução Animal. Instituto de Zootecnia/APTA.** Disponível em: <http://www.iz.sp.gov.br/pdfs/1200068178.pdf>. Acesso em: 07 de Novembro de 2017.

AYRES, H. O Uso de FSH Exógeno Estimula o Crescimento Folicular Final e a Função Luteínica de Vacas Holandesas em Lactação Sincronizadas para Inseminação Artificial em Tempo Fixo. Tese de Pós-Graduação em Reprodução e produção Animal da

faculdade de Medicina Veterinária e zootecnia da Universidade de São Paulo. USP – **Universidade de São Paulo**, 2011.

BARBOSA, R. T.; MACHADO, R. Panorama da Inseminação Artificial em Bovinos. **Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias**. São Carlos, SP, v. 84, ISSN 1980-6841. p. 9, Novembro. 2008.

BARUSELLI, P. S.; JACOMINI, J. O.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A. **Importância do Emprego da Ecg em Protocolos de Sincronização para IATF, TE e SOV em Tempo Fixo**. Departamento de Reprodução Animal, FMVZ-USP, São Paulo - SP, Brasil. Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, Brasil. 2008.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, N. A.T; MADUREIRA, E.H.; CAMPOS FILHO, E.P. Efeitos de Diferentes Protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo na Eficiência Reprodutiva de Vacas de Corte Lactantes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. V. 26, n.3, p 218-221, Setembro de 2002.

BARUSELLI, P.S.; SALES, J.N.S. **Uso do IATF e Sêmen Sexado na Atualidade**. Departamento de Reprodução Animal, FMVZ-USP, São Paulo-SP, Brasil. 2015.

BEEFPOINT. **IBGE: Rebanho de Bovinos Tinha 218,23 Milhões de Cabeças em 2016**. Panorama da Pecuária brasileira em 2016. Disponível em: <http://www.beefpoint.com.br/ibge-rebanho-de-bovinos-tinha-21823-milhoes-de-cabecas-em-2016/>. Acesso em: 7 de Novembro de 2017

BINELLI, M.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P. S. Anti-luteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v.56, n. 9, p.1451-1452, 2001.

BOLETIM PECUÁRIO. **Os Cruzamentos na Pecuária Tropical**, 2013 – Ed. Pecuária Tropical. Disponível em: <<http://www.dzo.ufla.br/ca/informacoes/bovinos/guzera.htm>>. Acessado em: 03 de Novembro de 2017.

BORGES, L. F. K. **Sistema Para Inseminação Artificial Sem Observação de Estro em Vacas de Corte Amamentando**. Santa Maria – RS, 2008. 55p. Dissertação Apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Fisiopatologia da reprodução. UFSM - Universidade Federal de Santa Maria.

BOTTINO, M. P. **Adição de Gonadotrofinas em Protocolos de IATF e Fertilidade de vacas *Bos indicus***. Lavras – MG, 2014. 55p. Dissertação Apresentada à Universidade Federal de Lavras como Parte das Exigências do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias. UFN – Universidade Federal de Lavras.

BRAGANÇA, J. F. M. **Estratégias Hormonais de Indução/Sincronização de Estro em Novilhas de Corte entre 12 e 14 Meses de Idade**. Santa Maria – RS, 2007. 123p. Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. UFSM – Universidade Federal de Santa Maria.

BRANDÃO, K. M. A. **Taxa de Prenhez em Bovinos Submetidos à IATF Utilizando Diferentes Protocolos de Sincronização de Estro**. Brasília – DF, 2012. 52p. Monografia Apresentada para Conclusão do Curso de Medicina Veterinária. Faculdade de Agronomia e Medicina – Faculdade de Brasília.

BURGOS, D. C. **Avaliação de Sistemas de Inseminação Artificial com Observação de Estro ou em Tempo Fixo em Vacas de Corte Zebuadas**. Guaranhos – PE. 2012. 54p. Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes. Universidade Federal Rural de Pernambuco.

CNPC – Conselho nacional da Pecuária de Corte. **Guzerá**. 2000. Disponível em: <http://cnpc.org.br/pecuaria/racas-de-gado/guzera.html>. Acessado em: 06 de Novembro de 2017.

COSTA, A. N. L.; ARAÚJO, A. A.; MOURA, A. A. A. N.; CAMPOS, A. C. N.; MONTEZUMA, P. A. Sincronização de Estro em Novilhas Girolandas: Comparação entre os Protocolos “CIDR-B” e “OVSYNCH”. **Revista Ciência Agrônômica**. Fortaleza – CE. v 39, ISSN: 0045-6888. p 139, Janeiro-Março de 2008.

FERRAZ, H.T.; OLIVEIRA, M.A.; LOPES, D.T.; OLIVEIRA, B.D.; GAMBARINI, M.L. Sincronização da Ovulação Para Realização da Inseminação Artificial em Tempo Fixo em Bovinos de Corte. **PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária Zootecnia**. PUBVET, V.2, N.12, Art.#180, Mar4, 2008.

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). **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina – Paraná. v34, ISSN: 1676-546X. p 1865, Julho-Agosto de 2013.

FRANCO, G. L.; FARIA, F. J. C.; OLIVEIRA, M. C.; Interação entre Nutrição e Reprodução em Vacas de Corte. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte – MG. v 37, n 292, p 2, Dezembro de 2016.

FURTADO, D. A.; TOZZETTI, D. S.; AVANZA, M. F.; DIAS, L. G. G. Inseminação Artificial em Tempo Fixo em Bovinos de Corte. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Garça – SP. v 16, ISSN: 1679-7353. P 9, Janeiro de 2011.

IBGE. **Economia e emprego**, 2015 – IBGE Brasil. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2016/09/rebanho-bovino-alcanca-215-2-milhoes-de-cabecas-em-2015>>. Acessado em: 26 de Setembro de 2017.

INFORZATO, G.R.S.; CLIMENE, W.R.M.; DELLALIBERA, B.S.O.; LOPES, F.; FILADELPHO, A.L. EMPREGO DE IATF (INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO) COMO ALTERNATIVA NA REPRODUÇÃO DA PECUÁRIA DE CORTE. **REVISTA CIENTÍFICA ELETÔNICA DE MEDICINA VETERINÁRIA** – ISSN: 1679-7353. Ano VI – Número 11 – Julho de 2008.

LOIOLA, M. G. V. **Marcadores Fertilidade e Associação da Suplementação Exógena com Progesterona a Protocolos de IATF em Gado de Corte**. Salvador -

Bahia. 2016. 114p. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Universidade Federal da Bahia.

MADALENA, F.E. Animal Breeding and Development – South American Perspective. **Animal. Breeding and Genetics**. ISSN 0931-2668. J. Anim. Breed. Genet. (2012) 171–172.

MAGALÃES, P. C. M. **Estratégias para Adoção da Inseminação Artificial em Vacas Zebuínas**. Alfenas – MG, 2013. 54p. Dissertação Apresentada para Obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária, Área de Reprodução Animal. Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS.

MATTOS, E. T. O. **Como reduzir o intervalo entre partos de vacas nelores (*Bos taurus indicus*) e qual sua importância para a pecuária brasileira?** / Eduardo Tadeu de Oliveira Mattos. Araçatuba, 2014. 35p. Monografia (Graduação) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Medicina Veterinária.

MILKPOINT. **IBGE: em 2015, produção de leite brasileira caiu 0,4% em relação ao ano de 2014**, 2016. Disponível:< <https://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/giro-lacteo/ibge-em-2015-producao-de-leite-brasileira-caiu-04-em-relacao-ao-ano-de-2014-102304n.aspx>>. Acesso em: 7 de Novembro de 2017.

MOREIRA, R. J. C. **Uso do Protocolo crestar em Tratamentos Utilizando Benzoato de Estradiol, PGF2a, PMSG e GnRH para o Controle do Ciclo Estral e Ovulação em Vacas de Corte**. Piracicaba, São Paulo - SP, 2002. 48p. Dissertação apresentada, para a Obtenção do Título de Mestre em Agronomia. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo.

NOGUEIRA, C. S. **Impacto da IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo). Sobre características de Importância Econômica em Bovinos Nelore**. Jaboticabal, 2017. 34p. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento Animal. Universidade Estadual Paulista – Unesp Câmpus de Jaboticabal.

OLIVEIRA, F. A. **Hormônio Folículo Estimulante (FSH-p) em Protocolo de Sincronização da Ovulação de Fêmeas de Bovinos mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)**. Viçosa – MG, 2009. 51p. Dissertação Apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das Exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. UFV – Universidade Federal de Viçosa.

PEGORER, M. F. **Taxas de ovulação e Prenhez em Novilhas nelore Cíclicas Após Utilização de Protocolos para Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), Com Diferentes Concentrações de Progesterona, Associadas ou não À Aplicação de eCG**. Botucatu – SP, 2009. 89p. Tese Apresentada Junto ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária para Obtenção do Título de Doutor. UNESP - Universidade estadual Paulista.

PEIXOTO, M.G.C.D.; POGGIAN, C.F.; VERNEQUE, R.S.; EGITO, A.A.; CARVALHO, M.R.S.; PENNA, V.M. Genetic Basic and Inbreeding in the Brazilian Guzerat (*Bos*

indicus) Subpopulation Selected for Milk Production. **Livestock Science**. Livestock Science 131 (2010) 168–174.

PEREIRA, J.V.T.N. **Variáveis Morfométricas e Hormonais Ovariana e Sanguínea de Vacas Nelore Submetidas a Diferentes Protocolos de IATF**. Viçosa Minas Gerais. 2014. 59p. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. Universidade Federal de Viçosa.

PEREIRA, V. C. **Inseminação Artificial e Sincronização de Cios em Bovinos**. Porto Alegre – RS. 2009. 32p. Programa de Graduação em Medicina Veterinária. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

PEREZ, B, C. Análise Genética da Produção *in vitro* de Embriões em Bovinos Guzerá. Pirassununga – SP 2016. Universidade de São Paulo. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos.

RODRIGUES, C.A.; AYRES, H.; REIS, E.L.; MADUREIRA, E. H.; BARUSELLI, P. S. Aumento da Taxa de Prenhez em Vacas Nelore Inseminadas em Tempo Fixo com Uso de eCG em Diferentes Períodos Pós-parto. **XVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões**. Barra Bonita - SP. p. 220. v. 32. 2004.

RUSSI, L. S.; ROSA, M. S.; BARBALHO, P. C.; SILVA, E. V. C.; ZÚCCARI, C. E. S. N. Etiologia Aplicada em Bovinos. Mato Grosso do Sul – MS. **Revista de Etologia**. v 10, nº1, p 48, Maio de 2010.

SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; MEDALHA, A. G.; BARUSELLI, P. S. IATF em novilha. **Biotecnologia da Reprodução em Bovinos (3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada)**. Campo Grande – MS. p 55, Setembro de 2008.

SANTOS, H. P.; GONÇALVES, G. A. M.; GONÇALVES, M. C. M.; GUSMÃO, J. O.; FREITAS, H. A. A.; MURTA, J. E. J. A inseminação Artificial em Bovinos no Norte de Minas Gerais: Uma Abordagem Parcial. **Caderno de Ciências Agrárias**. Janaúba – MG, v.7, n.1, p. 87-90. Janeiro/Abril de 2015.

SANTOS, J. G. **Efeito da progesterona exógena na produção de embriões em novilhas gir e girolando** / Klayto José Gonçalves dos santos. Goiânia, 2010. 110p. Tese (Doutorado), Produção Animal - Universidade Federal de Goiás

SANTOS, V. P. S.; RODRIGUES, G. A.; COIMBRA, C.; GANECO, A. G. Indicadores Econômicos da Atividade Leiteira no Contexto do Agronegócio. **IX Sintagro – Simpósio Nacional de Tecnologia em Agronegócio**. Botucatu – SP. 22 a 24 de junho de 2017.

SILVA, R. M. **Influência do manejo de aleitamento e do grupo genético no desempenho de vacas leiteiras mestiças Holandesas Guzerá e de suas crias / Rosiane Martins da Silva**. Seropédica, RJ, 2014. 38p. Dissertação (Mestrado), Produção animal – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de zootecnia.

SILVEIRA, A. P. **Uso de Protocolos de IATF para Aumentar a Eficiência Reprodutiva do Gado de Corte**. Presidente Prudente – SP. 2010. Dissertação Apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. UNOESTE – Universidade do Oeste Paulista.

SOARES, P. H. A. **A Inseminação Artificial em Tempo Fixo no Contexto da Reprodução Bovina – Revisão de Literatura**. Formiga – MG, 2017. 50p. Monografia Apresentada como Requisito Parcial para Obtenção do Título de Bacharel em Medicina veterinária. UNIFOR – Centro Universitário de formiga.

SOUZA, A.H.; SILVA, E.P.B.; CUNHA, A.P. et al. Ultrasonographic Evaluation of Endometrial Thickness Near Timed AI as a Predictor of Fertility in High-Producing Dairy Cows. **Theriogenology**, v.75, p.722–723, 2011.

World Facts – WORDATLAS. **Top Cows' Milk Producing Countries In The World**, 2017. Disponível em: <http://www.worldatlas.com/articles/top-cows-milk-producing-countries-in-the-world.html>. Acesso em: 7 de Novembro de 2017.