



**FACULDADE VÉRTICE – UNIVÉRTIX  
SOCIEDADE EDUCACIONAL GARDINGO LTDA. – SOEGAR**

**TRABALHOS DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**MEDICINA VETERINÁRIA – 2021/01**



**VOLUME 2**

**COORDENAÇÃO DE CURSO: PROF. M. SC. GILBERTO VALENTE MACHADO.  
PROFESSORA RESPONSÁVEL: PROF<sup>A</sup>. M. SC. RENATA APARECIDA FONTES.**

**MATIPÓ, 2021**

## TRABALHOS PRESENTES NESTE VOLUME

EXAME COPROPARASITOLÓGICO EM CAPIVARAS ( <i>Hydrochoerus hydrochaeris</i> ) DE VIDA LIVRE DO MUNICÍPIO DE MATIPÓ, MINAS GERAIS
HIPERPLASIA ENDOMETRIAL CÍSTICA EM VACA – RELATO DE CASO
IDENTIFICAÇÃO DE INFESTAÇÃO POR <i>Trypanossoma vivax</i> EM BOVINOS DE UMA FAZENDA LEITEIRA NA REGIÃO RAUL SOARES - MG.
INFLUÊNCIA DA CRONOBIOLOGIA NA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) DO LEITE DE VACAS
INFLUÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DE TRÊS PROTOCOLOS HORMONAIS SOBRE A TAXA DE PRENHEZ DE VACAS MISTIÇAS DE ALTA PRODUÇÃO LEITEIRA SUBMETIDAS À INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF)
INFLUÊNCIA DO TEMPO E DA TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO NA CONTAGEM BACTERIANA TOTAL E NO TEOR DE SÓLIDOS DO LEITE CRU REFRIGERADO
ISOLAMENTO DE <i>Rhodococcus equi</i> EM POTROS DE PROPRIEDADE DO INTERIOR DO ESPÍRITO SANTO
LEVANTAMENTO DE CASOS DE GASTROENTERITES NO HOSPITAL VETERINÁRIO UNIVÉRTIX, EM MATIPÓ, MG.
LEVANTAMENTO DE CASOS NOTIFICADOS DE MORMO NOS ANOS DE 2009 A 2019
LEYDIGOCITOMA TESTICULAR ASSOCIADO A TVT PROSTÁTICO E PENIANO EM CÃO – RELATO DE CASO
O USO DA ÁGUA DE COCO EM PÓ (ACP-106) COMO DILUENTE NA CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN BOVINO
OCORRÊNCIAS DE CASOS DE LEISHMANIOSE EM UMA CLÍNICA VETERINÁRIA DO MUNICÍPIO DE MANHUAÇU - MG

## **EXAME COPROPARASITOLÓGICO EM CAPIVARAS (*Hydrochoerus hydrochaeris*) DE VIDA LIVRE DO MUNICÍPIO DE MATIPÓ, MINAS GERAIS**

**Acadêmico:** Alceu De Morais Neto

**Orientador:** Rogério Oliva Carvalho

### **RESUMO**

As capivaras são animais que vivem em áreas ribeirinhas, alagadas, ou à margem de lagos e consideradas como os maiores roedores do mundo. O parasitismo dessa espécie está relacionado com o habitat desses animais e com a qualidade de vida do hospedeiro, geralmente associado a locais de baixa higiene. Alguns comportamentos como a coprofagia e a cecotrofia também podem atingir no ciclo biológico de parasitos que acometem capivaras, tanto de forma positiva, quanto de forma negativa. Exames coproparasitológicos são realizados para detectarem a presença de endoparasitas e são indispensáveis para um bom tratamento, prevenção e controle. No período de março a abril do ano de 2021, foram coletadas amostras de fezes frescas de capivaras de vida livre do município de Matipó, no estado de Minas Gerais, animais esses de diferentes tamanhos, idades e de ambos os sexos. As amostras foram avaliadas por meio de exames coproparasitológicos, utilizando a técnica de Flutuação de Willis e a técnica de Sedimentação de Hoffman, Pons e Janer. As técnicas foram eficazes e ovos de parasitos gastrointestinais da Ordem Strongylida foram identificados, mas sem identificação de gênero ou espécie, pois a semelhança morfológica dos ovos não permite a diferenciação, portanto foi considerado o primeiro estudo realizado na cidade de Matipó.

**PALAVRAS-CHAVE:** capivara; roedor; parasito; exame coproparasitológico.

**LINHA DE PESQUISA:** Patologia, Parasitologia e Microbiologia Veterinária

### **INTRODUÇÃO**

O maior roedor do mundo é a capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) podendo chegar a medir 1,30m de comprimento, até 0,60m de altura e sendo capaz de pesar até 100kg. São animais que vivem em áreas ribeirinhas, alagadas, ou à margem de lagos (PAJUABA NETO, 2017), com áreas secas e extensas em volta para reprodução e repouso, sua alimentação se baseia em vegetação rasteira, mas inclui vegetação aquática (LIMA, 2020).

O parasitismo nessa espécie está relacionado com o local onde esses animais vivem e com a qualidade de vida do hospedeiro, geralmente associado a locais de baixa higiene (LIMA, 2018). Capivaras podem alojar e transmitir agentes responsáveis por doenças de importância veterinária e humana (FARIKOSKI, 2016).

As capivaras são reservatórios de *Trypanosoma cruzi*, *T. evansi*, *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* e *Rickettsia rickettsii*. Parasitas como, *Strongyloides chapini*, *Viannella hydrochoeri*, *Trichostrongylus axei*, *Hippocrepis hippocrepis*,

*Taxorchis schistocotyle* e *Cruofilaria tubero cauda*, capazes de desempenharem como potenciais causadores de doenças em capivaras que vivem em ambientes antropizados (SOUZA, 2018), além de agir não só como reservatório, podem também disseminarem agentes parasitários para diferentes outras espécies (LIMA, 2016) despertando ameaças na saúde de animais mais jovens. Já a *Giardia spp.*, *Cryptosporidium spp.* e *Eimeria spp.* podem causar infecção em capivaras (CUBAS *et al.*, 2014).

Seres humanos e animais domésticos que estejam em convivência com esses roedores podem acabar sendo alvo desses agentes patogênicos parasitários (LIMA, 2016).

Determinados endoparasitas apresentam potencial para causarem danos nestes animais, podendo ocasionar falhas no pelame, obstrução intestinal e dificuldade para obtenção de peso (LIMA, 2018).

Para detectar presenças de endoparasitas são realizados exames coproparasitológico, sendo indispensáveis para um bom tratamento. A criação de estratégias para uma boa prevenção e controle, além de ser essencial para melhorar a qualidade de vida das capivaras, pode diminuir o risco de possíveis contaminações e zoonoses (LEAL *et al.*, 2015).

Este estudo teve como objetivo realizar o exame coproparasitológico em capivaras de vida livre no município de Matipó no estado de Minas Gerais.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **Classificação**

As capivaras são pertencentes à Classe dos Mammalia, Subclasse Placentários, Ordem Rodentia, Subordem Histicomorfos, Família Hydrochaeridae, Gênero *Hydrochoerus* e Espécie *Hydrochoerus hydrochaeris* (SILVA, 2016).

### **Biologia e características da capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*)**

O maior roedor encontrado no mundo é a capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*), pertencente à família *Hydrochoeridae* (PAJUABA NETO *et al.*, 2019). O nome capivara vem de origem tupi-guarani, que possui como definição “comedor de capim” (MORETO *et al.*, 2017).

As capivaras possuem como características físicas: um corpo arredondado, compacto e baixo, cabeça grande e um pescoço curto, suas orelhas são de tamanhos pequenos e seus orifícios nasais são localizados na mesma linha no plano dorsal da cabeça, seus pés são caracterizados como perissodáctilos e são ligados a membranas natatórias para auxiliar na sua mobilidade na água, além disso seus dedos possuem unhas consistentes bem parecidas com cascos. Apresenta uma pele bastante resistente, grossa e com coloração variada que se relaciona com sua idade ou com seu local de vivência. Capivaras não apresentam cauda em seu corpo, apenas uma prega de pelo no lugar (VELÁSQUEZ, 2017).

Estando presente em quase toda a América do Sul, sendo excluída apenas no Chile, a capivara está relacionada a ambientes alagados, áreas ribeirinhas ou à margem de lagos. No Brasil, a presença desse roedor é notada em todos os estados incluindo o Distrito Federal (PAJUABA NETO *et al.*, 2019).

A espécie de capivara *Hydrochoerus hydrochaeris* é a única prevalecente em todo o Brasil, mas dependendo da região estes animais são conhecidos por diferentes nomes, no estado do Amazonas é reconhecida por Cupido, já no Rio Grande do Sul por Capincho, em Goiás por Cubu e no interior da Bahia denominam como Porco-capivara (VELÁSQUEZ, 2017). Existe também a espécie *Hydrochoerus isthmius* que possui um corpo menor em relação a espécie *H. hydrochaeris* (SILVA, 2016) e essa espécie está distribuída pela Colômbia, Venezuela e também no Panamá (VELÁSQUEZ, 2017)

Em regiões antropizadas, esses roedores podem aparecer em grupos com mais de 40 indivíduos, já em áreas com poucas deformações causadas por seres humanos, as capivaras costumam viver com grupos de 3 até 14 indivíduos. As capivaras podem possuir diferentes tamanhos e estruturas, sendo o habitat determinante dessas variáveis. (MORETO *et al.*, 2017).

O agrupamento de capivaras é constituído por um macho soberano, alguns subordinados e inúmeras fêmeas e filhotes (CORNELIO *et al.*, 2018). Quando se tornam púberes, os machos subordinados acabam sendo excluídos dos grupos, viram animais satélites e formam novos grupos com machos inaptos e assim dificilmente terão obtenção às fêmeas (SANTIAGO, 2019).

Este roedor é encontrado em diversos ambientes: como savanas, manguezais, matas ciliares e em áreas resultantes da ação humana (SANTIAGO, 2019). O território

de vivência desses animais varia entre dez a duzentos hectares (LIMA, 2020) sempre perto de locais que possuem a presença de corpos d'água para ajudar com sua termorregulação e para usar de abrigo quando se sentirem ameaçadas por predadores (SANTIAGO, 2019).

Quando ocorre o aparecimento de predadores como a puma (*Puma concolor*) e a onça pintada (*Panthera onça*), ficam submersas por bastante tempo para se protegerem, mas também podem sofrer com ataques de cobras e jacarés enquanto submersas (SILVA, 2016).

As regiões cercadas por vegetações, geralmente são utilizadas para a alimentação, mas também servem de refúgio quando há a presença de predadores. Já as superfícies secas e espaçosas são utilizadas para o descanso e parição das crias (SANTIAGO, 2019).

O forrageio inicia-se pela manhã e repete durante o anoitecer, o repouso e o mergulho desses animais são realizados nos momentos mais quentes do dia (MORETO *et al.*, 2017). Por serem herbívoros, as gramíneas que esses animais se alimentam apresentam uma grande quantidade de sílica e por conta disso acabam se dedicando bastante na escolha do alimento e na sua digestão (LIMA, 2020).

Na digestão desses roedores também existe a possibilidade de comportamentos como a cecotrofia e a coprofagia. Na cecotrofia, ocorre a ingestão do cecotrofe, que vem da fermentação resultante da digestão microbiana no ceco, direto da região anal. Já na coprofagia, ocorre a ingestão das fezes assim que são eliminadas no solo (TRUPPEL, 2009).

O comportamento de coprofagia é realizado nas primeiras horas do dia, para aumentar o efeito da absorção das proteínas dos alimentos que no intestino passaram pela fermentação (CORNELIO *et al.*, 2018). Quando há mudanças ambientais ou a aparição de seres humanos no seu habitat, este comportamento pode sofrer alterações, fazendo com que esse comportamento seja visto durante a noite (SILVA, 2016). O hábito de coprofagia e o de cecotrofia que esses animais praticam, podem atingir no ciclo biológicos de parasitos que acometem capivaras, tanto de forma positiva, quanto de forma negativa (TRUPPEL, 2009).

Esses roedores possuem hábitos generalistas e a partir disso conseguem se adequar e trocar sua alimentação natural facilmente por outros alimentos, como soja, cana-de-açúcar, milho, arroz e outros, com isso sua ocorrência em áreas civilizadas é

mais frequente (LIMA,2020). Esse hábito alimentar faz com que esses animais entrem em maior contato com os seres humanos, invadindo culturas agrícolas à procura de alimentos (SOUZA, 2018).

A atividade sexual das capivaras ocorre dentro da água, pois o ambiente aquático facilita a mobilidade dos animais por causar uma diminuição do peso e assim facilitar o acasalamento (SANTIAGO,2019). No período de chuva acontece o maior pico de cópulas, nessa época a ovulação das capivaras tende a aumentar por conta de sua nutrição ser mais adequada, já que há um crescimento na produção das forrageiras. A gestação de uma capivara pode durar em torno de 147 a 156 dias e em média, dão à luz a cinco filhotes ao ano (QUADROS, 2017).

### **Principais doenças e o parasitismo nessa espécie**

Em várias regiões do país as capivaras são conhecidas como “espécie-praga” por conta de sua prática alimentar generalista, sua habilidade reprodutiva e sua adaptação em ambientes antropizados. A vigilância em capivaras que vivem em ambientes próximos aos seres humanos é de extrema importância por ser um animal com potencial zoonótico, pois além de ser um animal que resiste a diversas doenças, também abriga uma diversidade de patógenos como parasitas, bactérias, vírus e fungos (SOUZA, 2018).

A prática semiaquática de capivaras pode colocar em risco a saúde de outras espécies animais e também a de seres humanos, na contaminação de abastecimentos de água e na disseminação de zoonoses (FARIKOSKI, 2016).

Várias doenças podem acometer capivaras, como as causadas por protozoários, que acarretam o “mal-dos-quartos” (*Trypanosoma sp.*) e a toxoplasmose, doenças causadas por vírus como a raiva, a febre aftosa, o vírus da leucose bovina e vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina, a vulvovaginite postular infecciosa e também doenças bacterianas, como a leptospirose, a febre maculosa e a brucelose (SILVA, 2016).

O parasitismo dos animais silvestres desempenha funções significativas na regulação da atividade populacional, apesar de que a relação do parasito-hospedeiro não esteja esclarecida com as condições de vida destes animais (SOUZA, 2018).

Capivaras também são hospedeiros de ectoparasitas como os carrapatos *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum* (SOUZA, 2018), apontados como

transmissores e reservatórios da *Rickettsia rickettsii*, uma bactéria que ocasiona a Febre Maculosa (ROCHA *et al.*, 2017). Para eliminar os ectoparasitas, as capivaras aproveitam de áreas com muita lama onde mergulham para remoção (SILVA, 2016).

As capivaras de vida livre ou até mesmo as que vivem em cativeiro apresentam uma variedade de endoparasitas, dando relevância a helmintos de potencial patogênico, pois podem causar lesões intestinais, pulmonares, renais e lesão no coração ou até mesmo em vasos sanguíneos (SOUZA, 2018). Helmintos podem provocar o aparecimento de lesões mecânicas, diarreias, além de dificuldade na obtenção de peso, obstrução intestinal e imperfeições no pelame (LIMA, 2018).

Os endoparasitas de maior frequência são os *Trichostrongylus axei* (Trichostrongyloidea, Trychostrongylidae), *Viannella hydrochoeri* (Trichostrongyloidea, Viannaiidae), *Strongyloides chapini* (Rhabditoidea, Strongyloididae), *Hippocrepis hippocrepsis* (Trematoda, Nudacotylidae), *Taxorchis schistocotyle* (Trematoda, Cladorchiidae) e *Cruofilaria tubero cauda* (Filarioidea, Onchocercidae) (SOUZA, 2018).

Em várias regiões do Brasil, como sudeste, centro-oeste e sul, já foram confirmadas diversas espécies de helmintos e protozoários gastrointestinais, além de hemoparasitos destes roedores (SOUZA, 2018).

Os *Strongyloides chapini* são nematoides que parasitam o intestino e o estômago de capivaras. A apresentação de seus ovos é em forma elipsoidal, com casca delgada e extremidades polares simétricas, com superfície externa e interna lisas e constituída por uma camada uniforme. O comprimento varia entre 40mm a 70mm, e sua largura apresenta a metade do comprimento (VIEIRA *et al.*, 2006).

Já os *Hippocrepis hippocrepsis* são trematódeos com uma alta patogenicidade, que causam lesões intestinais (SOUZA, 2018), são parasitos que ficam grudados a mucosa do colon (BONUTI, 2002), e sua presença em capivaras já foi relatada em vários países americanos como no Brasil, na Argentina, na Venezuela, na Bolívia e no Uruguai. Altos índices de infecção já foram registrados, além de intensidades nas infecções (ASSIS *et al.*, 2019).

Parasitando vasos sanguíneos do rim, pulmão e coração, os nematoides *Cruofilaria tubero cauda* são filarídeos que podem provocar arterite proliferativa em capivaras e seu ciclo biológico ainda não é conhecido, mas a infecção no Brasil, Venezuela e Colômbia já foi relatada (SOUZA, 2018).

O trematoda *Taxorchis schistocotyle*, possui uma alta patogenicidade oriunda de lesões anátomo-histopatológicas no intestino grosso e mortalidade (SOUZA, 2018), geralmente se fixam na mucosa ceco-cólica e sua presença em capivaras já foi relatada em diversos países da América, como Argentina, Bolívia, Brasil e Venezuela (BONUTI, 2002).

### **Diagnóstico e métodos coproparasitológicos**

O diagnóstico de endoparasitas gastrointestinais é feito a partir da coleta de amostras fecais da porção final do reto do animal ou de fezes frescas, recém evacuadas no ambiente em que o animal vive. A coleta deve ser feita de forma individual e deve-se evitar fezes que foram expostas ao sol (LIMA, 2016).

Diversos métodos parasitológicos, moleculares e imunológicos são utilizados para identificarem endoparasitas gastrointestinais, como sedimentação, flutuação, centrifugo-flutuação, FLOTAC, Reação de Imunofluorescência indireta (RIFI), PCR, PCR em tempo real (qPCR), Ensaio imunoenzimático (ELISA) (LIMA, 2016).

Métodos e técnicas também podem ser utilizados para diagnosticar diferentes ovos e larvas de helmintos gastrointestinais como a técnica de Baerman, a técnica de Willis (flutuação), Hoffman e cols. (Sedimentação espontânea), o exame direto, centrifugo-sedimentação e centrifugo-flutuação (LIMA, 2018).

O diagnóstico coprológico é de suma importância para a avaliação de ovos e larvas, porém quando realizado em animais silvestres, apresenta uma certa dificuldade, pois o conhecimento do parasitismo desses animais é bastante escasso (VIEIRA, 2006).

### **METODOLOGIA**

Trata-se de uma pesquisa experimental, que foi realizada no Laboratório de parasitologia animal do Hospital Veterinário da Faculdade Univértix situado no município de Matipó, estado de Minas Gerais.

A cidade de Matipó está localizada na região II da Zona da Mata do estado de Minas Gerais, possui área territorial de aproximadamente 266,990 km<sup>2</sup> e uma estimativa de 19.005 pessoas (IBGE, 2020).

### **Caracterização da Amostra**

Foram utilizadas fezes frescas de capivaras de vida livre, de diferentes tamanhos, diferentes idades e de ambos os sexos, que vivem em pastos à beira do rio Matipó, localizado no município de Matipó (Figura 1).

O material fecal foi coletado direto do solo, ao redor do rio, durante o período de março à abril de 2021. As fezes escolhidas foram as que apresentavam características de recém evacuadas, com aspecto brilhoso, úmida e sem a presença de qualquer organismo indesejado e visível (Figura 2).

As amostras de fezes foram mantidas em potes estéreis, acondicionadas em caixas de transporte e conduzida até o laboratório de parasitologia animal no mesmo dia em que foi realizada a coleta.

No laboratório, foram realizados exames coproparasitológicos pelo método de flutuação de Willis e pelo o método de sedimentação de Hoffman, Pons e Janer (TAYLOR, COOP e WALL, 2010).



**Figura 1:** Grupo de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) localizados a beira do rio Matipó, próximo a uma área de pasto, no município de Matipó, Minas Gerais.

Fonte: Oriundas do próprio autor, 2021.



**Figura 2:** Fezes frescas de capivaras recém evacuadas no pasto à beira do rio Matipó, apresentando aspecto brilhoso, úmida e sem a presença de organismos indesejados.

Fonte: Oriundas do próprio autor, 2021.

### **Método de Flutuação (Willis-Mollay, 1921)**

A técnica de Flutuação de Willis consiste na identificação de ovos leves e pesados, cistos e oocistos (MENEZES, 2019).

Consiste basicamente na homogeneização de 2 a 9 gramas de fezes em 20ml de solução hipersaturada de cloreto de sódio (NaCl) (Figura 3). A solução preparada deve ser filtrada por uma gaze cirúrgica ou por uma peneira e colocada em recipiente de vidro até a formação de um menisco (Figura 4). Sobre o mesmo, deve ser colocado uma lamínula, que ficará em repouso por 15 minutos. Em seguida, deve-se colocar uma lâmina por cima dessa lamínula, e assim, levar ao microscópio para ser feita a análise (MENEZES, 2019).



**Figura 3:** Homogeneização das fezes em solução hipersaturada de cloreto de sódio.

Fonte: Oriundas do próprio autor, 2021.



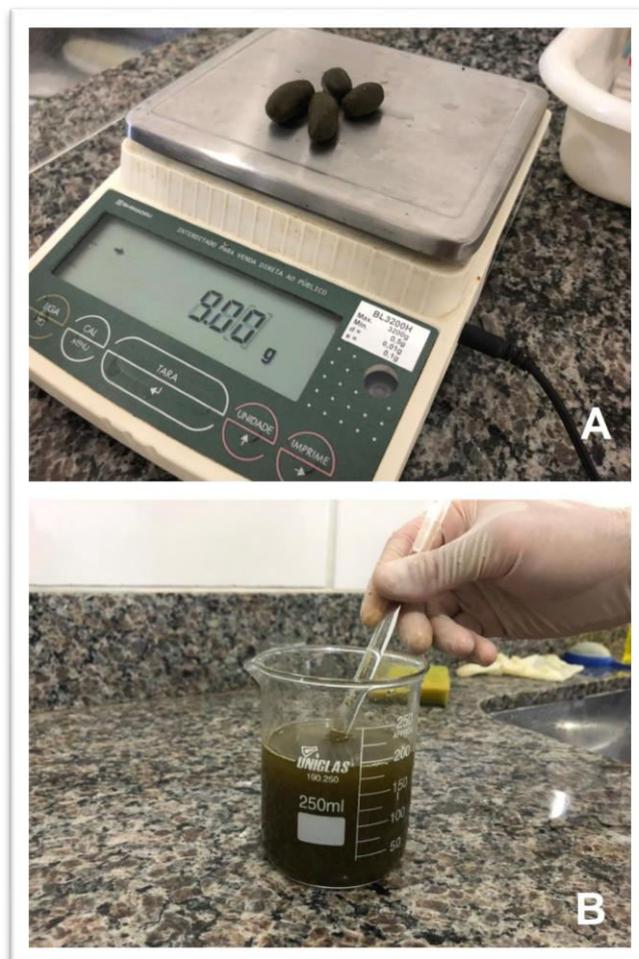
**Figura 4:** Formação do menisco, após a filtração.

Fonte: Oriundas do próprio autor, 2021.

### **Método de Sedimentação (Hoffman, Pons e Janer, 1934)**

O método de Sedimentação de Hoffman, Pons e Janer é utilizado para identificação de ovos de helmintos mais pesados, larvas de helmintos e cistos (MENEZES, 2019).

Consiste basicamente na diluição de 5 a 10 gramas de fezes em 200 ml de água ou solução fisiológica (Figura 5). A filtração das fezes é feita por uma gaze cirúrgica ou por uma peneira, e logo após, deve-se deixar sedimentar por 2 a 24 horas (Figura 6). Com uma pipeta Pasteur, retirar uma pequena amostra do sedimento que formou no fundo do cálice, colocá-la sobre uma lâmina e cobrir com lamínula, e assim, levar ao microscópio para ser feita a análise (MENEZES, 2019).



**Figura 5:** Pesagem das fezes frescas para dar início a diluição (A). Diluição das fezes em 200ml de água (B).

Fonte: Oriundas do próprio autor, 2021.



**Figura 6:** Etapa de filtração.

Fonte: Oriundas do próprio autor, 2021.

### **Análise dos dados**

Com os resultados obtidos, foi realizada uma análise descritiva apresentando os tipos de ovos de endoparasitas encontrados em fezes de capivara de acordo com o autor Truppel (2009).

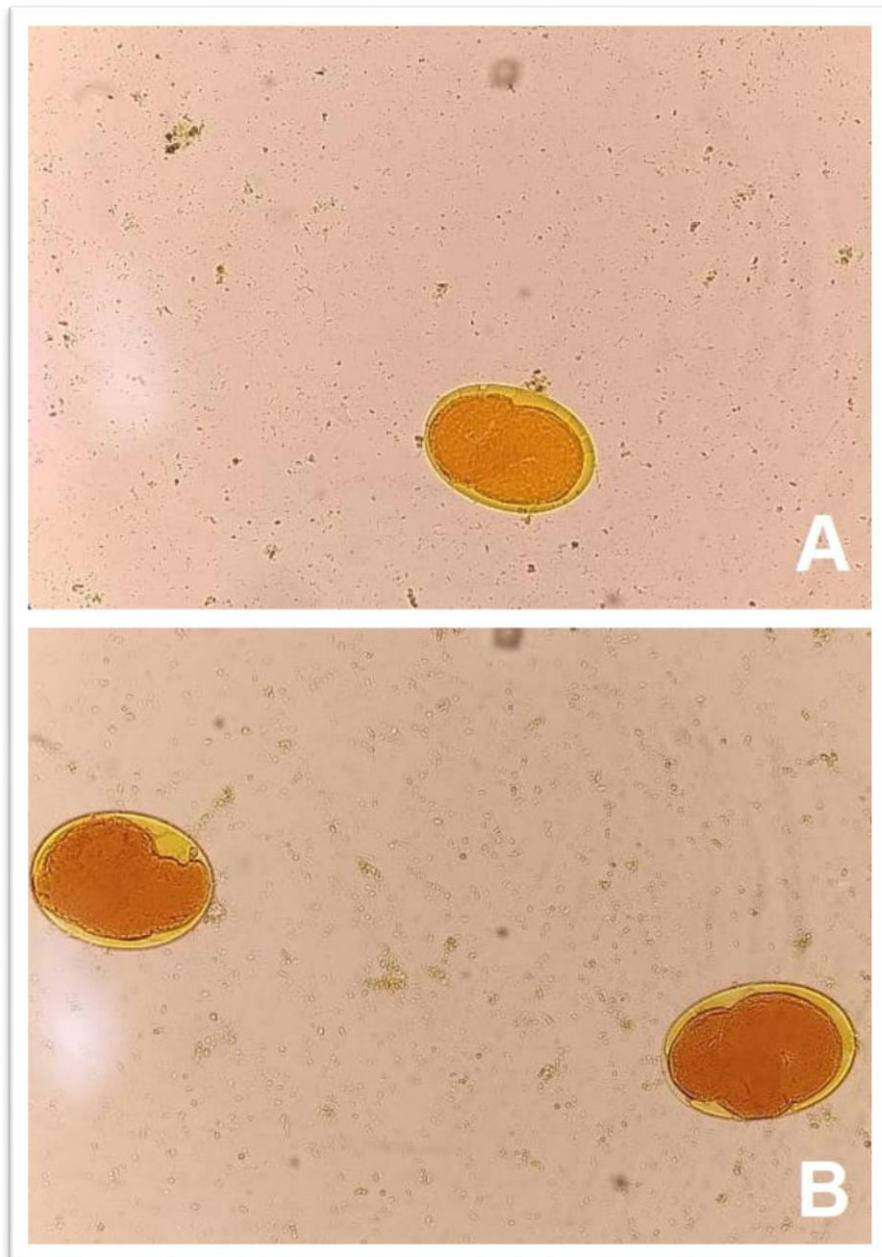
### **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

As capivaras são hospedeiros de uma grande população de parasitos gastrointestinais como helmintos e protozoários de grande prevalência e ubiquidade devido ao comportamento destes roedores (SOUZA, 2018).

O comportamento de populações de capivaras como o hábito de pastarem próximo ao solo, a coprofagia ou cecotrofia, o comportamento gregário e o ambiente

de vivência são fatores que influenciam na elevada prevalência de parasitos (TRUPPEL, 2009).

Nas amostras coletadas no presente estudo foram encontrados ovos do Filo Nematoda, da Ordem Strongylida como demonstrado na (Figura 7).



**Figura 7:** (A e B) representando ovos de nematoides da Ordem Strongylida, encontrados nos exames coproparasitológicos (400x).

Fonte: Oriundas do próprio autor, 2021.

A Ordem Strongylida apresenta ovos com características como a de possuírem a casca fina, serem elípticos e morulados (MARTINS, 2019).

Resultados semelhantes foram encontrados em capivaras (*H. hydrochaeris*) de vida livre nos biomas Mata Atlântica e Caatinga em Pernambuco em uma pesquisa realizada por Souza (2018) e em uma pesquisa em capivaras do Parque Tingui, na cidade de Curitiba, no estado do Paraná, realizada por Truppel (2009).

Souza (2018) em seu estudo, relata que das 23 amostras fecais de capivaras de vida livre avaliadas, 17 (73,9%) apresentaram ovos de helmintos (nematoides e trematoides) e destes nematoides foram observados ovos da Ordem Strongylida em 15 das 17 amostras (88,2%).

Em seu estudo com 53 animais, Truppel (2009) constatou que 49 estavam parasitados, o que representou 92,4% da população de capivaras estudadas. Foram identificados parasitos do Filo Nematoda e Platyhelminthes e ao Reino Protista. Do Filo Nematoda foram encontrados ovos da superfamília Strongyloidea em 49,1% das amostras, foram identificados como estrongilídeos, já que a análise dos ovos não permite a definição do gênero.

A Ordem Strongylida abriga inúmeras espécies de parasitos gastrointestinais de capivaras tendo apresentado a maior prevalência (88,2%) (SOUZA, 2018). As espécies mais comuns de endoparasitas da superfamília Strongyloidea em capivaras são *Viannella hydrochoeri*, *Hydrochoerisnema anomalobursata*, sendo parasitas naturais desses roedores.

Pela semelhança morfológica dos ovos, a identificação em nível de gênero e de espécie fica difícil de ser realizada (SOUZA, 2018).

A Realização de coprocultura pode ser utilizada para ajudar na identificação da espécie, mas neste estudo essa técnica não foi realizada.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os resultados deste estudo foram obtidos, utilizando as técnicas coproparasitológicas para detecção de ovos, e os mesmos confirmaram que as capivaras de vida livre que vivem à beira do rio Matipó (em Matipó - Minas Gerais), estão parasitadas por ovos de parasitos da Ordem Strongylida.

Este estudo é a primeira análise descritiva realizada para detecção de endoparasitas gastrointestinais de capivaras de vida livre do município de Matipó.

Os helmintos e protozoários podem ser detectados nestes roedores por meio de exames, causando transtornos para outros animais e também para os seres humanos. Dessa forma, torna-se imprescindíveis o aprendizado, análise e a experiência deste estudo.

O conhecimento do parasitismo nessa espécie é bastante escasso, mas os métodos de diagnósticos coproparasitológico são extremamente importantes para as avaliações de ovos e larvas de endoparasitas gastrointestinais.

## REFERÊNCIAS

ASSIS, J.C.A.; HERNÁNDEZ, D.L.; MURILLO, E.A.P.; MELO, A.L.; PINTO, H.A. Um estudo morfológico, molecular e do ciclo de vida do parasita capivara *Hippocrepis hippocrepis* (Trematoda: Notocotylidae). **Plos One**, 2019. Disponível em: < <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221662> > Acesso em: 26 nov. 2020.

BONUTI, M.R.; NASCIMENTO, A.A. do; MAPELLI, E.B.; ARANTES, I.G. Helmintos gastrintestinais de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) na sub-região de Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil. 2002. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 57-62, jan.- jun. 2002

CORNELIO, L.R.; REZENDE, E.E. de. **Levantamento das populações de capivara na orla do lago paranoá**. Orientador: Carlos Alberto da Cruz Junior. 2018. 19 f. Programa de Iniciação Científica (Pós-Graduação e Pesquisa) – Centro Universitário de Brasília – UniCEUB, Brasília, 2018.

CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; DIAS, J.L.C. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2014. 2470 p.

FARIKOSKI, I.O. **A capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766; CAVIIDAE) da Amazônia Ocidental como reservatório de *Salmonella* spp. (ENTEROBACTERIACEAE) e suas implicações na saúde pública**. Orientador: Dra. Vânia Maria França Ribeiro. 2016. 44 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2016.

LEAL, P.D.S.; MORAES, M.I.M.R.; BARBOSA, L.L. de O.; FIGUEIREDO, L.P.; SILVA, S.L. e; LOPES, C.W.G. Parasitas gastrointestinais em cães domiciliados atendidos em serviço de saúde animal no Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 1, p. 37-44, dez., 2015.

LIMA, V.F.S. **Agentes parasitários em animais silvestres, sinantrópicos e domésticos: aspectos clínicos, epidemiológicos e saúde pública**. Orientador: Leucio Câmara Alves. 2018. 128 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal Tropical) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2018.

LIMA, V.F.S. **Pesquisa de *Leishmania* (*Leishmania*) infantum NICOLLE, 1908, *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* VIANNA, 1911 e Endoparasitos**

**gastrointestinais em roedores silvestres e sinantrópicos.** Orientador: Leucio Câmara Alves. 2016. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal Tropical) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2016.

LIMA, Y.C. de. **Dinâmica social e ambiental de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766) do Parque Estadual de Dois Irmãos, Recife-PE. 2020.** Orientador: Profa. Dra. Maria Adélia Borstelmann de Oliveira. 2020. 22 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2020.

MARTINS, I. V. F. **Parasitologia Veterinária.** Vitória: EDUFES, 2019. *E-book*. Disponível em: < [http://repositorio.ufes.br/bitstream/10/11421/1/parasitologia-veterinaria\\_livro-digital.pdf](http://repositorio.ufes.br/bitstream/10/11421/1/parasitologia-veterinaria_livro-digital.pdf) > Acesso em: 01 jul. 2021.

MENEZES, E. P. F. **Quantificação de oocistos e ovos de parasitos gastrintestinais de cães por métodos de sedimentação e flutuação.** Orientador: Profa. Dra. Josivania Soares Pereira. 2019. 34 f. Monografia (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2019.

MORETO, A.O.; OLIVEIRA, F.D.; BERTASSOLI, B.M.; ASSIS NETO, A.C. Morfologia comparada do aparelho respiratório de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 37, p. 269-277, mar. 2017.

PAJUABA NETO, A. de A. **Capivaras em áreas antropizadas de Uberlândia MG: percepção da sociedade.** Orientador: Prof. Dr. Matias Pablo Juan Szabó. 2017. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

PAJUABA NETO, A. de A.; LIMONGI, J.E.; SILVA, V.P. da; SZABÓ, M.P.J. Conhecimentos, atitudes e práticas sobre capivaras em áreas antropizadas indenes para febre maculosa: percepção da sociedade. **Hygeia - Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 15, n. 34, p. 35-52, 2019.

QUADROS, A.P.N. de. **Parâmetros hematológicos e bioquímicos de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) de vida livre no Distrito Federal.** Orientador: Giane Regina Paludo. 2017. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

ROCHA, V.J. *et al.* Capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) e a presença do carrapato (*Amblyomma sculptum*) no campus da UFSCAR-Araras, São Paulo. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 18,1-15, e-44671, 2017.

SANTIAGO, A.C. da S. **Infecção por leptospira spp. em capivaras (*Hydrochoerus Hydrochaeris* Linnaeus, 1766) de vida livre em Pernambuco.** Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dra. Jaqueline Bianque de Oliveira. 2019. 55 f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2019.

SILVA, P.J.B. da. **A capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766; *Hydrochaeridae*) da Amazônia Ocidental como reservatório de *Brucella spp.* e suas implicações na economia.** Orientador: Dra. Vânia Maria França Ribeiro. 2016. 47 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Acre, Acre, 2016.

SOUZA, D. da S. e. **Sanidade de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766) de vida livre em Pernambuco: parasitos, perfil hematológico e bioquímico sérico.** Orientador: Profa. Dra. Jaqueline Bianque de Oliveira. 2018. 116 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal Tropical) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2018.

TAYLOR, M.A.; COOP, R.L. & WALL, R.L. **Parasitologia Veterinária**, 3ª ed. Editora Guanabara Koogan S.A, Rio de Janeiro, 2010.

TRUPPEL, J. H. **Avaliação do parasitismo em capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) e sua atuação como hospedeiro intermediário de *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*.** Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vanete Thomaz Soccol. 2009. 194 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas e da Saúde) – Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2009.

VELÁSQUEZ, J.C.C. **Aspectos histomorfométricos, histoquímicos e ultraestruturais do intestino grosso de capivaras (*Hydrochoerus sp.*).** Orientador: Cláudio César Fonseca. 2017. 123 f. Tese (*Doctor Scientiae*) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2017.

VIEIRA, Fabiano M.; LIMA, SUELI DE S.; BESSA, ELISABETH CRISTINA DE A. **Morfologia e biometria de ovos e larvas de *Strongyloides sp.* Grassi, 1879 (Rhabditoidea: Strongyloididae) parasito gastrointestinal de *Hydrochaeris hydrochaeris* (Linnaeus, 1766) (Rodentia: Hydrochaeridae), no município de Juiz de Fora, Minas Gerais.** *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 15, n. 1, p. 7-12, 2006.

## HIPERPLASIA ENDOMETRIAL CÍSTICA EM VACA – RELATO DE CASO

**Acadêmicas:** Anna Luiza Mayrink Araujo e Milaine Aparecida de Moraes

**Orientador:** Vanessa Lopes Dias Queiroz de Castro

### RESUMO

A hiperplasia endometrial cística (HEC) é causada por uma disfunção hormonal quando afêmea é submetida a longo período de exposição ao estrógeno e doses mais basais de progesterona (P4). Desse modo, o útero se torna mais espesso, edemaciado, há proliferação das glândulas endometriais e formação de cistos no endométrio, os quais se caracterizam por projeções circunscritas únicas ou em grupos de diversos tamanhos. Objetivou-se relatar um caso de HEC em uma vaca com seis anos de idade, na cidade de Ubaporanga (MG). Na palpação transretal foi detectado aumento de tamanho dos ovários, principalmente, o esquerdo, flacidez uterina com presença de conteúdo, além de palpar áreas circunscritas flutuantes na parede uterina. As tubas uterinas continham líquido e apresentam-se espessadas. Uma vez que o prognóstico é desfavorável, já que não há tratamento reversível para recuperação da função uterina na HEC, o proprietário optou pelo descarte do animal. Durante a necropsia o médico veterinário identificou a presença do corpo lúteo no ovário esquerdo. No útero havia a presença de projeções circunscritas únicas ou em grupos de diversos tamanhos condizentes com o quadro de HECe no lúmen presença de líquido seromucoso. Diante dos achados, confirmou-se o diagnóstico. A HEC é uma patologia pouco relatada em bovinos, porém de fulcral importância no cenário da pecuária, para qualquer tipo de criação da bovinocultura, seja corte ou leite. Os achados descritos a partir dos exames de palpação transretal e necropsia foram condizentes com a HEC. Vale ressaltar a importância do acompanhamento de um médico veterinário rotineiramente a fazenda, propiciando uma melhor eficiência reprodutiva.

**PALAVRAS-CHAVES:** cistos; estrógeno; progesterona; útero

**LINHA DE PESQUISA:** Fisiopatologia da Reprodução Animal.

### INTRODUÇÃO

O Brasil possui o segundo maior rebanho bovino do mundo com aproximadamente 214,7 milhões de cabeças de gado (IBGE, 2019). Desse modo, a reprodução se torna uma característica importante para os sistemas de produção e ademais aumentar a taxa anual de novilhas, o que leva a um aumento na lucratividade da pecuária (MORAES, JAUME, SOUZA, 2005).

A Hiperplasia Endometrial Cística (HEC) é a inflamação do útero, sendo esse constituído por três camadas: serosa, miométrio e endométrio. O endométrio está inteiramente ligado à atividade endócrina sofrendo alterações degenerativas e proliferativas (BORTOLATO *et al.*, 2017; VARGAS, 2019).

A HEC é causada por uma disfunção hormonal quando a vaca é submetida a longo período de exposição ao estrógeno e doses mais baixas de progesterona (P4). Desse modo, gerando assim um útero espesso, edemaciado, proliferação das glândulas endometriais e formação de cistos no tecido de revestimento do útero, os quais se caracterizam por projeções circunscritas únicas ou em grupos de diversos tamanhos (PEREIRA *et al.*, 2016).

Ademais, aquiescência uterina devido à progesterona favorece o acúmulo de fluido no lúmen uterino, facilitando assim uma infecção secundária por bactérias oportunistas, as quais são encontradas na mucosa vaginal em estado saudável (SAPIN *et al.*, 2017; ARAÚJO, 2019; SOARES, 2019; TORRES *et al.*, 2019).

É uma patologia considerada frequente em cadelas e gatas, porém, pouco conhecida por estar sempre associada com a piometra. Já em outros animais como nas vacas, trata-se de uma doença de pouco conhecimento, por ser pouco relatada. Entretanto, que causa grandes perdas no cenário econômico da pecuária. A relação da idade com o desenvolvimento da patologia está relacionada ao efeito cumulativo da estimulação hormonal nos ciclos estrais que acontecem de forma repetida (BASTOS, 2019).

O objetivo deste estudo foi relatar um caso de HEC em uma vaca, identificado por um veterinário local de Ubaporanga (MG). Esta patologia é pouco relatada na espécie bovina, mas acarreta prejuízos econômicos no sistema de produção.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **Fisiologia e histologia dos órgãos genitais**

O sistema reprodutor da fêmea bovina é composto pelos ovários, os ovidutos, útero, cérvix, vagina, vulva e clitóris (PALHANO, 2008). O ligamento largo sustenta as estruturas internas, sendo o ovário sustentado pelo mesovário, o oviduto pelo mesossalpinge e o útero pelo mesométrio. Ovário e oviduto são inervados por nervos autônomos, enquanto a vagina, a vulva e o clitóris são inervados por fibras sensitivas e parassimpáticas do nervo pudendo (COSTA e ARNONE, 2015).

Os ovários são órgãos pares, com localização e tamanhos variados de acordo com as espécies. Nas vacas, apresentam em média de 3,0 a 4,5 cm de comprimento, 1,5 a 2,0 cm de largura e 1,2 de espessura, com uma coloração rósea clara e formato de amêndoa (SANTOS, 2012).

O ovário desempenha funções exócrinas (liberação de oócitos) e endócrinas (liberação de estrógeno e progesterona) e, é composto pelo córtex e medula. A vascularização do órgão é alterada de acordo com as fases do ciclo estral. O corpo lúteo (CL) é resultado de um processo de hipertrofia e luteinização das células da granulosa e da teca interna pós ovulação (BERLITZ, 2019).

No córtex observa-se uma camada contínua de epitélio cúbico, o qual recobre também o hilo ovárico, continuando com o mesotélio peritoneal. Por baixo deste epitélio encontra-se uma camada de tecido conjuntivo, a túnica albugínea contendo os oócitos. Já a medula corresponde a uma zona de tecido conjuntivo frouxo com fibras musculares lisas e abundante inervação e irrigação sanguínea (FERREIRA, 2018).

Os folículos são divididos em folículos préantrais ou não cavitários, que compreende os folículos primordiais e, primários diferenciados pela forma e número de camadas de células da granulosa que circunda o oócito. Já os folículos antrais ou cavitários, são aqueles que apresentam cavidade antral, ou seja, líquido folicular compreende os folículos secundários e terciários (SANTOS *et al.*, 2012).

Os folículos primordiais estão localizados na região periférica do córtex ovariano e possui dois tipos de células da granulosa: a pavimentosa e cúbica, se encontra em repouso e a vaca nasce com, aproximadamente 150.000 folículos primordiais. Já o folículo primário se dá quando uma camada de células cubóide cerca o oócito. Quando se forma a segunda camada, passa a ser folículo primário multilaminar. Os folículos secundários é aquele em que se inicia a formação do antro (ADONA *et al.*, 2013).

No folículo terciário o oócito é circundado pela corona radiata e pelas células cumulus, além das células tecais interna e externa. Já o folículo terciário apresenta todos os componentes e seu oócito se encontra no estágio final de desenvolvimento, passando pela maturação nuclear e citoplasmática (SANTOS *et al.*, 2012).

O oócito no interior do folículo é rodeado de células da granulosa, formando o complexo cumulus oócitos (CCO). O conjunto de células próximas da zona pelúcida (ZP), em íntimo contato com o oócito por junções é denominado corona radiata, e está circundado por células foliculares, demarcado por uma membrana basal que o separa do estroma ovariano (SANTOS *et al.*, 2012).

O útero na vaca é bipartido, com os cornos uterinos separados por um septo proeminente do corpo uterino. Sua estrutura histológica é dividida em perimétrio, miométrio e endométrio. O perimétrio é a camada mais externa, constituída de mesotélio, vasos sanguíneos, linfáticos, fibras nervosas e tecidos conjuntivos frouxos recobertos por mesotélio peritoneal. O miométrio é constituído por duas camadas de musculatura lisa, sendo uma interna circular e a outra externa longitudinal, aumentando de tamanho e número de células durante a gestação. Além disso, sofre contrações musculares durante o cio e auxilia no transporte dos espermatozóides do ponto de ejaculação (BERLITZ, 2019).

Já o endométrio é a camada mais interna que reveste a cavidade uterina, onde estão presentes as carúnculas, possuindo em média 70 a 120 destas. O epitélio é simples cilíndrico ou cúbico, com a presença das glândulas endometriais (MONTEIRO *et al.*,2003).

O útero é constituído por dois cornos uterinos, um corpo e uma cérvix (CORREIA, 2019). Na vaca o corpo do útero e a cérvix medem aproximadamente 3,7 e 10 cm respectivamente (COSTA e ARNONE, 2015). Sua principal função é abrigar o embrião e em seguida o feto, dando a ele proteção e nutrição adequada para o seu desenvolvimento. Ademais, sua contração auxilia no transporte dos espermatozóides e participa da regulação da função do corpo lúteo por meio da secreção do hormônio luteolítico. Já a cérvix possui anéis cartilagosos, projetados para o canal vaginal e tem como função a seleção e reservatório de espermatozóides, protege o ambiente uterino durante a gestação devido seu fechamento e secreta o muco que serve de tampão (PANSANI e BELTRAN, 2009).

Os ovidutos ou tubas uterinas estão interligados em relação anatômica com os ovários. São em pares e sustentados pelo ligamento largo, chamado mesossalpinge. As tubas uterinas são divididas em três segmentos funcionais. O infundíbulo, no qual se localiza as fímbrias (com forma de franjas) e têm por função capturar os oócitos liberados pelo ovário e possui formato de funil (SOARES, 2019).

No segmento médio do oviduto, a ampola, na qual ocorre a fertilização. Por último temos o istmo, o qual se liga ao corno uterino e realiza contrações para auxiliar no transporte espermático. Cada oviduto possui 20 a 30 cm de comprimento e 2 a 3 mm de diâmetro(SOARES,2019).

A vagina tem como função receber o pênis no momento da cópula e o sêmen, além de servir como canal do parto, tem aproximadamente 25 a 30 cm de comprimento e podendo aumentar quando a vaca esta prenha (COSTA e ARNONE, 2015). O vestíbulo da vagina é onde se encontra o clitóris, que vem da mesma origem embrionária que o pênis, sendo o órgão erétil e mais sensorial da fêmea (VALLE,1991).

A vulva se caracteriza pela comissura ventral externa com os lábios maiores responsáveis pelo fechamento do sistema urinário e reprodutor da fêmea (COSTA e ARNONE, 2015).

### **Controle endócrino**

As vacas são consideradas poliéstricas anuais, isto quer dizer que possuem um ciclo durante o ano inteiro (BAZILIO e CAVALCANTE NETO, 2018). As funções reprodutivas das fêmeas bovinas têm como resultado de uma interação entre hipotálamo-hipófise, ovário e útero. O equilíbrio fisiológico entre a interação desses tecidos promoverá a vida reprodutiva das fêmeas, e são vários fatores que interferem no controle neuro-hormonal reprodutivo, tendo cada hormônio uma função especial no ciclo estral (RISQUES, 2020).

O hipotálamo está localizado no terceiro ventrículo do cérebro e, é o responsável pela liberação do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH),secretado de forma pulsátil através do sistema porta hipofisário e tem como função estimular a adenohipófisea secretar o hormônio luteinizante (LH) e o hormônio folículo estimulante (FSH) (COSTA e ARNONE, 2015).

O FSH e LH vão agir nas gônadas, o FSH estimula o crescimento folicular e o LH é responsável pela maturação final do folículo e, conseqüentemente, a ovulação, após esse episódio o LH tem função importante na luteogênese (MENDES, 2018).

Em grande parte do ciclo estral das vacas, a progesterona (P4) e o estradiol (E2) inibem a secreção de LH por meio de retroalimentação negativa, sobre O hipotálamo e hipófise (GIOMETTI, 2009).

O E2 associado à pequena concentração sérica de P4 induz o comportamento de cio na vaca. Sozinho ele estimula o crescimento e desenvolvimento das glândulas mamárias e participa do desenvolvimento das características sexuais secundárias femininas. Já a P4 prepara o endométrio para

implantação e manutenção da prenhez, inibe a mortalidade uterina e em níveis elevados inibe o cio e o pico pré-ovulatório do LH (BERLITZ, 2019).

A  $PGF2\alpha$  é secretada pelas células epiteliais do endométrio, a qual intervém no ciclo estral com seu efeito luteolítico acarretando a regressão do corpo lúteo (RIPPE, 2009). Com a lise do corpo lúteo, inicia a fase folicular, como consequência da queda da P4 na corrente sanguínea entre 12 a 36 horas após o início da lise do corpo lúteo, levando a altas concentrações de estrógeno, juntamente com LH e FSH (FERREIRA, 2019).

Em fêmeas bovinas, vários fatores podem comprometer a função reprodutiva, de forma definitiva ou temporária, como os distúrbios nutricionais, condições fisiológicas, infecções uterinas e, além disso, fatores genéticos e hormonais. O diagnóstico e identificação dos animais com distúrbios de fertilidade são de extrema importância para tentar minimizar ou evitar prejuízos econômicos ao sistema de produção (PEREIRA, 2015).

O ciclo estral das fêmeas bovinas se divide em quatro fases: proestro de aproximadamente 3 dias, estro de 12 a 18 horas, metaestro de 3 a 4 dias e o diestro de aproximadamente 15 dias.

Dessa forma, diferentes fases do ciclo estral promovem alterações físicas e morfológicas, sendo dividida em duas fases, a fase folicular que é quando se tem a presença de folículos secretando estrógeno e a luteal, que é quando se tem a presença de um CL secretando progesterona (FERREIRA, 2019).

A fase folicular é caracterizada pelo desenvolvimento do folículo, caracterizada pelo proestro e estro. O proestro inicia-se pelo declínio da progesterona e aumento do estradiol no sangue. Ocorre um rápido crescimento folicular sob estimulação do FSH e regressão do CL do último ciclo estral pela  $PGF2\alpha$ , provocando edema da vulva com hiperemia, aumento da atividade mucolítica cervical e estimulação da contratilidade do útero. Nesse período a fêmea apresenta comportamento homossexual, mas não aceita monta (BAZILIO, 2018).

No estro há elevada concentração sérica de estradiol, com isso tem-se a manifestação do cio. Nesse período a fêmea aceita a monta, apresenta inquietação e nervosismo, mugidos frequentes, cauda erguida e micção frequente, canal cervical relaxado, redução do apetite e da produção de leite, agrupamento em torno por

rufião ou do touro e liberação de muco. “O proestro juntamente com o estro também podem ser chamados de fases estrogênicas ou proliferativas” (BAZILIO, 2018).

Após a ovulação que ocorre no metaestro nesta espécie, há o desenvolvimento do CL, dando início a fase luteal, subdividida em metaestro e diestro.

O metaestro é caracterizado pelo brusco desaparecimento dos sinais de cio, ocorre à ruptura do folículo e liberação do ovócito II, começando assim a formação do CL (PANSANI, 2009). Já no diestro ocorre desenvolvimento total do CL e os órgãos genitais estão sob domínio da P4. Caso o ovócito não seja fecundado, a PGF2 $\alpha$  entra em ação, iniciando a regressão do CL (BAZILIO, 2018). O metaestro juntamente com o diestro também podem ser chamados de fases progesterônicas ou secretoras.

Nas vacas como nos animais domésticos sabe-se que a P4 é primordial para a manutenção da gestação, por tanto conhecida como hormônio da gestação. Nas vacas são observados níveis de P4 a partir do 14º dia de gestação até o momento do parto. Já a PGF2 $\alpha$  é conhecida como responsável pela luteólise do CL (CORREIA, 2019).

A hiperplasia endometrial cística (HEC) não tem uma causa específica, está associada à idade do animal, a quantidade de ciclos estrais, se tem alguma patologia uterina. Inicialmente ocorre uma resposta exacerbada das glândulas endometriais a progesterona, fazendo com que elas fiquem císticas e repletas de líquidos e a progesterona aumenta também a atividade das glândulas e a secreção, às vezes faz o fechamento da cérvix e inibe a atividade do miométrio (BARNI, 2012).

O estrógeno por si só não tem como causar a HEC, mas potencializa o efeito da progesterona, aumentando os receptores da progesterona no endométrio, o que conseqüentemente provoca o efeito cumulativo. “A parede do endométrio pode ser aumentada em até cinco vezes pelo efeito conjunto da progesterona e do estrógeno” (BARNI, 2012).

### **Hiperplasia endometrial cística (HEC)**

É uma síndrome que pode ocorrer de forma aguda ou crônica e se caracteriza pela ação conjunta dos hormônios esteroidais, sendo eles o estrógeno e a progesterona. Inicialmente ocorre uma resposta fisiológica exagerada do

endométrio, desse modo as glândulas endometriais se tornam císticas e repletas de líquido. A cada ciclo estral ocorre a exposição do endométrio a estimulação estrogênica, seguida de um intervalo prolongado de dominância progesterônica, responsável por alterações morfológicas e exsudação epitelial, tornando o útero susceptível à ação de agentes bacterianos responsáveis pela patologia (VEIGA, 2013).

A P4 acarreta proliferação e aumento da secreção glandular, conseqüentemente, acúmulo de grandes quantidades de fluídos dentro do útero, quiescência uterina e o fechamento da cérvix. Com o fechamento e a redução da contratilidade miometrial, impede com que o líquido saia, favorecendo o desenvolvimento de afecção. Estes efeitos são acumulativos no decorrer dos ciclos estrais, o que justifica a maior incidência em animais mais velhos. O estrógeno apenas potencializa a ação da progesterona (BARNI, 2012).

O ambiente uterino se torna propício a multiplicação bacteriana após o estro sob o efeito da P4, o que define realmente o grau de gravidade da infecção secundária. Como é mais comum em animais mais velhos, o efeito cumulativo da P4 nas glândulas endometriais acaba por acarretar o atrofiamento das mesmas e até a inatividade (DYBA, 2018).

Macroscopicamente o útero com HEC apresenta-se com formato irregular e bordas não uniformes (DYBA, 2018). O endométrio apresenta um leve espessamento em sua parede, irregularidade e aspecto cístico. Podendo apresentar hidrometra, que se caracteriza pela presença de líquido no seu interior, mucometra que é a presença de muco ou a piometra com a presença de pus.

Desse modo, possui duas maneiras de apresentação, a cérvix aberta onde tem extra vasamento do conteúdo ou cérvix fechada onde há acúmulo de secreção que pode levar até o rompimento. Nos casos em que a cérvix apresenta-se aberta, os sinais clínicos podem se apresentar com menor gravidade (SILVA SOARES, 2019).

Microscopicamente, geralmente, se observa aumento no diâmetro e na quantidade de glândulas endometriais, apesar de não se observar alterações no estroma. O endométrio apresenta-se com os efeitos da P4 e as glândulas se tornam císticas, já que a P4 atua causando hiperplasia e hipertrofia das glândulas (SOLANO SHOCK, 2017).

O histórico clínico do animal é de suma importância no diagnóstico, devendo ficar atento a ausência de atividade reprodutiva (anestro) em longo prazo, associar a ultrassonografia modo B o que permite a visualização do conteúdo intraluminal juntamente com a palpação transretal, que é de grande diagnóstico diferencial de outras patologias frequentes nas fêmeas bovinas (MOREIRA,2008).

Um exame complementar de escolha que temos é a ultrassonografia, pois com ela pode-se avaliar a espessura da parede do útero, o diâmetro da luz uterina permitindo diferenciar de outras patologias ou de uma gestação. O exame de sangue não é tão usado em vacas, mas pode auxiliar geralmente apresentando neutrofilia e desvio a esquerda. O bioquímico pode apresentar uréia e ALT aumentados, apesar de quase não ser usado, geralmente apenas com ultrassom se fecha diagnóstico em vacas (OLIVEIRA,2007).

A utilização da ultrassonografia alcançou variadas extensões, não apenas dentro dos centros de pesquisas, como também, na área comercial em atividades pecuárias, fazendo com que houvesse melhorias no diagnóstico clínico e na aplicabilidade reprodutiva.

A ultrassonografia transretal dentro da reprodução na prática bovina tornou-se uma ferramenta de elevada importância na avaliação do sistema reprodutor feminino permitindo que os órgãos genitais fossem avaliados para diversos fins (VIEIRA, 2019).

Outra forma de diagnóstico é a vaginoscopia sendo uma técnica muito importante para patologias uterinas. Consiste em detectar secreções anormais provenientes do útero, além disso, é um método rápido, de baixo custo, prático e com grande especificidade e sensibilidade. Quando não é possível observar através da vulva a eliminação de secreção cervicovaginal, o vaginoscópio nos dá essa possibilidade de avaliação (TEIXEIRA, 2017).

Os achados na avaliação da secreção cervicovaginal e os resultados de cultura bacteriana, histopatológica e citológica uterina apresentam grande correlação permitindo um diagnóstico mais preciso. Quanto ao exsudato, pode ser variável de acordo com sua natureza. Em casos mais severos a *Escherichia coli* e *Proteus spp* possivelmente estarão presentes, apresentando exsudato espesso, viscoso, aderente com coloração vermelha – amarronzada e com odor fétido (TEIXEIRA, 2017).

Geralmente o diagnóstico ocorre de forma tardia, por ser uma patologia não visível aos olhos do proprietário, e os sintomas ficam mais visíveis quando a maioria do endométrio já se encontra comprometido. O que dificulta o diagnóstico é a falta de sinais clínicos, porque nem sempre esses estão presentes.

Verifica-se que em pequenos animais o diagnóstico é mais fácil, podendo ser descoberto em exames de rotina. Como diagnóstico diferencial considera-se a gestação, vaginite, estro, neoplasias vaginais, distúrbios renais, hepáticos e endócrinos (CAMARGO *et al.*, 2019).

O tratamento para HEC consiste em ovário salpingo histerectomia e o tratamento das infecções secundárias. Deste modo, a vaca não teria mais sua vida reprodutiva, sendo assim o tratamento é desfavorável, indicando o animal ao descarte (BARNI, 2012).

## **RELATO DE CASO**

Observou-se na Fazenda Águas Claras, localizada na zona rural do município de Ubaporanga (MG), no mês de abril de 2020, uma vaca múltipara, seis anos de idade, raça Girolando, peso médio de 450 kg criada em sistema extensivo. Foi atendida por um médico veterinário local, o qual durante a anamnese perguntou sobre repetições de estro, e o proprietário relatou falhas reprodutivas com ciclicidade irregular há 12 meses, mesmo na presença de touro.

Na palpação transretal foi detectado aumento de tamanho dos ovários, principalmente o esquerdo, flacidez uterina com presença de conteúdo, além de palpar áreas circunscritas flutuantes na parede uterina. As tubas uterinas continham líquido e apresentaram-se espessadas.

Uma vez que o prognóstico é desfavorável, já que não há tratamento reversível para recuperação da função uterina na HEC, o proprietário optou pelo descarte do animal.

Durante a necrópsia o médico veterinário identificou a presença do corpo lúteo no ovário esquerdo (FIGURA1). No útero havia a presença de projeções circunscritas únicas ou em grupos de diversos tamanhos condizentes com o quadro de hiperplasia cística endometrial (FIGURA2) e no lúmen uterino a presença de líquido seromucoso (FIGURA3). Diante dos achados acima, confirmou-se o diagnóstico para HEC.

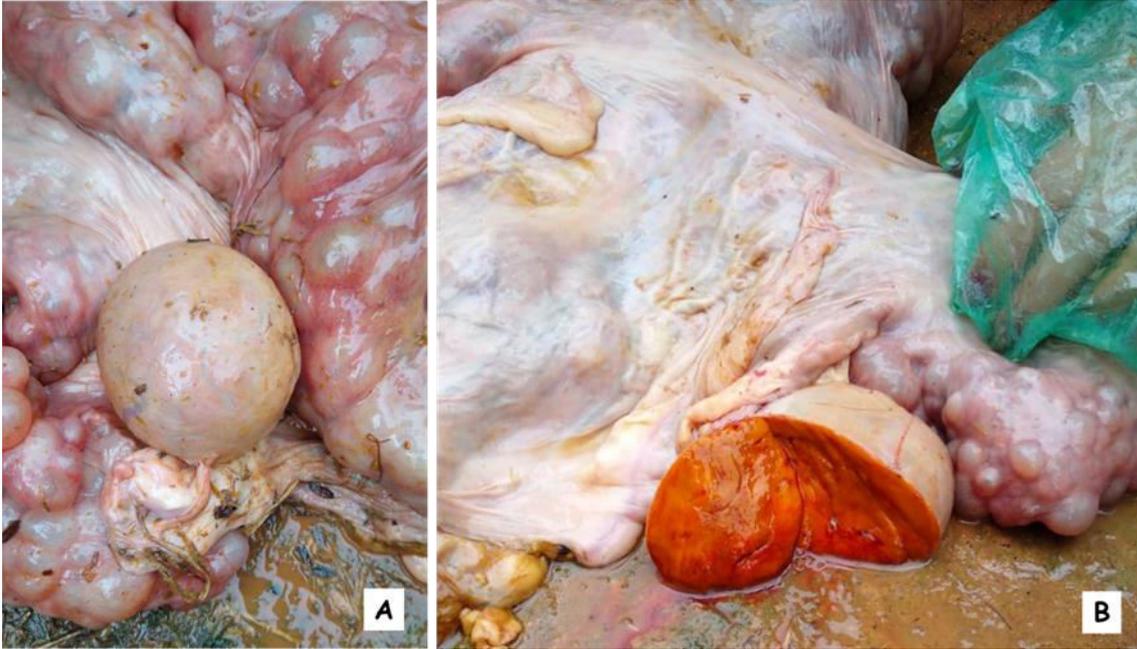


Figura 1:A - Ovário esquerdo. B – Ovário com corte apresentando um corpo lúteo.  
Fonte: Arquivo pessoal

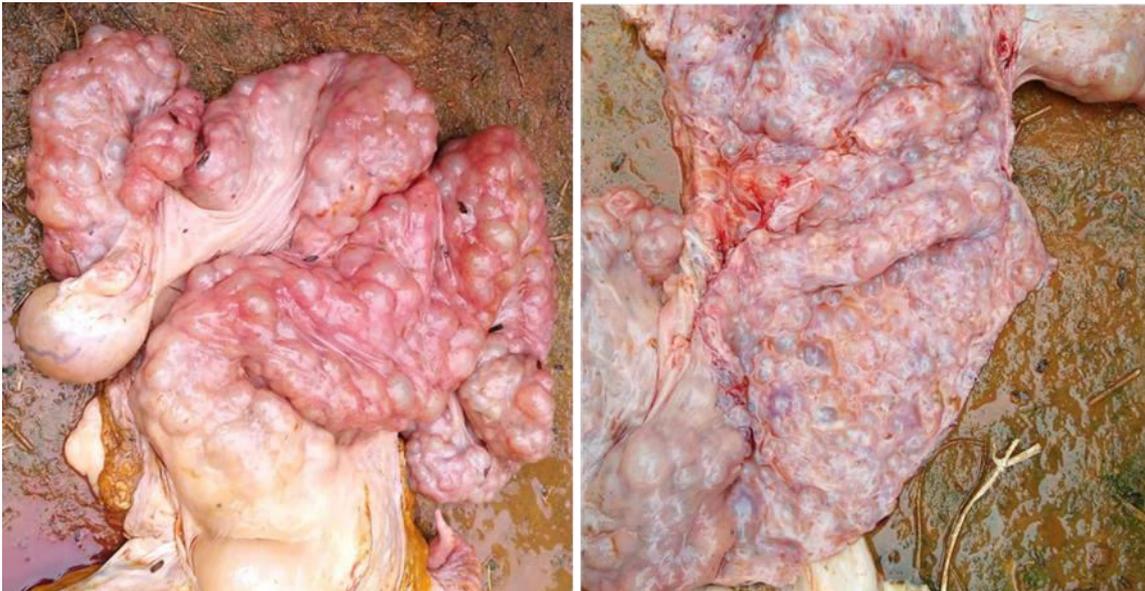


Figura 2. Interior do útero apresentando vários cistos endometriais.  
Fonte: Arquivo pessoal.



Figura 3. Interior do útero contendo líquido seromucoso.  
Fonte: Arquivo pessoal.

## **DISCUSSÃO**

É possível fechar um diagnóstico com as informações do histórico clínico associado à avaliação da palpação transretal, ultrassonografia e a vaginoscopia. Além disso, o hemograma e o bioquímico são exames auxiliares em que se verifica alterações como neutrofilia e desvio a esquerda, uréia e ALT aumentados, de acordo com Oliveira(2007). Porém, como é relatado pelo autor, os exames auxiliares são pouco utilizados por médicos veterinários a campo, já que na maior parte das vezes, é possível fechar o diagnóstico apenas com a ultrassonografia associada a palpação transretal.

Como relatado por Barni (2012), o aparecimento da HEC não está relacionado com fatores raciais, mas sim com a idade, relacionada com a quantidade de ciclos estrais e associação com alguma patologia uterina primária. A iniciação dessa enfermidade está relacionada a uma exacerbada resposta endometrial a liberação de progesterona, que faz com que as glândulas se tornem hiperplásicas e repletas de líquido.

Segundo Risques (2020) e Faria (2017), a eficiência reprodutiva está associada a lucratividade. Uma vaca em plena eficiência reprodutiva tem capacidade de produzir um bezerro por ano. Por isso, a necessidade e importância do acompanhamento de um Médico Veterinário no rebanho, para que os animais sejam

avaliados e encaminhados ao descarte, caso necessário como relatado com a vaca, não mais produtiva.

Como relatado por Bastos (2019), a HEC se trata de uma patologia bem frequente em cadelas e gatas, e geralmente não descrita por ser associada à piometra, comumente descoberta no momento da ovarioossalpingo-histerectomia. Já em vacas trata-se de uma patologia não tão frequente e pouco descrita, em que o anestro pode ser o único sinal e desta forma, acaba sendo encaminhadas para o abate sem investigar a causa.

Durante o exame de palpação realizada pelo médico veterinário no presente relato, foi possível identificar o aumento de volume dos ovários, presença de hidrossalpinge e útero flácido, característico da ação da P4. Estes mesmos achados foram descritos por Pereira (2016). Já os achados da necropsia, como projeções circunscritas de diversos tamanhos e presença de líquido seromucoso no interior do útero foram também relatados por Teixeira (2017) como sinais da HEC.

A sintomatologia é variável, às vezes não presente e está ligada associada ao grau de acometimento do útero e cérvix. Quando esta última está relaxada, geralmente é de menor risco, como descrito por Veiga (2012).

Pereira *et al.*, (2015) destacaram que quando a vaca apresenta um cisto folicular por um longo prazo, conseqüentemente, o útero estará sob ação do estrógeno em altas concentrações. Como relatado por Faria (2017) e Gardinalli Júnior (2010), a ninfomania se caracteriza pela manifestação de cios irregulares e frequentes. Vale ressaltar que a progesterona por si só não tem condição de causar a HEC, seu efeito é acumulativo em associação ao estrógeno acarretando atrofia das glândulas endometriais, flacidez uterina e, conseqüentemente a inatividade uterina, o que leva o animal a ser encaminhado ao descarte como também relatado por Veiga (2002).

Neste relato de caso, não foi observado um cisto folicular, mas um CL ativo e funcional estava presente e encontrava-se persistente bloqueando o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, conseqüentemente, não há gonadotrofinas suficiente para a maturação final e ovulação o que caracteriza o anestro relatado pelo proprietário.

De acordo com Veiga (2002), em caso de HEC associada a piometra a principal bactéria encontrada é a *escherichia coli*, sendo encontrada também em

menor frequência *Streptococcus hemolítico*, *staphilococcus*, *klebsiella*, *pasteurella*, *pseudomonas* entre outras bactérias sendo responsáveis pelo grau de acometimento do animal.

Como relatado por Teixeira (2017), o vaginoscopio é um grande auxiliar no diagnóstico, não só da HEC como de outras patologias pela avaliação do muco anormal encontrado ali, podendo se avaliar a presença de bactérias ou apenas avaliar e classificar de acordo com a coloração e consistência presente.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A HEC é uma patologia pouco relatada em bovinos, porém de fulcral importância no cenário da pecuária, para qualquer tipo de criação da bovinocultura, seja corte ou leite. Os achados descritos a partir dos exames de palpação transretal e necrópsia foram condizentes com a HEC. Vale ressaltar a importância do acompanhamento de um médico veterinário rotineiramente a fazenda, propiciando uma melhor eficiência reprodutiva.

## REFERÊNCIAS

ADONA, Paulo Roberto *et al.* **Ovogênese e Foliculogênese em Mamíferos.** UNOPAR Cient. Ciênc. Biol. Saúde, 15(3):245-50, 2013.

ARANA, David Giraldo. **Comparação de critérios para predição da precocidade em novilhas nelore.** Orientador: Prof. Adj. Guilherme de Paula Nogueira, 2019. 94(f). Tese, doutor em Ciência Animal, Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal – Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, Campus de Araçatuba, 2019. Versão eletrônica.

ARAÚJO, Jessica Maresch. **A influência da nutrição e a atuação da leptina, kisspeptina e grelina no ciclo reprodutivo da égua.** Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Arruda de Oliveira, 2017. 33(f). Monografia, Trabalho de conclusão de curso – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2017. Versão eletrônica.

BARNI, Brunna de Souza. **Hiperplasia endometrial cística em cadelas e gatas.** Orientador: Prof. Dr. Emerson Antônio Contesini, 2012. 39 (f). Monografia, Graduação Em Medicina Veterinária – Faculdade de medicina veterinária, universidade federal do rio grande do sul. Porto Alegre, 2012. Versão eletrônica.

BASTOS, Stephanie Amorim Nogueira. **Alterações mamárias e reprodutivas em gatas no recôncavo da Bahia.** Orientador: José Carlos de Oliveira Filho, 2019. 41(f). Monografia. Universidade Federal Do Recôncavo Da Bahia Centro De Ciências Agrárias Ambientais E Biológicas. Versão eletrônica.

BAZILIO, João Gabriel Dos Santos; CAVALCANTE NETO, Natalício De Holanda. **Manejo reprodutivo em vacas de corte: revisão de literatura.** Orientadora: professora Dra. Valesca Barreto Luz, 2018. 25(f). Monografia. Conclusão do curso de Medicina Veterinária – Centro Universitário Cesmac, Maceió/AL, 2018. Versão eletrônica.

BERLITZ, Carolina Gabriela Becker. **Impacto do estresse ambiental na reprodução de bovinos de corte.** Orientador: Júlio Otávio Jardim Barcellos, 2019. 77(f.). Monografia. Graduação – Medicina Veterinária, Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, 2019. Versão eletrônica.

BORTOLATO, Thabata Laccort. Hiperplasia endometrial cística com infecção secundária em gata – relato de caso. **Revista Eletrônica Biociências, Biotecnologia E Saúde.** V.10. Curitiba, maio/agosto 2017. Versão eletrônica.

CAMARGO, Karine Silva; *et al.* **Achados histopatológicos em úteros e ovários de cadelas submetidas à castração eletiva pelas técnicas de ovariectomia ou ovariohisterectomia.** Medicina Veterinária (UFRPE), Recife, v.13, n.4 (out-dez), p.577-582, 2019

CORREIA, Caroline Pereira. **Hidroalantoide em vaca: relato de caso.** Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiane Silva Aguiar, 2019. 44(f.). Monografia, Conclusão de curso submetido ao Colegiado de Graduação – Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Cruz Das Almas- BA, 2019. Versão eletrônica.

COSTA, Kelly Adriana; ARNONE, Bianca. **Doença ovariana cística em vacas.** FAIT- Faculdade De Ciências Sociais E Agrárias De Itapeva, 2015.

DYBA, Suzyély; HADI, Najla Ibrahim Isa Abdel; DALMOLIN, Fabíola; OLIVEIRA, Camila R. T. **Hiperplasia endometrial cística/piometra em cadelas: estudo retrospectivo de 49 casos no sudoeste do Paraná.** 2º Congresso Nacional de Medicina Veterinária FAG, Realeza – PR, 2018.

FARIA, Ana Cláudia Fagundes; SANTOS, Ricarda Maria dos; DEFENSOR, Melissa Lobato. **Fatores predisponentes a incidência de cisto folicular e retorno à ciclicidade em vacas holandesas em lactação.** Ciência Animal, 27 (1): 55-63, Uberlândia-MG, 2017.

FERREIRA, Aristóteles Marcos Silva. **Efeito da resposta ao protocolo de indução de ciclicidade sobre a taxa de concepção em novilhas zebuínas submetidas ao protocolo de iatf: levantamento de dados.** Orientador: Prof. Me João Luiz Barbosa, 2019. 47(f). Monografia. Bacharel em Medicina Veterinária – Centro Universitário São Lucas de Ji-Paraná, 2019. Versão eletrônica.

GARDINALLI JUNIOR, Benedito. **Cisto ovariano folicular em bovinos.** Orientador :Prof. Dr. Roberto Mendes Porto Filho. 2010. 22(f). Monografia. Conclusão de Curso de especialização lato sensu na área de Reprodução e Clínica Médica de Bovinos e Equinos – Universidade Castelo Branco. Piracicaba - SP, 2010. Versão eletrônica.

**IBGE**, Rebanho bovino tem leve alta em 2019, após dois anos seguidos de quedas. 2019. Disponível em: <https://censos.ibge.gov.br/2012-agencia-de-noticias/noticias/29164-rebanho-bovino-tem-leve-alta-em-2019-apos-dois-anos-seguidos-de-quedas.html>. Acesso em: 10 outubro 2020.

MENDES, Manuel Maria Vilarinho Carvalho Garcia. **Avaliação de índices reprodutivos nas ganadarias portuguesas de raça brava de lide**. Orientador: Dr. António Vasco Lucas, 2018. 76(f). Dissertação, Mestrado Integrado em Medicina Veterinária –Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2018. Versão eletrônica.

MORAES FERREIRA, Ademir de. Nutrição e atividade ovariana em bovinos: uma revisão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.28, n.9, p. 1077-1093, set. 1993.

MORAES, José Carlos Ferrugem; JAUME, Carlos Miguel; SOUZA, Carlos José Hoff. Controle da reprodução em bovinos de corte. Comunicado técnico 58, **EMBRAPA**, Bagé, RS, 2005. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1002756>. Acesso em: 09 novembro 2020.

MOREIRA, Hanniele R.; *et al.*, Complexo hiperplasia endometrial cística-piometra em uma cadela tratada com acetato de medroxiprogesterona como método contraceptivo. **Revista Portuguesa de ciências veterinária**, V. 103 (567-568) p.233-238, Belém, PR, 2008.

OLIVEIRA, Kellen de Sousa. Complexo hiperplasia endometrial cística.. **Acta Scientiae Veterinariae**, 35 (Supl2): s270-s272, São Paulo, 2007.

PANSANI, Marcelo Augusto; BELTRAN, Maria Paula. Anatomia e fisiologia do aparelho reprodutor de fêmeas bovinas. **REVISTA CIENTÍFICA ELETRÔNICA DE MEDICINA VETERINÁRIA**, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça – FAMED/FAEF, Ano VII – Número 12 – Janeiro de 2009.

PEREIRA, Jhonata V.T.N.; *et al.*, Hiperplasia endometrial cística e hidrossalpinge associada a cisto folicular em bovinos. **Revista Brasileira Medicina Veterinária**, 37 (1):1-6, jan/mar Viçosa-MG, 2015.

RISQUES, Paola *et al.*, Influência da amamentação e anestro pós-parto na eficiência reprodutiva da fêmea bovina. **PUBVET**, v.14, n.11, a699, p.1-9, Nov., Belo Horizonte, 2020.

SANTOS, Klayto José Gonçalves ; SANTOS, Aracele Pinheiro Pales ; COSTA, Miliane Alves; MONTESINOS, Iván Salamanca. Biotecnologias reprodutivas e fisiologia reprodutiva da fêmea bovina – conhecimento para o sucesso. **PUBVET**, V. 6, N. 36. Londrina, 2012.

SAPIN, Carolina Da Fonseca et al. Patologias do sistema genital feminino de cães e gatos. **Science and animal health**, V.5, Pelotas, 2017.

SILVA SOARES, Nathália Caroline. **Relatório de estágio curricular clínica e cirurgia de pequenos animais**. Orientador: Wesley José de Souza, 2019. 33(f). Monografia. Conclusão do curso de medicina veterinária – Centro Veterinário Valéria Reis. Urutaí, Goiás, 2019. Versão eletrônica.

SOARES, Paulo Henrique Araújo; JUNQUEIRA, Fabiano Santos. Particularidades reprodutivas da fêmea bovina: Revisão. **PUBVET**, v.13, n.1. Formiga, MG, 2019.

SOLANO SHOCK, Norelli Yanet. **Frecuencia de casos de piometría atendida en la clínica de animales menores de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM durante el período 2009 – 2013**. Orientador: Jacqueline Cahua Ugarte, 2017. 50(f).

TEIXEIRA, Braúliano Araújo. **Diagnóstico de infecções uterina em bovinos utilizando vaginoscopia e ultrassonografia**. Orientador: prof. Dr. Miller Pereira Palhão, 2017. 40(f.). Dissertação, mestrado – Universidade José Do Rosário Vellano. Alfenas-MG, 2017. Versão eletrônica.

TORRES, Stéfani Dos Santos; CASTRO, Nídia Ledur Müller; SILVA, Rúbia Schallenberger. Estudo retrospectivo de alterações hematológicas em casos de piometra canina. **XXIV Seminário Interinstitucional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, Cruz Alta-RS. 2019.

VALLE, Ezequiel Rodrigues do. O ciclo estral de bovinos e métodos de controle. **EMBRAPA-CNPGC**, Campo Grande – MS, 1991. Disponível em: <http://old.cnpgcc.embrapa.br/publicacoes/doc/doc48/index.html>. Acesso em: 10 outubro 2020.

VARGAS, Patricia Silveira. **Análise anatomopatológica de lesões encontradas em úteros de cadelas (Canis lúpus familiaris) e mulheres (Homo sapiens)**. Orientadora: Eliza Simone Viégas Sallis. Dissertação, Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas.

VEIGA, Gisele Almeida Lima. **Caracterização das alterações hemodinâmicas do útero em cadelas com hiperplasia endometrial cística-piometra**. Orientadora: prof. Dra. Camila Infantsi Vannucchi. Tese, Pós Graduação Em Reprodução Animal – Faculdade De Medicina Veterinária E Zootecnia, Universidade De São Paulo. São Paulo, 2012. Versão eletrônica.

VEIGA, Gisele Almeida Lima; *et al.*. Abordagem diagnóstica e terapêutica das principais afecções uterinas em cadelas. **Revista Portuguesa de ciências**, v.108 (585-586) p. 9-16, São Paulo, 2013.

VIEIRA, Allanderson Vinicius De Jesus. **Ultrassonografia modo doppler na reprodução de vacas de corte**. Orientadora: Prof. Dra. Larissa Pires Barbosa, 2019. 42(f.). Monografia. Curso Submetido Ao Colegiado De Graduação de Medicina Veterinária do Centro de Ciência Agrárias, Ambientais e Biológicas – Universidade Federal. Recôncavo da Bahia, 2019. Versão eletrônica.

# PESQUISA DE INFECÇÃO POR *Trypanossoma vivax* EM BOVINOS LEITEIROS NA REGIÃO DE RAUL SOARES - MG.

**Acadêmicos:** Breno Gomes Dos Santos e Talysson Lucas Ferreira Evangelista  
**Orientador:** Ítalo Stoupa Vieira

## RESUMO

Tripanossomíases são doenças provocadas por protozoários patogênicos do gênero *Trypanosoma* que têm uma extensa distribuição e importância econômica, principalmente em áreas ocupadas pelo seu vetor biológico. Nos bovinos leiteiros, a tripanossomíase provoca a redução da produção do leite, aborto e mortalidade de animais adultos. O primeiro caso descrito de infecção pelo protozoário em Minas Gerais ocorreu num rebanho leiteiro. Outra forma de infecção pode ser pela contaminação de membranas mucosas do hospedeiro ou, acidentalmente, por mal uso de objetos como agulhas. Este trabalho tem como objetivo a avaliação da infecção do protozoário *Trypanossoma vivax* em bovinos de uma propriedade leiteira na microrregião de Raul Soares - MG e comparação dos sinais clínicos apresentados por 10 vacas. O método de diagnóstico utilizado foi coleta de sangue, esfregaço, avaliação microscópica, exames laboratoriais, LAMP PCR para tentativa de identificação do protozoário e sinais clínicos apresentados pelos animais. Nos exames laboratoriais realizados, não foi identificada a presença do parasita. Entretanto as vacas apresentaram alterações compatíveis com a tripanossomíase.

**PALAVRAS CHAVES:** *Trypanosoma vivax*, bovinos, protozoário, tripanossomíase; tripanossomose.

**LINHA DE PESQUISA:** Diagnóstico das parasitoses.

## 1. INTRODUÇÃO

Em 2017, o número de bovinos no Brasil chegou a apresentar 214,9 milhões de cabeças, observando uma diminuição de 1,5% em comparação ao ano de anterior. À época, o Centro-Oeste destacou-se como campeão nacional, com um total de 34,5% dos animais, sendo Mato Grosso o estado que sobressaiu dentre os demais (13,8% do rebanho efetivo nacional) (IBGE, 2018).

A tripanossomíase é uma doença causada por um protozoário (BATISTA *et al.*, 2008). Seu impacto econômico em propriedades rurais de bovinocultura de leite é expressivo, ainda não sendo possível uma real estimativa do valor das perdas econômicas (ABRÃO *et al.*, 2009). Sabe-se que a intensificação da criação, muito utilizada nas propriedades rurais, favorece a ocorrência de diversas patologias, inclusive a tripanossomose (PEREIRA *et al.*, 2018), acarretando redução da produção do leite, aborto e mortalidade de animais adultos (ABRÃO *et al.*, 2009).

Os *Trypanosoma* de maior importância econômica encontrados na América do Sul são: *Trypanosoma vivax*, *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma cruzi*. As diversas espécies de *Trypanosoma* podem diferir no tamanho e na forma do corpo, na posição do núcleo e cinetoplasto, bem como no grau do desenvolvimento da membrana ondulante e flagelo (LINHARES *et al.*, 2006).

A doença atinge uma variedade extensa de espécies de ungulados, o que leva a números excessivos de animais infectados. A infecção ocorre quando moscas hematófagas — especialmente do gênero *Tabanus spp*, *Stomoxys calcitrans* e a mosca Tsé-Tsé — picam o hospedeiro. Outra forma de infecção pode ser pela contaminação de membranas mucosas do hospedeiro ou acidentalmente por mal uso de objetos como agulhas (EMBRAPA, 2002; LOPES *et al.*, 2018). O ciclo acontece de maneira simples, visto que tem início a partir da entrada de metatritpanosomas no organismo (EMBRAPA, 2002).

Tripanossomíases são doenças provocadas por protozoários patogênicos do gênero *Trypanosoma* que têm uma extensa distribuição e importância econômica na África, principalmente em áreas ocupadas pelo seu vetor biológico, a mosca tsé-tsé (BATISTA *et al.*, 2008).

Na América do Sul, relatos de tripanossomíases que foram demonstrados por animais domésticos tem por agentes *T. theileri*, *T. cruzi*, *T. evansi*, *T. equiperdum*, e *T. vivax*, sendo descritos os três últimos como os mais patogênicos e de maior importância veterinária (ABRÃO *et al.*, 2009).

Foram observados alguns surtos no Amapá, Mato Grosso do Sul, Tocantins, e Minas Gerais. Os pecuaristas, por não possuírem conhecimento sobre a doença e, muitas vezes, resistirem à busca de um bom atendimento veterinário, acabam instituindo tratamentos inadequados, com medicamentos inapropriados que podem mascarar a doença (PEREIRA *et al.*, 2018).

As pesquisas sobre *Trypanosoma vivax* na América do Sul foram realizadas principalmente em áreas endêmicas, por exemplo, no Norte brasileiro e Pantanal. O primeiro caso descrito de infecção pelo protozoário em Minas gerais ocorreu num rebanho leiteiro (ABRÃO *et al.*, 2009).

Esse trabalho tem como objetivo a pesquisa de infecção por *Trypanosoma vivax* em bovinos leiteiros na região de Raul Soares (MG) por meio de exames laboratoriais e comparação dos sinais clínicos apresentados pelos bovinos.

## **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1. *Trypanosoma vivax***

*Trypanosoma vivax* é um protozoário flagelado, considerado de grande importância devido aos consideráveis impactos na economia, especialmente na bovinocultura. Apresentando, portanto, altos índices de morbidade e mortalidade, influenciando na produção leiteira e causando transtornos reprodutivos e número de abortos elevados (LOPES *et al.*, 2018).

Dentre estes parasitas de importância na pecuária, podemos citar apenas as espécies que habitam a seção salivária, sendo eles, *Trypanosoma vivax*, *T.equiperdum* e *T.evansi*. Essas espécies são encontradas em toda região da América do Sul (MOURA, *et al.*, 2009).

O *Trypanosoma vivax* comparado aos demais protozoários merece uma atenção maior. Pesquisas o apontam como um causador de danos reprodutivos não apenas em bovinos, mas também ovinos e caprinos (ABRÃO *et al.*, 2009).

A incidência de tripanossomose no Brasil tem forte ligação ao uso impróprio de agulhas para aplicação de fármaco. Um exemplo mais evidente é o uso da ocitocina que age como facilitador para ejeção do leite de vacas mestiças e vacas que apresentam dificuldade em estimular as glândulas mamárias (PEREIRA *et al.*, 2018).

Segundo Batista *et al.* (2017), as vacas infectadas por *Trypanosoma vivax* apresentaram alta parasitemia, hipertermia, anorexia, diminuição na produção de leite e redução do hematócrito. (BATISTA, *et al.*, 2017).

### **2.2. ETIOLOGIA**

O protozoário do *Trypanosoma vivax* pertence à família Trypanosomatidae (HOARE, 2013). O *T. vivax* é um protozoário flagelado. As espécies *T.vivax* e *T.evansi* têm grande relevância para pecuária brasileira. *T. vivax* é o principal causador da tripanossomíase nos ruminantes, já o *T.evansi* acomete principalmente equinos e é popularmente conhecido como mal das cadeiras. *T.evansi* pode acometer ruminantes, mas de forma pacífica (REIS, 2017).

Seu tamanho total varia entre 21 e 25,4 µm, apresentando um flagelo livre. Seu cinetoplasto é maior e com aspecto de meia lua, é instalado na porção de seu

término ou subterminal, tornando-se sua colocação em um fato sobre a identificação morfológica da sua espécie. (REIS, 2017).

### **2.3. EPIDEMIOLOGIA**

O *Trypanossoma vivax* foi registrado pela primeira vez no Brasil no ano de 1972, no estado do Pará, infectando búfalos da região. Também foram relatados alguns casos no estado de Minas Gerais (GERMANO, *et al.*, 2017).

O gênero *Trypanosoma* é composto por parasitas digenéticos cujo hospedeiro final é, normalmente, um animal vertebrado. Vários outros hematófagos podem representar os hospedeiros intermediários ou vetores, transmitindo a infecção para hospedeiros vertebrados (MOURA, *et al.*, 2009).

O *Trypanosoma* demonstra uma organização cosmopolita. É um fator de risco na economia da África e em territórios (regiões tropicais e subtropicais) onde se encontra seu vetor biológico, a mosca tsé-tsé. Nos últimos anos, alguns registros de surto por *T. vivax* aconteceram em vários estados do Brasil, como Amapá, Mato Grosso do Sul, Tocantins e Minas Gerais (PEREIRA, *et al.*, 2018).

As razões dos surtos foram por diversos fatores, de modo que tabanídeos *Stomoxys* spp. são os principais transmissores da doença. No território semiárido do Nordeste, a doença se apresenta com frequência em tempos de prolongadas secas e altas temperaturas (BATISTA, *et al.*, 2008).

Nas regiões que não são consideradas endêmicas, como, por exemplo, a região semiárida do Nordeste do Brasil, os surtos de *T. vivax* podem ocorrer durante a estação de chuva, quando ocorre o aumento da população de vetores (SOUZA, *et al.*, 2019).

O surto da *T. vivax* vem acontecendo em diversas áreas. Essa disseminação tem ocasionado preocupação, pois os pecuaristas não têm conhecimento da enfermidade em suas regiões e das formas de transmissão da doença. Assim, em muitos casos, por desconhecerem o tratamento adequado, não realizam medidas de prevenção, confundem os sinais da doença com outras enfermidades e tratam os animais inadequadamente (PEREIRA, *et al.*, 2018).

### **2.4. PATOGÊNESE**

No entanto, o efeito dessa infecção irá variar de hospedeiro devido o estado clínico que o animal apresenta. Muitas das vezes o animal pode estabelecer um

equilíbrio e permanecer normal por um longo período com a infecção sem demonstrar nenhum sinal clínico (SCHENK, *et al.*, 2001).

A transmissão da doença acontece pela picada de insetos hematófagos, sobretudo tabanídeos, como exemplo as mutucas (*Tabanus* spp.), *Stomoxys* spp. (conhecida popularmente como moscas de estábulos) ou por formas iatrogênicas (LOPES *et al.*, 2018).

O *T. vivax* é africano, passado adiante pelas moscas Tsé-Tsé. Os componentes sanguíneos do hospedeiro que foi infectado podem ser ingeridos pelo inseto; no esôfago e faringe destes, podem se transformar em formas epimastigotas. Após passar 24 horas, as formas epimastigotas mudam transportando-se em direção ao canal alimentar ocasionando, assim, a multiplicação intensivamente. Depois, em direção à hipofaringe, ocorre uma migração que se transformam em formas tripomastigotas, depois em formas infectantes que também podem ser chamadas de “metatripanosomas” (EMBRAPA, 2002).

## **2.5. ACHADOS CLÍNICOS**

Sinais clínicos da doença: perda de peso, aborto, ataxia e, eventualmente, morte. Nos machos, acontecem mudanças de ausência de libido, retardamento da puberdade e má qualidade do sêmen. Já nas fêmeas, é possível ocorrer anestro, que pode ser temporário ou permanente, ciclos estrais anormais, morte fetal, distocia, abortamento, morte neonatal, além de efeitos patogênicos no feto e no recém-nascido (ABRÃO, *et al.*, 2009).

Segundo Silva *et al.* (2009), bovinos com alguns sintomas nervosos que vieram a óbito, no exame clínico, apresentaram sinais clínicos inespecíficos, como hiporexia, hipertermia, fraqueza, desidratação, mucosas ictéricas, secreção vaginal, agressividade, atrofia muscular dos membros pélvicos, incoordenação motora, dificuldade em levantar-se e manter-se em pé, adotando a posição de “cão sentado”. Além disso, observa-se cegueira transitória e aborto. Os sinais nervosos se identificam por incoordenação motora, salivação, opistótono, nistagno, tetania e bruxismo (BATISTA, *et al.*, 2008).

*T. vivax* atinge de forma extensa os mamíferos domésticos, essencialmente equinos, bovinos e animais silvestres. Bovinos podem auxiliar como um depósito da infecção do parasita. A análise também pode ser feita detectando o trypanosoma em

seu sangue, o recolhimento do sangue é necessário, pois, nesse exame, ele se encontra bastante ativo (GARCIA, *et al.*, 2009).

No continente africano observa-se que algumas raças de bovinos são resistentes a *T.vivax*. Esse acontecimento é chamado de tripanotolerância e apresenta origem ambiental e genética, em que também pode ocorrer uma variação de estado nutricional, idade, condição de estresse, cepas e infecções envolvidas (SCHENK, *et al.*, 2001).

## **2.6. DIAGNÓSTICO**

O diagnóstico pode ser auxiliado pelas manifestações clínicas. Na fase aguda, no princípio da infecção, temos avanços de ondas parasitêmicas ou no auge da parasitemia. Quando essas ondas ficarem no auge, é mais fácil fazer a observação do parasita no esfregaço sanguíneo. Já na fase crônica, após alguns dias de infecção, a parasitemia cai. Com isso, podem-se perceber duas opções de interpretação: o organismo acabando com o parasita, fazendo uma destruição dele, fazendo também com que ele saia da circulação sanguínea migrando com destino a outros lugares do organismo (CAMARGO, 2021).

O diagnóstico direto também pode ser executado pelos métodos: “aspirado” do linfonodo, gota espessa, lâmina delgada ou, além desses, pelo recurso do micro hematócrito ou técnica de Wood, fundamentado em observação direta dos aspectos sanguíneos, relevadas em preparações coradas e examinadas mediante microscopia ótica (LINHARES *et al.*, 2006).

Esse é um meio executado por esfregaços sanguíneos corados com Giemsa e logo depois é examinado a partir da microscopia de luz. (SILVA *et al.*, 2002).

Segundo Linhares *et al.* (2006), os exames microscópicos dos esfregaços sanguíneos de animais com sinais clínicos mostraram a presença de inúmeras formas tripomastigotas sanguíneas, obtendo, assim, um diagnóstico completo.

O RIFI é um meio de diagnóstico que comprova que os animais negativos dos exames parasitológicos eram realmente negativos. Isso ocorre devido à fase crônica. As técnicas parasitológicas realizadas apresentarem baixa sensibilidade devido à pequena taxa de parasitemia. A técnica sorológica é um importante aliado para interpretação e compressão dos exames parasitológicos, sendo essencial a sua associação de técnicas (GERMANO, *et al.*, 2018).

A L-prolina é considerada fonte de carbono com destino de carbono para tripanossomas. Além de experiência mostrando o cultivo *in vitro* de *T.vivax*, houve o desenvolvimento de epimastigota e cultura na medida em que foi aumentada a concentração da L-PROLINA no centro. Assim, apresentou-se a prolina que pode ser usada como peça-chave para seu desenvolvimento *in vitro*. Verificou-se, portanto, que 4 mm era a centralização mais indicada para desenvolvimento do aminoácido e que modificações apresentadas nas concentrações da glicose não vão afetar o desenvolvimento do parasita (PINHO, 2018).

O exame é muito sensível pode chegar a identificar pequenas quantidades. O teste PCR é feito com amostra de sangue levada ao laboratório para poder identificar o agente causador (MADRUGA, *et al.*, 2006).

Quanto à precisão do PCR, se comparada com o resto dos exames parasitológicos, vai da deficiência e qualidade do DNA retirado, para padronizar uma reação no PCR. O PCR foi capaz de revelar que o DNA equivale ao genoma de apenas um parasita para diagnosticar um percentual que justifica uma grande infecção, igual uma sorologia detecta um antígeno. A qualidade do gene para fazer leitura dos antígenos solúveis presos, pela baixa percepção apresentado, o PCR detectado antes o DNA afastado da América latina, igualando o gene preso da *T. vivax* da África (MADRUGA, *et al.*, 2006).

## 2.7. TRATAMENTO

O tratamento antecipado nos primeiros sinais da patologia é importantíssimo, pois a transmissão é causada pela picada dos insetos e também por agulhas infectadas. (PEREIRA *et al.*, 2018). Consiste na utilização de diminazeno (Ganaseg, Novastis), na dosagem de 10 mg/Kg de peso corporal. Alguns animais readquiriram as condições clínicas, enquanto outros não respondem ao tratamento (LINHARES, *et al.*, 2006). Outros fármacos podem ser utilizados no tratamento como o cloreto de isometamidium.

Tratamento individual: pode ser adotado em casos no qual não há nenhuma evidência de que o rebanho encontra-se infectado. Pode ser sugerido para os animais que vem de rebanhos diferentes e animais de um grande valor que estão infectados. Mesmo após tratados, os animais ficarão em isolamento, sem se aproximar do resto do rebanho (CAMARGO, 2021).

## **2.8. CONTROLE E PREVENÇÃO**

O amparo da veterinária tem um papel importante na saúde do rebanho, entretanto, o não amparo pelo veterinário poderá ocasionar vários outros tipos de transtorno no rebanho (SUARÉZ *et al.*, 2009).

São medidas recomendadas o recolhimento de materiais como agulhas e seringas e a contenção do fluxo elevado de entrada e saída de animais, pelo fato de ele poderem estar infectados e transmitir a enfermidade para os demais animais. É importante também manter os bovinos e os demais animais vermifugados (ABRAÃO *et al.*, 2009).

Mesmo não havendo estudo adequado na região, os relatos da patologia demonstram um aumento dos casos e as perdas econômicas chegam a reduzir o lucro dos proprietários pela metade (SILVA *et al.*, 2009).

As precauções na entrada de novos animais e controle sanitário vão deixar os rebanhos mais protegidos e livres de infecção. Isso é de essencial valor, uma vez que os animais que se encontram assintomáticos podem estar disseminando a doença para os animais sadios, sendo assim uma das maiores formas de transmissão (PINHO, 2018).

É importante ressaltar que as diversidades de drogas a pronto uso para o tratamento para tripanossomose são escassas, tendo uma estimativa de que aproximadamente 60 anos que não são produzidas (criadas), levando então a um cenário de crescimento de resistências às drogas do presente momento. Na atualidade, os fármacos mais eficazes estão sendo: diaceturato de diminazeno e cloreto de isometamidium. Para métodos de controle da enfermidade, é fundamental controlar moscas hematófagas e evitar uso compartilhado de agulhas, um exemplo é o uso de ocitocina em vacas leiteiras, um problema que pode ser solucionado com o uso dos bezerros ao pé da vaca, evitando assim usa de fármacos para ejeção do leite (PINHO, 2018).

## **2.9. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E ZONÓTICA**

Nos últimos anos, vêm-se analisando protocolos de surto da doença ocasionada por *Trypanosoma vivax* e observa-se aumento do número de casos por diversas áreas dos estados do Brasil. Tal observação foi devida ao aumento de

óbitos de animais infectados, o que é preocupante devido às perdas econômicas, que vão desde perda de peso, abortos, problemas reprodutivos, redução da produção de carne e leite a custos com medicamentos (PEREIRA *et al.*, 2018).

O tratamento é simples, mas tem surgido *T. vivax* resistentes a drogas e fármacos tripanocidas regulamentados no Brasil (CADIOLI, *et al.*, 2015).

As pesquisas que ocorreram há pouco tempo dão indícios que outras espécies de tripanossoma possam manter-se mais resistentes, acometendo animais e humanos, um exemplo é *T. theileri* que vem sendo analisado ocasionando infecções e mostrando alguns de seus sinais clínicos em bovinos (LANEVSCHI-PIETERSMA; OGUNREMI; DESROCHERS, 2004; SOOD *et al.*, 2011).

### 3. METODOLOGIA

Foi realizada uma pesquisa inicial de propriedades rurais que possuem criação de bovinocultura leiteira, independente do sistema de produção, na microrregião de Raul Soares, Minas Gerais. A partir disso, foi selecionada uma propriedade em que já houve relatos de animais positivos para *T.vivax*. A avaliação dos animais foi feita com prévia autorização dos proprietários. Naquela propriedade, as vacas são criadas confinadas em instalação do tipo Compost Barn (Figura 1).



Figura 1: Instalações do Compost Barn – Fazenda Santa Rita, Raul Soares (MG).

No dia 14 de abril de 2021, foi feita a coleta de dados na fazenda Santa Rita, localizada em Raul Soares, Zona da Mata Mineira. Acessando a veia mamária, foi feita a coleta do sangue de 10 vacas lactantes da raça girolando com idade de aproximadamente 4 a 5 anos. Segundo o proprietário, os dez animais da fazenda

Santa Rita apresentavam algumas alterações compatíveis com a doença tripanossomose, sendo elas, aborto, perda de peso e queda na produção leiteira.

Inicialmente foram coletadas informações como idade, raça, sexo, histórico de produção, clínico e reprodutivo, manejo individual, alterações posturais, alterações locomotoras e parâmetros fisiológicos de cada animal. Dentre os parâmetros fisiológicos, foram avaliados frequência cardíaca (FC), por meio de auscultação utilizando estetoscópio posicionado no quinto espaço intercostal esquerdo onde foram avaliados os batimentos por minuto (bpm); frequência respiratória (FR), utilizando estetoscópio posicionado em região pulmonar, avaliando as respirações por minuto (rpm); temperatura (°C) retal utilizando um termômetro digital posicionado na ampola retal; movimentos ruminais, utilizando estetoscópio posicionado na região de flanco esquerdo, auscultando os sons ruminais durante 5 minutos; coloração de mucosa ocular, classificadas em hipocorada, normocorada, hipercorada, ictérica e cianótica; escore corporal, classificado de 1 a 5 (Machado *et al.*, 2008). Em acréscimo, também foram coletadas informações acerca do manejo geral da propriedade, como horários de ordenha, alimentação, média de produção de leite e alimentação fornecida.

Dez vacas da propriedade selecionada tiveram o sangue coletado (pelo acesso à veia mamária) em tubo contendo anticoagulante EDTA, homogeneizados e armazenados em caixa térmica contendo suporte para os tubos e gelo reciclável. Na Figura 2, são mostrados registros do dia da coleta na Fazenda Santa Rita. As amostras foram imediatamente encaminhadas ao laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Faculdade Vértice em Matipó, onde foram realizados esfregaços sanguíneos diretos com o sangue homogeneizado. Após as amostras chegarem ao hospital, foram realizados esfregaços sanguíneos corados após secagem com o corante tipo Romanowsky e avaliado em microscopia óptica (microscópio marca Nikon E200) em aumento de 40X, a fim de identificar *Trypanossoma vivax* na sua forma tripomastigota englobando as hemácias.

O proprietário tinha realizado o exame LAMP PCR para possível identificação de *Trypanossoma vivax* nos 10 animais.

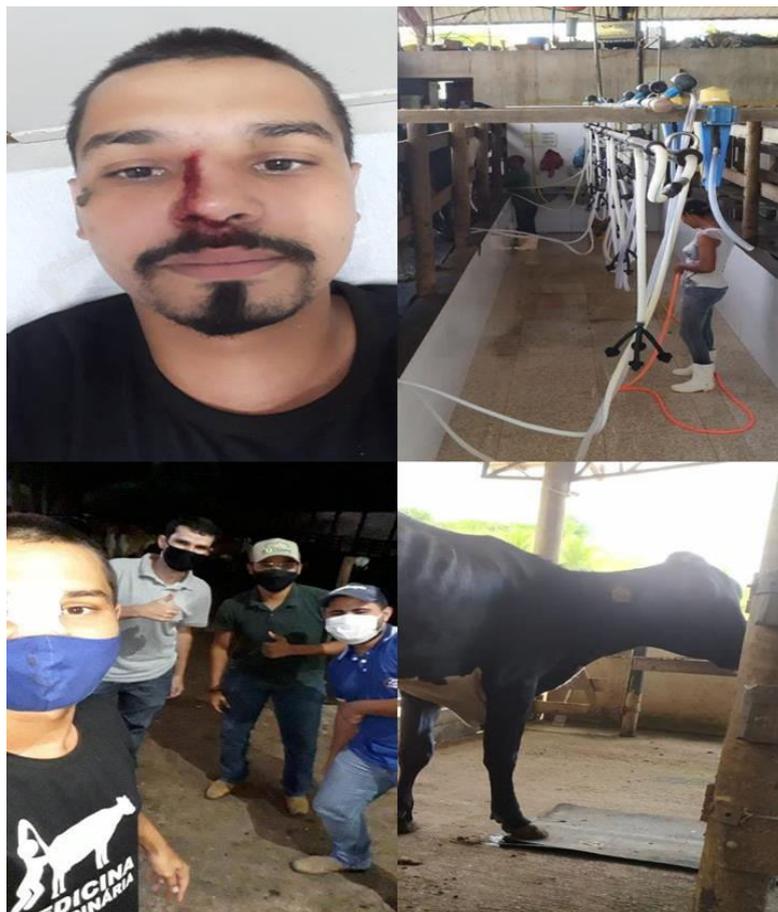


Figura 2: Registros do dia da coleta na Fazenda Santa Rita.

#### 4. RESULTADO E DISCUSSÃO

As vacas da propriedade citada são ordenhadas 2 vezes ao dia (Figura 3), no horário de 06:00 e 14:00, divididas em lotes e alimentadas à base de silagem de milho à vontade no cocho e concentrado de acordo com a produção diária de leite (Figura 4).



Figura 3: Manejo de ordenha – Fazenda Santa Rita, Raul Soares (MG).



Figura 4: Manejo nutricional – Fazenda Santa Rita, Raul Soares (MG).

Os dez animais da fazenda Santa Rita, microrregião de Raul Soares, apresentavam algumas alterações compatíveis com a doença tripanossomose (*T. vivax*), sendo elas aborto, perda de peso e queda na produção, como cita ABRÃO *et al.* (2009).

Os parâmetros médios observados no exame clínico das 10 vacas foram:

- FC: 40-80;
- FR: 20-40;
- TEMP: 37,5-38,5°C;
- Mucosas normocoradas;
- Escore de Condição Corporal (ECC): 2,25;
- Movimentos ruminais: 7-14 movimentos em 5 minutos.

De acordo com o relato do proprietário, a produção de leite média destes animais caiu pela metade (de 20-30 Kg/dia para 10-15 Kg/dia). Portanto, os parâmetros e as alterações considerados anormais foram o ECC baixo (Figura 5), a queda na produção de leite e os abortos.



Figura 5: Vaca com baixo Escore de Condição Corporal (ECC) – Fazenda Santa Rita, Raul Soares (MG).

Depois de realizados os exames de esfregaço, não foram identificados protozoários (Tabela 1). No exame LAMP PCR (Tabela 1), realizado previamente, também não foi identificado *T.vivax*. Tais resultados confirmam a dificuldade em se diagnosticar o protozoário tanto pela avaliação microscópica quanto pelo LAMP PCR. Conforme Silva *et al.* (2002) a técnica microhematocrito de woo é a mais sensível quando comparada ao esfregaço sanguíneo e PCR.

Tabela 1: Resultado dos exames Esfregaço Sanguíneo e LAMP PCR para identificação de *Trypanossoma vivax* em 10 vacas da Fazenda Santa Rita, localizada em Raul Soares (MG).

Vaca	Esfregaço Sanguíneo	LAMP PCR
1	Negativo	Negativo
2	Negativo	Negativo
3	Negativo	Negativo
4	Negativo	Negativo
5	Negativo	Negativo
6	Negativo	Negativo
7	Negativo	Negativo
8	Negativo	Negativo
9	Negativo	Negativo
10	Negativo	Negativo

Em caso de resultados positivos, significa que o animal apresenta o parasita na amostra pesquisada. De acordo com a Tabela 1, as 10 vacas apresentaram resultados negativos. Alguns fatores podem interferir para a não detecção do parasita nas amostras pesquisadas. Dentre esses fatores estão: (1) Estágio da doença (o animal pode apresentar uma quantidade de parasita no sangue que seja insuficiente para ser detectada pela técnica); (2) Qualidade da amostra coletada (a amostra de sangue total enviada deve ser fresca, com o anticoagulante EDTA e conservada em baixas temperaturas); (3) Uso de medicamentos, algumas vezes, também pode interferir nos resultados (SILVA *et al.*, 2002).

A técnica de PCR utiliza oligonucleotídeos iniciadores para cada parasita especificamente, sempre atualizados de acordo com a literatura científica renomada. Os hemoparasitas, em geral, possuem a característica de ficarem circulantes no sangue durante a fase aguda da doença e, posteriormente, tendem a se localizar em órgãos linfóides. Em caso de resultados negativos, é o Médico Veterinário quem tem autoridade para descartar a doença ou, caso considere necessário, de acordo com os sinais clínicos e anamnese realizado por ele, considerar realizar técnicas complementares como os exames sorológicos. (SILVA *et al.*, 2002).

Mesmo com o resultado negativo dos exames, foi realizado tratamento clínico e sanitário imediato, devido ao fato de o rebanho apresentar sinais clínicos característicos da doença e serem transportados de uma região endêmica pelo surto de *T. vivax* (PEREIRA *et al.*, 2018).

O tratamento inicial instituído foi à base cloreto de isometamidium e observou-se a orientação do manejo sanitário de não reutilizar as agulhas, fazer os descartes corretamente, lavar o curral todos os dias depois das ordenhas, utilização de brincos repelentes para diminuir as moscas hematófagas, tendo controle dos ectoparasitas. Uma das formas de transmissão da doença é pela picada das moscas em animais infectados para animais não infectados (SUARÉZ, *et al.*, 2009).

Devido à possibilidade de o rebanho estar contaminado e não apresentar um diagnóstico preciso, o proprietário encaminhou todo o rebanho para o abate.

## 5. CONCLUSÃO

Os resultados encontrados demonstram que as técnicas utilizadas de esfregaço sanguíneo e PCR não foram conclusivas para fins de diagnósticos da tripanossomíase. Com base no exposto, observou-se a importância do diagnóstico

precoce de animais que entram e saem da propriedade e controle do manejo e do rebanho. Portanto, todos os proprietários de vacas leiteiras devem ter o acompanhamento de um médico veterinário, para que este o auxilie no controle sanitário do rebanho, evitando futuros prejuízos.

## REFERÊNCIAS

ABRAÃO D.C.; CARVALHO A. U; FILHO E.J.F.; SATURNINO H.M.; RIBEIRA M.F.B. **Impacto econômico usado por *Trypanoma vivax* em rebanho bovino leiteiro no estado de Minas Gerais**, Pesquisa ciência animal Brasileira. n.2, 2009.

BATISTA J.S; BEZERRA F.S.B; CARVALHO J.R.G; ROSADO NETO A.M; Petri A.A; TEIXEIRA M.M.G. **Aspectos clínicos, epidemiológicos patologias da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* no Paraíba**. Pesquisa Veterinária Brasil, Paraíba. v.28, n.1, p. 63-69, 2008.

CAMARGO, T. **Prodap; Tripanossomose bovina: O que é, transmissão, diagnóstico e tratamento**. 2021. Disponível em: <https://prodap.com.br/pt/blog/tripanossomose-bovina-sinais-clinicos-tratamento-transmissao-e-diagnostico>

CARDIOLI, *et al.*, **Detecção de *Trypanosoma vivax* usando PCR e LAMP durante períodos aparasitêmicos** - Parasitologia Veterinária volume 214, edição 1-2 página 174-177 [s.l.] – 2015.

Embrapa / “**Profilaxia e controle do mal de cadeiras em animais domésticos.**” (Corumbá-MS) N 10 (2004) Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/812057/1/DOC66.pdf>.

EMBRAPA.EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. ***Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax* biologia, diagnostico e controle**. (Corumbá-MS (2002) Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/810940/1/Livro015.pdf>.

GARCIA, *et al.* **CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Trypanosoma vivax* EM OVELHAS NATURALMENTE INFECTADAS EM DOIS CHAPÉUS DOS MUNICÍPIOS DE SÃO FERNANDO E BIRUACA, ESTADO DE APURE, VENEZUELA**. Rev. Cient. (Maracaibo) vol.19 no.3 Maracaibo jun. 2009.

GERMANO, P. H. V. *et al.* **Tripanossomose bovina: revisão**. PUBVET v.12, n.8, a144, p.1-6, Ago., Patos de Minas – MG. 2018.

GERMANO, P. H.V. *et al.* **Prevalência de *Trypanosoma vivax* em bovinos no município de Patos de Minas/MG**. Rev. Acad. Ciênc. Anim. 2017;15(Supl.2):S433-

434.doi:10.7213/academica.15.S02.2017.216.Licenciado sob uma Licença Creative Commons.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/22648-ppm-2017-rebanho-bovino-predomina-no-centro-oeste-e-mato-grosso-lidera-entre-os-estados#:~:text=Em%202017%2C%20o%20efetivo%20de,8%25%20do%20efetivo%20nacional>). Acesso em: 30 de set,2020.

LINHARES G.F.C; FILHOS F.C.D; FERNANDES P.G; DUARTE S.C. ***Trypanossomia* em bovinos no município de Formoso do Araguaia**, Tocantins (Goiás), v.7 n.4, p. 455-460 - (2006).

LOPES S.T.P.; PRADO B.S.; MARTINS G.H.C.; BESERRA H.C.A.; FILHO M.A.C.S.; EVAGELISTA L.S.M.; CARDO J.F.S.; MINEIRO A.L.B.; SOUZA J.A.T.; ***Trypanosoma vivax* em bovino leiteiro**, Piauí. 2018.

MOURA, D. M. *et al.* **PERFIL BIOQUÍMICO DE BOVINOS NATURALMENTE INFECTADOS POR *Trypanosoma vivax***. Ciência Animal Brasileira – Suplemento 1, 2009 – Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria. Uberaba, 2009.

PEREIRA H.D.; SIMÕES S.V.D.; SOUZA F.A.L.; SILVEIRA J.A.G.; RIBEIRO M.F.B.; CADIOLI F.A.; SAMPAIO P.H. **Aspectos clínicos, epidemiológicos e diagnóstico da infecção por *Trypanosoma Vivax*, em rebanho bovino no estado Maranhão**. Pesquisa veterinária brasileira, Paraíba. v.38 n 5 p 896-901 – 2018.

REIS, M.O; ***Trypanosoma vivax* EM BOVINOS DE MINAS GERAIS: ACHADOS EPIDEMIOLÓGICOS, MORFOLÓGICOS E MOLECULARES**. Universidade Federal de Lavras. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. LAVRAS – MG – 2017.

SCHENCK, M.A. M. *et al.* **Avaliação clínico-laboratorial de bovinos Nelore infectados experimentalmente com *Trypanosoma vivax***. Pesq. Vet. Bras. 21(4):157-161, out./dez. 2001 [s.l.].

SILVA R.A.M.S; SEIDL, A; RAMIREZ, L; DAVILA ,A.M.R. / ***Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax* - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA , PECUARIA E ABASTECIMENTO**. Corumbá, MS 2002.

SILVA A.S; COSTA M.M; POLENZ M.F; POLENZ C.H; TEIXEIRA M.M.G; LOPES S.T.A. **“Primeiro registro de *Trypanosoma vivax* em bovinos no estado do Rio do Sul, Brasil.”** (Rio Grande do Sul) v 39 n 8 p 2550-2554 (2009).

SOOD, N. K.; SINGLA, L. D.; SINGH, R. S. *et al.* **Association of *Trypanosoma theileri* with peritonitis in a pregnant cross-bred cow: a case report**. Veterinarni Medicina, v. 56, n. 2, p. 82–84, 2011.

PINHO, A.A; **AVALIAÇÃO DA AÇÃO DE DESINFETANTES E CONSERVANTES SOBRE A VIABILIDADE DE *Trypanosoma***

***vivax* (Ziemann, 1905) E VALIDAÇÃO DA REAÇÃO DE IMUNOFLOURESCÊNCIA INDIRETA – RIFI COMO MÉTODO DE DIAGNÓSTICO.** Belo Horizonte- MG, 2018.

MADRUGA *et al*; **Comparação de métodos de extração do DNA e avaliação de reações da polimerase em cadeia (PCR) para o diagnóstico de *Trypanosoma (Dutonella) vivax***- CIRCULAR TÉCNICA 34. *Gampo Grande –MS ,2006.*

REIS.O.M; **Trypanosoma vivax EM BOVINOS DE MINAS GERAIS: ACHADOS EPIDEMIOLÓGICOS, MORFOLÓGICOS E MOLECULARES.** Universidade Federal de Lavras-MG. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. LAVRAS – MG 2017.

# INFLUÊNCIA DA CRONOBIOLOGIA NA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS DO LEITE DE VACAS

**Acadêmicas:** Etelvina Maria Louback Almeida e Kelly Dhayane Abrantes Lima

**Orientador:** Ítalo Stoupa Vieira

## RESUMO

O leite possui alto valor nutritivo, além de ser um dos produtos de origem animal que mais contribui para a economia brasileira, gerando emprego e renda para a população. A capacidade cronobiológica permite que os organismos antecipem e alterem seu funcionamento interno de acordo com hábitos de vida e mediante a presença de algum patógeno. A mastite é uma doença inflamatória caracterizada por alterações no leite e no úbere, promovendo um aumento de leucócitos na contagem de células somáticas (CCS) no leite. O conhecimento sobre os fatores que predispõem vacas ao aumento da CCS é importante para garantir a qualidade do leite consumido pela população. Para a execução desta pesquisa de caráter descritivo quantitativo, foram coletados dados da CCS realizada, individualmente, em 40 vacas com diferentes números de partos. Foram realizadas análises de regressão linear entre: (i) CCS e número de partos; (ii) teor de gordura e número de partos; (iii) teor de proteína e número de partos; e (iv) teor de lactose e número de partos. Os resultados mostraram um aumento significativo da CCS entre animais de um a dois partos e vacas de três partos ou mais, que pode ser justificado pela vida produtiva e pelo estresse reprodutivo, diminuindo a imunidade por causa da exposição prolongada a agentes patogênicos em decorrência de infecções crônicas. Não houve relação entre número de partos e os componentes do leite (gordura, proteína e lactose). Considera-se que a avaliação de infecções crônicas levando em consideração a cronobiologia (em vacas de 3 partos ou mais) e a prevenção de tal cronicidade, além da adoção de práticas de manejo adequadas, seria de grande ajuda para a melhoria da qualidade do leite do rebanho.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cronobiologia; Contagem de células somáticas (CCS); Mastite; Qualidade do leite.

**LINHA DE PESQUISA:** Controle da Qualidade de Produto de Origem Animal

## INTRODUÇÃO

O agronegócio brasileiro é um importante segmento econômico, sendo responsável por um quinto do Produto Interno Bruto (PIB) nacional, com o crescimento de 2,3% em 2020 (IPEA, 2020), mesmo com pandemia do Coronavírus (COVID-19). O leite possui alto valor nutritivo e é utilizado pelo homem desde os primórdios para a alimentação, economia e geração de renda (SERRA, 1995, *apud* VELUDO, 2018). Atualmente, o leite é um dos produtos de origem animal que mais contribui para a economia brasileira, gerando emprego e renda para a população. Em 2017, o faturamento brasileiro foi de quase R\$27,2 bilhões, valor bruto da produção movimentado pela cadeia produtiva do leite (EMBRAPA, 2018), atingindo a quarta

posição no *ranking* de maior produtor mundial de leite (SILVA, 2019). A produtividade média brasileira, no ano de 2018, foi de 2069 litros de leite por vaca/ano e o rebanho nacional tinha 16,4 milhões de vacas ordenhadas com 33,8 bilhões de litros de leite produzidos (IBGE, 2019). Em 2019, a região Sudeste teve um aumento de 4,4% na produção de leite em relação à 2018, representando 34,3% do leite produzido no Brasil, o que a tornou a região de maior participação na produção nacional. O estado de Minas Gerais se manteve como o maior produtor da região, sendo responsável por 27% da produção do país e, em 2020, continuou liderando o *ranking* com 25,4% da captação nacional de leite (IBGE, 2020).

A cronobiologia é a ciência que estuda os ritmos biológicos e os fenômenos físicos e bioquímicos de caráter periódico nos seres vivos. Tal capacidade permite que os organismos antecipem e alterarem seu funcionamento interno em função dos ciclos ambientais, isso ocorre de acordo com seus hábitos de vida e mediante variações pontuais de elementos importantes como a disponibilidade de alimento ou a presença de algum patógeno. Esta antecipação e integração da ritmicidade interna dos organismos no que diz respeito a eventos ambientais cíclicos é fundamental para o processo de adaptação evolutiva e sobrevivência dos seres vivos (NOGUEIRA; RIU; HORTENSI; CICIRELLA, 2007).

A contagem de células somáticas (CCS) mede o número de leucócitos e células epiteliais presentes no leite, e, portanto, a resposta inflamatória frente ao patógeno, uma vez que o valor padrão da CCS é ultrapassado. (VELUDO, 2018). No artigo 7º da Instrução Normativa Nº 76 de 26 de novembro de 2018, o valor padrão da CCS admitido ao de leite de vaca cru, sendo ele refrigerado para posterior tratamento ou conduzido para estabelecimentos que efetuam o seu processamento para produção de laticínios, é de 500.000 células/ml (BRASIL, 2018).

A mastite é uma doença inflamatória caracterizada por (i) alterações físicas, químicas e bacteriológicas no leite; e (ii) alterações patológicas no úbere. O reconhecimento antecipado da doença e o tratamento precoce são fatores importantes para limitar lesões no tecido do úbere e para impedir perdas produtivas.

Há dois tipos de mastite: (i) as mastites clínicas, que são facilmente detectadas no exame clínico; e (ii) as mastites subclínicas, que podem passar despercebidas, visto que ocorrem quando um agente patogênico infecta a glândula mamária, não causando lesão suficiente para que resulte em anormalidades na consistência do leite detectável a olho nu. Nesses casos, o sistema imunológico do animal responde à

invasão bacteriana, enviando leucócitos para a glândula mamária e, por consequência, gerando um aumento na CCS (SANTOS *et al.*, 2017).

Existem fatores que podem originar a inflamação da glândula de forma não infecciosa e, conseqüentemente, aumentando também a CCS. Agressões físicas compõem esses fatores, mais especificamente, lesões durante o confinamento dos animais, lesões causadas pela máquina de ordenha e lesões provocadas pelos bezerros no período de amamentação (JIMENEZ-GRANADO; SANCHEZ-RODRIGUEZ; ARCE; RODRIGUEZ-ESTEVEZ, 2014).

De acordo com Ferreira *et al.* (2015), leites com aumento nas quantidades de células somáticas possuem queda significativa nas porcentagens de gordura e sólidos totais. Além disso, a CCS é um indicador indireto da saúde do úbere, podendo também ser um indicador de bem-estar animal, servir para identificar uma possível presença de bactérias no leite e, até mesmo, a presença de resíduos de antibióticos que foram usados no tratamento de infecção intra-mamária (KOOP *et al.*, 2013).

Portanto, o conhecimento sobre os fatores fisiológicos e ambientais que predispõem vacas leiteiras ao aumento da CCS é de extrema importância para garantir a qualidade do leite consumido pela população. Assim sendo, o objetivo deste trabalho é avaliar a influência da cronobiologia na CCS de vacas com diferentes números de partos.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **Cronobiologia**

A cronobiologia é uma ciência relativamente nova, que visa o estudo das características temporais dos seres vivos em todos os seus níveis de organização, incluindo o estudo dos ritmos biológicos. Ela compreende estudos relacionados às mudanças associadas ao desenvolvimento do organismo e às oscilações que ocorrem, periodicamente, em variáveis biológicas, como, por exemplo, o caso do processo inflamatório que varia em função da presença ou ausência de luz dentro de um período de 24 horas (LOTUFO *et al.*, 2001). Essas variações luminosas são percebidas pelo organismo através do hormônio melatonina, liberado apenas no período escuro do ciclo claro/escuro, e que, de acordo com Lotufo *et al.* (2001), inibe a inflamação em cerca de 50%.

Em condições normais, a melatonina é produzida e liberada de forma sistêmica pela glândula pineal inibindo a migração de neutrófilos, isso também acontece *in vitro*,

uma vez que ela impede a adesão dos neutrófilos às células endoteliais, impossibilitando, assim, a inflamação (LIMA, 2011). No começo de uma resposta inflamatória induzida, por exemplo, por lipopolissacarídeos (LPS), citocinas pró-inflamatórias, como o TNF, são liberadas na circulação e vão atuar sobre a glândula pineal, inibindo a produção de melatonina (fase pró-inflamatória) (CARRILO-VICO *et al.*, 2013). Quando a melatonina é bloqueada, seus efeitos anti-inflamatórios não ocorrem. Esse bloqueio admite a montagem da resposta inflamatória, permitindo a migração de neutrófilos para o tecido infectado. Na medida em que a inflamação se resolve (fase de resolução), as células imunocompetentes produzem e liberam melatonina localmente. Essa relação entre sistema imunológico e glândula pineal é conhecida como “eixo imune-pineal” (MARKUS *et al.*, 2018). O mesmo grupo de pesquisa também provou que processos inflamatórios deixam memórias nas células endoteliais que passaram por uma infecção, visto que elas exibiram respostas reativas à infecção mesmo após passarem por dias de cultivo *in vitro* (MARÇOLA, 2011).

Ao conhecer como plantas e animais se organizam e se comportam em função do tempo, gera-se um grande impacto na agricultura e na pecuária. A organização temporal do metabolismo tem impacto positivo na produtividade, posto que ela é influenciada por várias funções fisiológicas que se sincronizam com as condições do ambiente (MARQUES; MENNA-BARRETO, 1999). Quando essas são desfavoráveis, podem gerar dessincronizações entre eventos bioquímicos do metabolismo. Desse modo, a compreensão sobre os fatores que modulam essas funções fisiológicas tornou-se necessária para o aumento da produtividade e para a previsão de condições desfavoráveis para obter uma boa qualidade do produto produzido.

Em estudos com gado bovino, observou-se o fotoperíodo como indutor do crescimento corporal e do aumento da produção leiteira, tendo os hormônios de crescimento, prolactina e melatonina, como reguladores dessas respostas (TUCKER; RINGER, 1982). O ritmo da temperatura corporal também tem sido utilizado para a detecção do estro em vacas leiteiras e detecção de doenças no rebanho (LEFCOURT, 1990)

Em resumo, de acordo com Marques e Menna-Barreto (1999), pode-se dizer que a aplicação da cronobiologia no setor pecuário está envolvida no crescimento, na reprodução, na produção e na saúde do rebanho, o que vem estimulando cada vez mais a realização de pesquisas na área.

## **Leite e Qualidade do Leite**

De acordo com a Instrução Normativa nº 76 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), de 26 de novembro de 2018, para ser considerado leite cru refrigerado, o leite deve ser líquido, branco, opalescente, homogêneo de odor característico e que seja produzido em propriedades rurais, refrigerado, inspecionado e destinado aos estabelecimentos de leite e derivados que, por sua vez, devem garantir uma temperatura de 7°C na hora da sua recepção (BRASIL, 2018).

O leite deve conter no mínimo 3,0% de gordura, 2,9% de proteína total, 4,3% de lactose anidra, 8,4% de sólidos não gordurosos e 11,4% de sólidos totais. Além disso, o leite armazenado no tanque deve apresentar médias trimestrais de Contagem Padrão em Placas (CPP) de, no máximo, 300.000 UFC/ml (trezentas mil unidades formadoras de colônia por mililitro) e de CCS de, no máximo, 500.000 céls./ml (quinhentas mil células por mililitro) para garantir sua qualidade (BRASIL, 2018).

Por conter lipídios, carboidratos, proteínas, aminoácidos, vitaminas, minerais, eletrólitos e água, o leite é considerado um alimento nutricionalmente completo e necessário em todas as fases do desenvolvimento humano. Portanto, assegurar a qualidade do leite é de extrema importância e essa pode ser influenciada por uma série de fatores, dentre eles: (i) a higiene ambiental; (ii) a higiene de todos os componentes envolvidos no processo; (iii) a nutrição adequada dos animais e seu manejo; e (iv) a saúde do animal e de suas glândulas mamárias (JAMAS *et al.*, 2018).

A qualidade do leite deve ser mantida independente do sistema de produção, tamanho da propriedade ou nível socioeconômico do produtor. Acredita-se que manter a higiene seja algo compreensível e possível de ser exercitado por todos os tipos de produtores. A falta de higiene é o principal fator envolvido na perda da qualidade do leite, que pode conter diversos microrganismos causadores de doenças, tanto nos bezerros quanto nos humanos consumidores (JAMAS *et al.*, 2018).

O papel do sistema endócrino no funcionamento da glândula mamária se dá através de seus hormônios, sincronizando o desenvolvimento e a função da glândula de acordo com a fase reprodutiva do animal. Os hormônios irão estimular o crescimento e desenvolvimento da glândula, iniciar e manter a lactação, além de, juntamente com o sistema nervoso, participar de mecanismos de remoção do leite. Esses dois sistemas, sistema endócrino e sistema nervoso, encontram-se conectados pelo eixo hipotálamo-hipófise (JAMAS *et al.*, 2018).

Dentre as diversas patologias que acometem a glândula mamária, destaca-se a mastite, que consiste na infecção e inflamação da glândula mamária, compondo uma das principais causas que influenciam negativamente a qualidade e produção do leite. A mastite causa grandes prejuízos, como o descarte do leite, a queda da produção leiteira, os gastos com antibióticos e, eventualmente, o descarte do animal (LEIRA *et al.*, 2018).

A principal forma de diagnosticar a mastite subclínica é pela CCS, uma vez que durante o processo inflamatório, as células imunocompetentes enviam substâncias quimiotáticas que atraem uma grande quantidade de leucócitos para a glândula mamária. Essas células serão secretadas junto com o leite e com os patógenos, causando modificações químicas, físicas e sensoriais no produto (LEIRA *et al.*, 2018).

### **Mastite, Células Somáticas e CCS**

A mastite é a inflamação do parênquima da glândula mamária, podendo ser causada por infecções ou por traumas. Dentre as infecções, as bacterianas são a causa mais frequente. É uma doença muito prevalente nos rebanhos e causa grandes prejuízos nas propriedades, tanto na redução da produção quanto na qualidade do leite, pois gera uma série de modificações físico-químicas. Ademais, pode haver um descarte de animais geneticamente valiosos (PERES; ZAPPA, 2011).

A doença pode se apresentar na forma clínica e subclínica, a forma clínica é caracterizada por alguns sintomas, como dor, calor, vermelhidão e inchaço do teto ou úbere, endurecimento dos tetos, presença de grumos, pus e sangue no leite. Já na forma subclínica (forma mais frequente), o leite se apresenta com aparência normal (sendo necessário para diagnóstico um teste qualitativo ou de CCS), portanto os produtores não conseguem perceber visualmente as alterações. Acontece também alteração na composição do leite (gordura, proteína), diminuição da produção do leite e aumento de células somáticas. A maior perda financeira do produtor está nos casos subclínicos (BUSANELLO, 2017), visto que, para cada caso clínico no rebanho, existem de 20 a 22 casos subclínicos, e, anualmente, três de cada dez vacas leiteiras apresentam inflamação clinicamente aparente da glândula mamária.

As infecções causadoras de mastite são classificadas em dois grupos: mastite contagiosa e mastite ambiental. A forma contagiosa tem alta incidência de casos subclínicos, longa duração, histórico de CCS alta e é causada por microrganismos que habitam a própria glândula mamária e a pele dos tetos. Sua contaminação

acontece, principalmente, na hora da ordenha pelos fômites, ordenhadeira ou mãos dos ordenhadores mal higienizadas. Já a forma ambiental apresenta alta incidência de casos clínicos, tem curta duração (forma aguda), histórico de baixa CCS de tanque e é causada por microrganismos que vivem no ambiente onde há acúmulo de esterco, urina, barro e camas orgânicas. Sua contaminação acontece entre as ordenhas e pode acometer novilhas e vacas secas. Uma vez que a vaca é infectada, o microrganismo persiste nas cisternas do teto e da glândula mamária com ondas periódicas de multiplicação, aumento de virulência e invasão tecidual. A resposta inicial à invasão é edema intersticial e influxo de neutrófilos para interstício dos alvéolos (SANTOS *et al.*, 2017).

Célula somática é qualquer célula diploide (2n) de um organismo. Estão presentes, no leite, as células somáticas originárias da corrente sanguínea como, leucócitos e células de descamação do epitélio glandular secretor. Diante de um processo infeccioso, ocorrem alterações na permeabilidade dos vasos, fazendo com que neutrófilos, macrófagos e linfócitos migrem para o tecido mamário se acumulando no leite (MÜLLER, 2002).

As células somáticas presentes no leite influenciam sua composição química, mas não constituem um fator de risco para a saúde do consumidor, posto que os patógenos são destruídos no processo de pasteurização, quando feita de forma adequada. O fato é que essas células elevam os níveis de enzimas no leite, não sendo neutralizadas na pasteurização. As enzimas (lipolíticas) começam a quebrar gorduras do leite (lipólise), gerando ácidos graxos livres, que contribuem para a ocorrência de problemas sensoriais, como o ranço (BEZERRA, 2018). Esse processo afeta a composição do leite, uma vez que aumenta da albumina sérica e reduz dos teores de lactose, gordura, cálcio, fósforo e caseína, provocando diminuição do rendimento e da vida de prateleira do produto (MORAES CARMO, 2017).

A contagem de células somáticas (CCS) no leite é um exame laboratorial específico, quantitativo e feito por citometria de fluxo, que mostra o número de células somáticas por mililitro de leite. A CCS é o teste regulamentado e indicado pelo MAPA (BRASIL 2018a) e é feito por laboratórios integrantes da RBQL (Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite), distribuídos em áreas geográficas de abrangência estratégica com a finalidade de monitorar e, conseqüentemente, contribuir para o aperfeiçoamento da qualidade do leite, de acordo com os objetivos do Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNQL).

Quando se analisa o leite de cada vaca individualmente, a CCS é um método eficaz como parâmetro de saúde da glândula mamária e para o diagnóstico de mastite subclínica. Quando o leite do tanque é analisado pela CCS, o resultado pode servir como indicativo do padrão de qualidade do leite cru, além de ser uma importante ferramenta para estimar a incidência média da doença no rebanho (SOUZA, 2018), podendo revelar se a mastite do rebanho está sendo a forma contagiosa (contagem alta de CCS) ou a forma ambiental (contagem baixa de CCS).

Foi estabelecida pelo MAPA (BRASIL, 2018) uma CCS limite de quinhentas mil células por mililitro de leite (500.000 céls./ml), porém, valores de CCS superiores a 200.000 céls./ml já acarretam alterações nos componentes como gordura, proteína, lactose, minerais e enzimas, podendo indicar um processo inflamatório. Valores abaixo de 200.000 céls./ml em vacas multíparas e de 100.000 céls./ml em primíparas podem ser consideradas normais, enquanto que valores acima 500.000 céls./ml é indicativo de mastite (BEZERRA, 2018).

Existem vários fatores cronobiológicos, fisiológicos e ambientais que influenciam na CCS, dentre eles estão: (i) a idade da vaca; (ii) o estágio da lactação; (iii) o estresse; (iv) os intervalos entre ordenhas; (v) manejo; (vi) número de partos; (vii) estações do ano; e (viii) a presença de infecção na glândula mamária. Esse último constitui um dos fatores que mais altera a CCS (SILVA; ANTUNES, 2018).

Para a indústria e para os produtores, os parâmetros de avaliação da CCS são indispensáveis, já que a alta CCS resulta em queda no rendimento da produção de derivados, nas alterações sensoriais do leite e derivados, reduzindo a vida de prateleira dos produtos, acarretando prejuízos na qualidade do produto e, conseqüentemente, prejuízos econômicos (ROTTAVA, 2019). Portanto, estudar formas de prever um aumento da CCS antes do leite ir para o tanque é de extrema importância para a melhoria da qualidade do leite e de seus derivados, como também, para evitar perdas financeiras tanto do produtor quanto da indústria.

## **METODOLOGIA**

### **Local e descrição da pesquisa:**

Este trabalho trata-se de uma pesquisa descritiva quantitativa, onde foram coletados dados da CCS, realizada em 40 vacas em lactação de um rebanho total de 102 animais da raça Girolando de uma fazenda produtora de leite, localizada em um município da região leste do estado de Minas Gerais.

Os dados utilizados no presente trabalho pertencem ao banco de dados da própria fazenda.

### **Caracterização:**

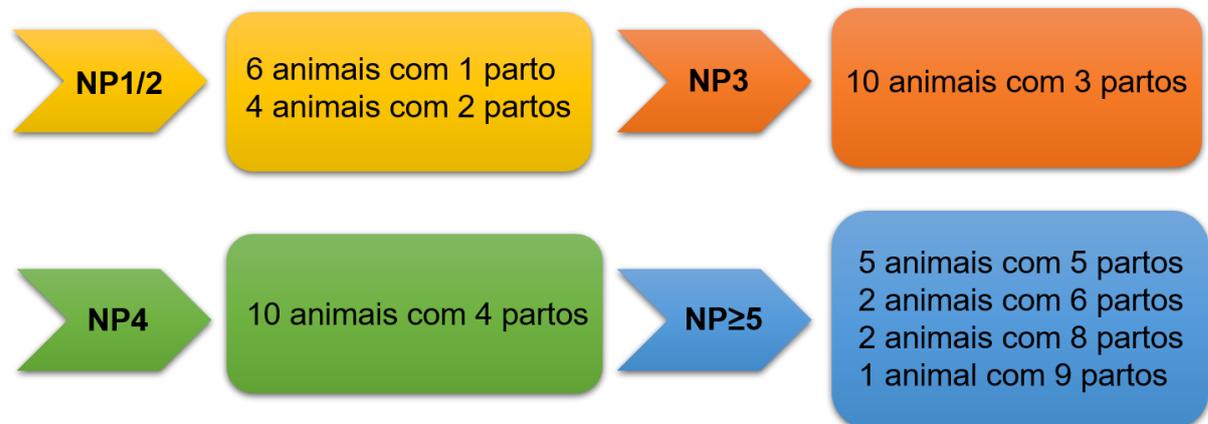
Como método de inclusão, foi escolhida uma fazenda que faz exame laboratorial quantitativo de CCS (com citômetro de fluxo) do leite cru de cada vaca individualmente.

As amostras de leite cru foram coletadas no dia 11 de outubro de 2020 pelos trabalhadores da fazenda e analisadas no dia 17 de outubro de 2020 pelo Instituto Clínica do Leite, localizado na Av. Cezira Giovanonni Moretti, 600 Piracicaba/SP. As amostras foram identificadas com o nome de cada animal, foram acondicionadas em caixas térmicas com gelo e enviadas resfriadas para análise. As amostras chegaram ao laboratório com temperatura de 2,5 C°. Foram solicitadas análises da composição do leite e da CCS por citometria de fluxo.

A CCS foi realizada através da metodologia Citometria de Fluxo - PO ANA 001: 03 e a análise de composição pelo Infra-vermelho - PO ANA 001: 03. O laboratório segue as normas de controle da ABNT NBR ISO/IEC 17025 e descarta amostras nas seguintes condições: Amostra sem conservante; Amostra mal homogeneizada; Amostra coagulada; Temperatura da amostra inadequada; Presença de sangue ou pus na amostra; Presença de sujidades na amostra; Volume insuficiente de leite; Perda de amostra no transporte; Amostra congelada; Amostra com prazo de validade vencido; Amostra não coletada; Impróprio ou com Identificação inadequada. De acordo com o laboratório, não foram observadas ocorrências no lote das amostras fornecidas pela fazenda.

### **Grupos:**

Foram incluídos 40 animais. As vacas, cujo número de partos não constava na base de dados, não foram inseridas na amostra, bem como vacas que não estavam em lactação. O número de partos variou entre 1 e 9. As vacas foram distribuídas em 4 grupos homogêneos de 10 animais, conforme mostra a Figura 1. Os animais foram agrupados consoante com o respectivo número de partos, sendo que o primeiro grupo englobou vacas de 1 e 2 partos e o último englobou todos os animais com mais de 4 partos, uma vez que a amostra relativa a esses animais era muito reduzida para ser analisada independentemente.



**Figura 1:** Agrupamento dos animais de forma homogênea de acordo com o respectivo número de partos.

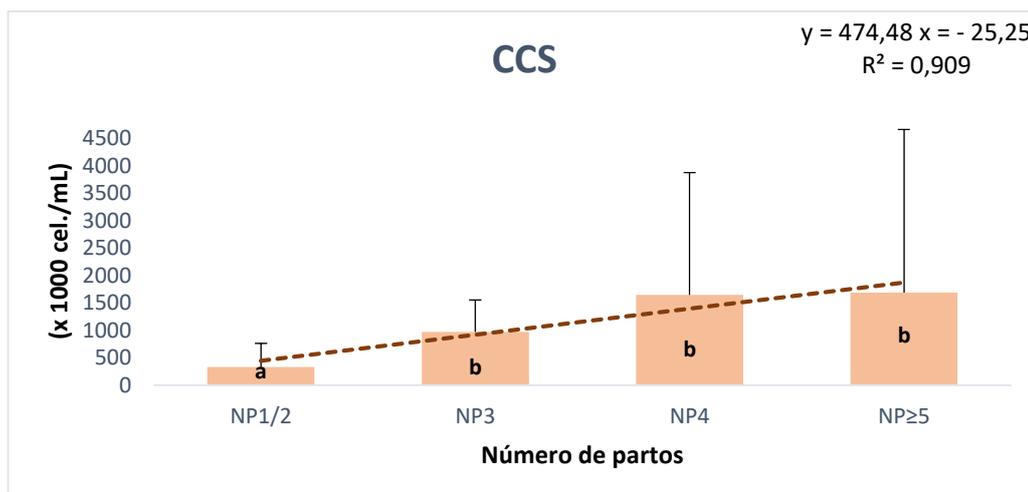
### **Análise e processamento de dados:**

Os dados coletados da fazenda foram transferidos para o Microsoft Excel. As médias de cada grupo foram calculadas e, em seguida, foram realizadas análises de regressão linear entre: (i) CCS e número de partos; (ii) percentual de gordura no leite e número de partos; (iii) percentual de proteína no leite e número de partos; e (iv) percentual de lactose e número de partos. As médias foram comparadas através da ANOVA seguido de teste *Tukey*, considerando a probabilidade de 10% ( $p < 0,1$ ) como diferença significativa entre os grupos.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Relação entre número de partos e contagem de células somáticas**

A Figura 2 mostra um aumento significativo da CCS quando se compara animais de apenas um a dois partos com as vacas que tiveram três partos ou mais. Já os animais de três, quatro e cinco partos em diante, não apresentaram diferenças significativas entre si na CCS, porém, percebe-se uma progressão crescente na linha de tendência. Acredita-se que este resultado poderia apresentar diferença significativa entre todos os grupos caso o número de animais avaliados fosse maior, pois, como pode-se perceber, por se tratar de organismos vivos e funções fisiológicas, o desvio padrão de cada grupo está elevado. O valor do coeficiente de determinação  $R^2$  mostra que existe uma forte tendência (90%) entre o número de partos e aumento da CCS.



**Figura 2: Relação entre o número de partos e a contagem de células somáticas (CCS).** NP1/2: vacas que tiveram de um a dois partos; NP3 e NP4: vacas que tiveram três e quatro partos respectivamente; NP≥5: vacas que tiveram de 5 a mais partos. As barras demonstram o desvio-padrão. a - Significativamente diferente de todos os outros grupos ( $P < 0,1$ ). b - Significativamente iguais entre si e diferentes dos outros grupos ( $P < 0,1$ ).  $R^2$  – Coeficiente de determinação. y – Eixo da CCS. x – Eixo do número de partos.

O aumento da CCS nos grupos de vacas que tiveram de três partos em diante pode ser justificado pela vida produtiva e o estresse reprodutivo aos quais os animais estão sujeitos, podendo causar diminuição das defesas imunológicas e, conseqüentemente, uma maior probabilidade de infecções da glândula mamária por agentes oportunistas e pela exposição prolongada a agentes patogênicos em fêmeas múltiparas (MUGABE *et al.*, 2018). Além disso, a prevalência de infecções intramamárias pode ter como decorrência infecções crônicas que não foram corretamente tratadas durante o período seco, persistindo até a lactação subsequente, não havendo cura bacteriológica e se tornando recorrente (MORONI *et al.*, 2005).

Em estudos parecidos, Razi *et al.*, (2012) demonstraram que a prevalência de mastite subclínica é mais elevada em animais com 5 e 6 partos. Também foi observado no estudo de Koop *et al.*, (2013) que a distância do úbere em relação ao solo pode ser um fator relevante para o aparecimento de infecções da glândula mamária, uma vez que o úbere fica em maior contato com o solo e com a cama, deixando-o mais exposto a agentes patogênicos. Os úberes pendulares estão frequentemente relacionados com a idade dos animais, sendo mais frequentes em animais mais velhos e com maior número de partos e lactações. Ademais, existe a possibilidade de a predisposição a úberes pendulares terem um envolvimento

genético, assim sendo, a seleção genética torna-se uma ferramenta importante para a melhoria da resistência a mastite (KOOP *et al.*, 2013).

A Tabela 1 apresenta a CCS de cada vaca analisada neste trabalho. Pode-se perceber que 20% dos 10 animais com 1 e 2 partos, 70% dos animais com 3 partos, 50% dos animais com 4 partos e 60% dos animais com 5 partos em diante apresentam CCS acima das 500.000 céls./ml, quantidade máxima permitida para o leite de vaca cru refrigerado (BRASIL, 2018).

Vale lembrar que os valores acima das 200.000 céls./ml são considerados indicativo de inflamação e possível mastite subclínica. Considerando esses valores, acredita-se que cerca de 30% das vacas do grupo NP1/2, 100% do grupo NP3, 70% do grupo NP4 e 90% das vacas do grupo NP≥5 estavam com algum processo inflamatório, algumas delas estavam, até mesmo, com mastite subclínica e clínica. Assim sendo, dos 40 animais analisados, cerca de 72,5% (29 animais) estavam com alguma inflamação.

**Tabela 1:** Relação entre número de partos e CCS de cada animal individualmente dentro dos grupos. Em destaque (negrito e \*) os valores de CCS acima do recomendado para leite cru refrigerado (500.000 céls./ml).

<b>Número de partos</b>	<b>1 e 2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>≥5</b>
	58	<b>1621*</b>	<b>2799*</b>	366
	171	311	<b>5860*</b>	417
	215	<b>1870*</b>	<b>684*</b>	<b>861*</b>
	197	220	111	<b>1414*</b>
<b>CCS</b>	191	310	481	<b>980*</b>
<b>(X 1000</b>	80	<b>748*</b>	<b>5338*</b>	<b>598*</b>
<b>céls./ml)</b>	<b>758*</b>	<b>1452*</b>	188	<b>1893*</b>
	<b>1416*</b>	<b>998*</b>	<b>553*</b>	211
	88	<b>975*</b>	142	150
	140	<b>1251*</b>	323	<b>9999*</b>

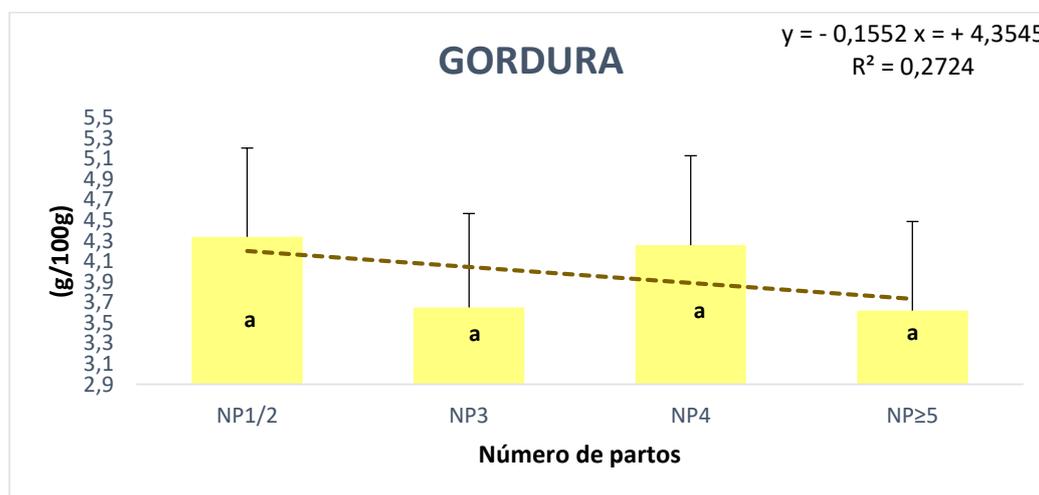
As amostras do presente estudo foram coletadas e analisadas no mês de outubro. Estudos mostram que a CCS do leite de vacas de todas as raças analisadas teve aumento nos meses de julho, agosto e setembro e valores mais baixos durante os meses de inverno e primavera (MALEK DOS REIS *et. al.*, 2013). Assim sendo, a CCS das vacas deste trabalho teoricamente deveria apresentar valores mais baixos

quando levamos a sazonalidade em consideração. Entretanto, é comum a CCS estar mais elevada no verão na região de estudo deste trabalho e, como temos dados apenas do mês de outubro, não podemos afirmar tal aumento. Se tivéssemos os resultados dos outros meses poderíamos comparar com outros estudos e validar essa teoria.

Essa situação sugere que a prevenção de doenças do úbere e os programas de controle usados por produtores de leite podem variar muito com o período do ano em que ocorre cada parto.

### Relação entre número de partos e teor de gordura no leite

Os resultados apresentados na Figura 3 mostram que não há diferença estatística quando relacionamos número de partos com a quantidade (em gramas) de gordura encontrada no leite. Apesar de os grupos não terem diferença estatística entre si, percebe-se que a linha de tendência aponta uma possível regressão, marcando provável relação inversa entre número de partos e quantidade de gordura, ou seja, quanto maior o número de partos, menor é a quantidade de gordura presente no leite desses animais. Também, nesse caso, desvio padrão de cada grupo está elevado.



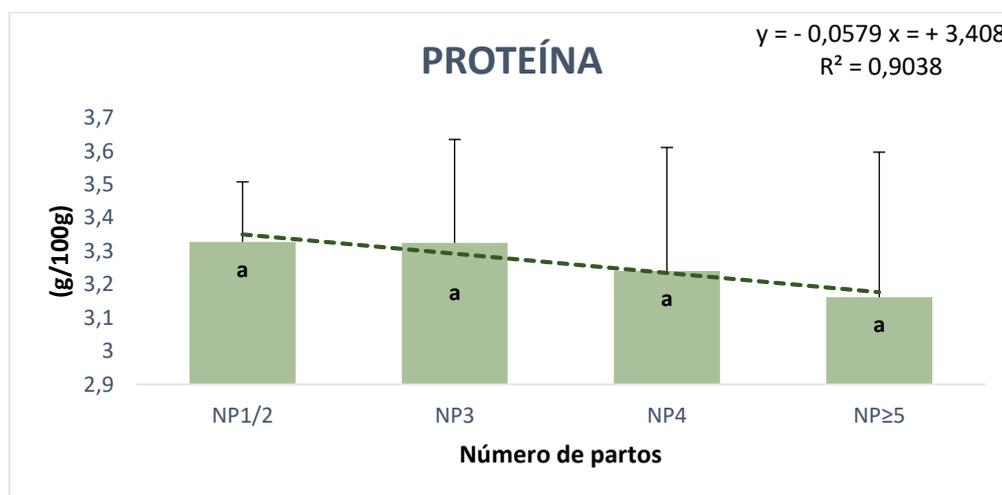
**Figura 3: Relação entre o número de partos e a quantidade de gordura do leite.** NP1/2: vacas que tiveram de um a dois partos; NP3 e NP4: vacas que tiveram três e quatro partos respectivamente; NP≥5: vacas que tiveram de 5 a mais partos. As barras demonstram o desvio-padrão. a - Significativamente iguais entre si ( $P < 0,1$ ).  $R^2$  – Coeficiente de determinação. y – Eixo da quantidade de gordura. x – Eixo do número de partos.

Os relatos na literatura sobre o efeito do aumento de CCS no conteúdo de gordura são controversos. Estudos realizados por Malek dos Reis *et al.*, (2006) indicam que o aumento na CCS causado por infecções por *Streptococcus sp.* e

*Corynebacterium spp.* reduziu significativamente o teor de gordura do leite, o que difere dos resultados apresentados por Rogers *et al.*, (1998) citado por Malek dos Reis *et al.*, (2006) onde o aumento de CCS não interfere no teor de gordura. Em contrapartida, Auld *et al.* (1995) relatou uma menor concentração de gordura em amostras de leite de vacas com mastite subclínica, enquanto Mitchell *et al.*, (1986) citado por Malek dos Reis *et al.*, (2006) obteve um aumento da concentração de gordura em amostras de vacas positivas para mastite.

### Relação entre número de partos e teor de proteína no leite

Assim como observado nos resultados apresentados para o teor de gordura, os resultados sobre o teor de proteína no leite também não foram estatisticamente diferentes entre os grupos quando relacionados ao número de partos (ver Figura 4), porém o desvio padrão está elevado, mostrando que um aumento do número de animais analisados seria necessário para uma melhor avaliação. A linha de tendência aponta uma regressão, criando uma possível relação inversa entre o número de partos e o teor de proteína no leite. O valor do coeficiente de determinação  $R^2$  mostra que existe uma forte tendência (90%) entre o número de partos e a diminuição do teor de proteína no leite.



**Figura 4: Relação entre o número de partos e a quantidade de proteína do leite.** NP1/2: vacas que tiveram de um a dois partos; NP3 e NP4: vacas que tiveram três e quatro partos respectivamente; NP≥5: vacas que tiveram de 5 a mais partos. As barras demonstram o desvio-padrão. a - Significativamente iguais entre si ( $P < 0,1$ ).  $R^2$  – Coeficiente de determinação. y – Eixo da quantidade de proteína. x – Eixo do número de partos.

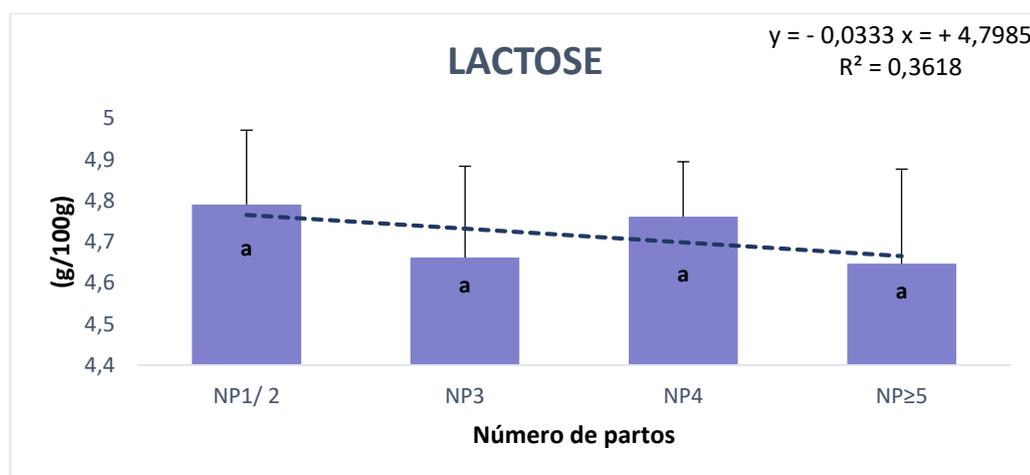
Em estudos realizados por Forsbäck *et al.*, (2010), foi observado que as amostras de leite de vacas infectadas tiveram maior quantidade de proteína total e proteína do soro do leite, mas um menor teor de caseína ( $\alpha$ -caseína e  $\beta$ -caseína) em

relação à proteína total e de lactose quando comparado com amostras de leite de vacas saudáveis.

O aumento da permeabilidade da barreira sangue-leite durante mastite também pode resultar em um aumento do influxo de proteínas séricas e enzimas proteolíticas do sangue, que podem levar a um aumento na proteólise ou diminuição síntese de caseína (FORSBÄCK *et. al.*, 2010).

### Relação entre número de partos e teor de lactose no leite

Da mesma forma que os resultados apresentados para o teor de gordura e proteína, os resultados sobre o teor de lactose no leite também não foram estatisticamente diferentes entre os grupos quando relacionados ao número de partos (ver Figura 5). O desvio padrão de cada grupo também se encontra bastante elevado. A linha de tendência mostra uma possível regressão inversa entre o número de partos e o teor de lactose no leite.



**Figura 5: Relação entre o número de partos e a quantidade de lactose do leite.** NP1/2: vacas que tiveram de um a dois partos; NP3 e NP4: vacas que tiveram três e quatro partos respectivamente; NP≥5: vacas que tiveram de 5 a mais partos. As barras demonstram o desvio-padrão. a - Significativamente iguais entre si ( $P < 0,1$ ).  $R^2$  – Coeficiente de determinação. y – Eixo da quantidade de lactose. x – Eixo do número de partos

Bansal *et al.*, (2005) relatou um efeito negativo da mastite no que diz respeito ao conteúdo de lactose, com um valor mais alto (4,84%), para amostras de animais saudáveis, comparando com as amostras de animais com mastite (4,61%).

O conteúdo de lactose geralmente é reduzido como resultado da mastite devido à diminuição da síntese de lactose. Por esse motivo, a concentração de lactose também pode ser usada como um indicador de mastite (PYORALA, 2003).

Em seus estudos, Malek dos Reis *et al.*, (2006) diz que infecções intramamárias em vacas Gir alteram a composição do leite, no entanto, o grau de alteração depende da resposta inflamatória, da gravidade e da quantidade de tecido afetado na glândula mamária e do patógeno causador. A CCS está negativamente associada à redução da lactose e teor de sólidos desnatados no leite. A sazonalidade afeta significativamente a composição do leite, na qual a concentração de lactose, gordura, proteína, sólidos desnatados e sólidos totais diferem entre as estações seca e úmida.

Estudos têm demonstrado que as mudanças na composição do leite (gordura, proteína, lactose, minerais e modificações na concentração de enzimas) causada por mastite e CCS alta podem ser explicadas por danos às células epiteliais que aumentam a permeabilidade vascular, permitindo a passagem de imunoglobulinas, proteínas séricas e minerais (sódio e cloreto) ao leite e um aumento na atividade proteolítica (CUNHA *et al.*, 2008).

As mudanças na composição do leite podem resultar na diminuição da produção de queijo, aumento do tempo de coagulação do coalho, redução do prazo de validade do leite pasteurizado e modificações na estabilidade térmica (LE ROUX *et al.*, 2003)

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O presente trabalho mostrou que existe um aumento significativo da CCS, quando comparamos animais de 1 e 2 dois partos com animais de 3 partos em diante. Entretanto, os teores de gordura, proteína e lactose não tiveram diferença expressiva quando relacionados ao número de partos. O aumento da CCS e conseqüente mastite, causada por infecção, pode ser uma das principais causas de descarte involuntário e, ainda, causa de outros prejuízos como a redução da produção, descarte de leite, custo de medicamentos e redução da qualidade do produto.

Portanto, justifica-se a adoção de práticas de manejo adequadas para a diminuição da CCS em rebanhos leiteiros. A avaliação de infecções crônicas levando em consideração a cronobiologia (vacas que tiveram de 3 partos ou mais) e a prevenção de tal cronicidade seria de extrema ajuda para a melhoria da qualidade do leite do rebanho.

## REFERÊNCIAS

BANSAL, B. K.; HAMANN, J.; GRABOWSKI, N.; SINGH, K. B. Variation in the composition of selected milk fraction samples from healthy and mastitis quarters, and its significance for mastitis diagnosis. **J Dairy Res.**, 72:144–152, 2005.

BEZERRA, J. DA S. **Qualidade do leite em tanques e influência da contagem de células somáticas nas características sensoriais do leite pasteurizado e queijo coalho.** Dissertação (Mestrado em Produção Animal) Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Unidade Especializada em Ciências Agrárias, Macaíba – RN, fevereiro de 2018.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.** Instrução Normativa Nº 76 de 26 de novembro de 2018. Aprova os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. Brasília, DF, art. 7º, nº.230, 30 novembro 2018.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.** Instrução Normativa Nº 77 de 26 de novembro de 2018. Estabelece os critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial. Brasília, DF, edição.230, seção 1, p. 10, 30 novembro 2018a.

BUSANELLO, M. **Indicadores epidemiológicos de mastite subclínica, previsão da contagem de células somáticas do tanque e seu impacto relacionado ao pagamento por qualidade do leite em rebanhos leiteiros brasileiros.** 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, p. 66. Piracicaba, abril, 2017.

CARRILLO-VICO, A.; *et al.* Review Melatonin: Buffering the Immune System. **International Journal of Molecular Sciences.** 2013, 14, 8638-8683

CUNHA, R. P. L.; *et al.* Subclinical mastitis and relationship between somatic cells count with number of lactations, production and chemical composition of milk. **Arq Bras Med Vet Zoo.**, 60:19–24, 2008.

EMBRAPA - **EVOLUÇÃO TECNOLÓGICA DA ATIVIDADE LEITEIRA NO BRASIL: Uma Visão a Partir do Sistema de Produção.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2018. ISSN 1516-7453. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1098303/evolucao-tecnologica-da-atividade-leiteira-no-brasil-uma-visao-a-partir-do-sistema-de-producao-da-embrapa-gado-de-leite>. Acessado em: 17 de outubro de 2020.

FERREIRA, B. P. M.; *et al.* Influência da contagem de células somáticas nos constituintes do leite da região sudoeste do paraná, brasil. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.9, n.1, p.19-22, 2015.

FORSBÄCK, L.; LINDMARK-MANSSON, H.; ANDRÉN, A.; SVENNERSTEN-SJAUNJA, K. Evaluation of quality changes in udder quarter milk from cows with low to moderate somatic cells count. **Animal**, 4:617–626, 2010.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da Pecuária Municipal 2018**. Rio de Janeiro. v. 46, p. 4. 2019. Disponível em: [https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm\\_2018\\_v46\\_br\\_informativo.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2018_v46_br_informativo.pdf). Acessado em: 20 de novembro de 2020.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Estatística da produção pecuária abril a junho 2020**. Rio de Janeiro. p. 42. 2020. Disponível em: [https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2380/epp\\_2020\\_2tri.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2380/epp_2020_2tri.pdf). Acessado em: 20 de novembro de 2020.

IPEA - Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. **Ipea aponta crescimento do PIB agropecuário em 2020**, Brasília, publicado em 26 de maio de 2020. Disponível em: [https://www.ipea.gov.br/portal/index.php?option=com\\_content&view=article&id=35617&catid=3&Itemid=3](https://www.ipea.gov.br/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=35617&catid=3&Itemid=3). Acessado em 18 de setembro de 2020.

JAMAS, L. T.; *et al.* Parâmetros de qualidade do leite bovino em propriedades de agricultura familiar. **Pesq. Vet. Bras.** 38(4):573-578, abril 2018.

JIMÉNEZ-GRANADO, R.; SANCHEZ-RODRIGUEZ, M.; ARCE, C.; RODRIGUEZ-ESTEVEZ, V. Factors affecting somatic cells count in dairy goats: a review. **Spanish Journal of Agricultural Research**, 12(1), 133-150, 2014.

KOOP, G.; *et al.* Risk factors for subclinical intramammary infection in dairy goats in two longitudinal field studies evaluated by Bayesian logistic regression. **Journal of Preventive Medicine**, 108, p. 304-312, 2013.

LE ROUX Y, LAURENT F, MOUSSAOUI F: Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. **Vet Res.**, 34:629–645, 2003.

LIMA, KELLY DHAYANE ABRANTES. **Modulação da interação neutrófilo-endotélio in vitro por melatonina: ação sobre as células endoteliais**. 2011. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Geral) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. doi:10.11606/D.41.2011.tde-02042012-102619.

LOTUFO, C.M.C.; *et al.* Melatonin and Nacetylserotonin inhibit leukocyte rolling and adhesion to rat microcirculation. **Eur. J. Pharmacol** 430: 351-357, 2001.

MALEK DOS REIS, C. B.; *et al.* Effect of somatic cells count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. **BMC Veterinary Research**, 1746-6148/9/67, 2013.

MARÇOLA, MARINA. **Efeito da melatonina endógena sobre a reatividade de células endoteliais ex vivo**. 2011. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Geral) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. doi:10.11606/D.41.2011.tde-21092011-102851.

MARKUS, R. P.; *et al.* Immune-pineal axis – acute inflammatory responses coordinate melatonin synthesis by pinealocytes and phagocytes. **Br J Pharmacol**. Aug; 175(16): 3239–3250, 2018.

MARQUES, L. MENNA-BARRETO. (Org.). **Cronobiologia: princípios e aplicações**. 2. ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo - Edusp, p. 251, 1999.

MORAES CARMO, R. **Influência da Remoção de Células Somáticas na Qualidade e Rendimento do Leite**. 2017. Dissertação (Mestrado) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Rio Verde, 49 f.: 8 il. 2017.

MORONI, P.; PISONI, G.; RUFFO, G.; BOETTCHER, P. J. Risk factors for intramammary infections and relationship with somatic-céls.l counts in Italian dairy goats. **ELSEVIER: Preventive Veterinary Medicine**, 69, 163-173, 2005.

MUGABE, W.; *et al.* A. Occurrence of caprine mastitis and its etiological agents and associated selected risk in mid lactating goats in the Oodi extension area of Kgatleng district, Botswana. **Journal of Agricultural Research**, 2(1), 14-20, 2018.

MÜLLER, E. E. **Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite**. Anais do II Sul- Leite: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil / editores Geraldo Tadeu dos Santos et al. Maringá: UEM/CCA/DZO, NUPEL. Toledo – PR, p. 206-217, 29 e 30 de agosto de 2002.

NOGUEIRA, A. D. i.; RIU, T. C.; HORTENSI, J. V.; CURCURELLA, N. C. **Cronobiologia**. Departamento de Ciências Fisiológicas, Humanas e da Nutrição Divisão de Ciências da Saúde. Porto Alegre: Editora Livre, 160p., 2007.

PERES, N. F.; ZAPPA, V. **Mastite em vacas leiteiras- revisão de literatura**. (Periódicos Semestral) Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. ISSN: 1679-7353. Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia de Garça – FAMED/FAEF. Editora FAEF. São Paulo. Ano IX, número 16, janeiro de 2011.

PYÖRÄLÄ, S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. **Vet Res.**, 34:564–578, 2003.

RAZI, K. M. A.; RAHMAN, M. B.; FLORES-GUTIÉRREZ, G. H.; RAHMAN, M. T. Prevalence of caprine subclinical mastitis in Mymensingh area and characterization of associated bacterial agentes and the risk factors. **Microbes Health**, 1(1), 1-5, 2012.

ROTTAVA, C. M. **Efeito da contagem de células somáticas no leite em parâmetros reprodutivos de vacas leiteiras**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, f. 49, p. 40-46, Dois Vizinhos, 2019.

SANTOS, W. B. R. dos.; *et al.* Mastite bovina: uma revisão. **Colloquium Agrariae**, vol. 13, n. Especial, Jan–Jun, 2017.

SILVA, E. I. C. DA. **A Nova Pecuária Leiteira – Produção Mundial de Leite em 2018**. p. 7. Recife. 2019. Disponível em: <https://philpapers.org/archive/DASANP-2.pdf>. Acessado em: 02 de dezembro de 2020.

SILVA, J. C.; ANTUNES, R. C. Efeito do tipo de ordenha e do ambiente sobre a qualidade do leite cru com base na contagem de células somáticas. **Cienc. anim. bras**, Goiânia, v.19, 1-16, doi: 10.1590/1809-6891e-34635, 27 de abril de 2018.

SOUZA, A. C. **Fatores de risco para alta contagem de células somáticas do leite em unidades de produção em assentamentos de Candiota/RS**. 2018. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) Universidade Federal de Santa Catarina. Centro de Ciências Agrárias. Florianópolis, p. 103, 2018.

VELUDO, A. F. **O efeito da raça, idade, número de partos e fase da lactação na incidência de mastites clínicas em caprinos leiteiros**. Portugal, Lisboa: Universidade de Lisboa, 2018.

# INFLUÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DE TRÊS PROTOCOLOS HORMONAIS SOBRE A TAXA DE PRENHEZ DE VACAS MISTIÇAS DE ALTA PRODUÇÃO LEITEIRA SUBMETIDAS À INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF)

**Acadêmicos:** Josué Franco Pereira e Túlio Schittini Soares de Oliveira

**Orientador:** Vanessa Lopes Dias Queiroz de Castro

## RESUMO

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é uma biotécnica que admite sincronizar o crescimento folicular e a ovulação sem exigir a observação do estro. O objetivo foi investigar o uso de três protocolos hormonais sobre a taxa de prenhez de fêmeas mestiças de alta produção leiteira. O experimento ocorreu na fazenda Bom Fim, localizada na região de Matipó (MG). Foram utilizadas 90 vacas submetidas a três diferentes protocolos. As variáveis qualitativas (prenhe ou não prenhe) foram comparadas em tabelas de contingência e analisadas pelo teste de qui-quadrado a 5% de probabilidade. A taxa de prenhez foi de 40% para G1, 53,3 para G2 e 63,3 para G3 ( $P > 0,05$ ). A administração do GnRH associado ao benzoato de estradiol no D(0) não trouxe incremento à taxa de prenhez, assim como a dose extra de PGF2 $\alpha$  no terceiro grupo. Dessa forma, deve-se optar pelo protocolo de menor custo econômico sendo o protocolo utilizado no primeiro grupo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Hormônios; Inseminação Artificial; Vacas Leiteiras.

## 1. INTRODUÇÃO

Dentre as diversas biotecnologias aplicadas à reprodução animal que visam o melhoramento genético, a inseminação artificial (IA) se tornou uma das grandes ferramentas por proporcionar a seleção dos animais pelo método tradicional da condição reprodutiva, além de se tornar também uma biotecnologia importante para a produção animal (MORAIS *et al.*, 2020).

Na bovinocultura, a IA possui diversas vantagens como a possibilidade de difundir e promover o melhoramento genético do plantel, por meio da utilização de sêmen criopreservado de reprodutores de alto valor genético, seja ele convencional ou sexado, além também de apresentar diversas outras vantagens quando bem implantada e executada (TAVARES e FARIA, 2019).

No entanto, apesar de suas diversas vantagens, esta biotecnologia apresenta algumas limitações práticas, tais como a falta de treinamento adequado da mão de obra na detecção dos animais em estro, a falta de estrutura e manejo adequado nas propriedades, assim como a aquisição de instrumentos auxiliares na detecção do estro, como, por exemplo, buçal marcador, rufiões, entre outros (PEGORARO, SAALFELD e PRADIEÉ, 2016).

Diante dos fatores limitantes dessa técnica, o de maior impacto dentro de um rebanho é a falha na detecção do estro das fêmeas, tendo como consequência um aumento no período de serviço, no intervalo entre partos (IEP) e no intervalo parto-concepção (IPC). Tem-se notado que, ao longo dos anos, quanto maior a produção de leite das vacas, maior a propensão de apresentarem distúrbios reprodutivos (MORAIS *et al.*, 2020).

Existem também outros fatores que irão interferir diretamente na ciclicidade das fêmeas bovinas, como, por exemplo, a infertilidade e o atraso no retorno da ciclicidade nos ovários pós-parto (BEZERRA *et al.*, 2019).

Diante das diversas limitações e fatores que irão interferir no emprego da IA, nos últimos anos, verifica-se um grande interesse financeiro no desenvolvimento de protocolos hormonais que não dependem da observação do estro das fêmeas que visam à sincronização do ciclo reprodutivo, resultando na ovulação em um momento pré-estabelecido, correspondendo, assim, à técnica de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (VIANA, 2016).

A utilização dos protocolos de IATF nas fêmeas bovinas proporcionam um aumento na taxa de prenhez em um curto espaço de tempo, quando comparado aos demais sistemas reprodutivos como a monta natural (MN) e a IA. Nesses protocolos, é possível utilizar várias combinações hormonais, associando a progesterona (P4), estradiol (E2), prostaglandina (PGF2 $\alpha$ ), entre outros (CUNHA JÚNIOR, 2019).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi investigar a influência da utilização de três protocolos hormonais sobre a taxa de prenhez de fêmeas mestiças de alta produção leiteira submetidas à IATF.

## **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1. ANATOMIA REPRODUTIVA DAS FÊMEAS BOVINAS**

Os órgãos genitais são formados pelo vestíbulo da vagina, vagina, cérvix, útero, tubas uterinas e ovários na parte interna e na parte externa observa-se a vulva (CARVALHO, 2017). As estruturas internas dos órgãos genitais são sustentadas pelo ligamento largo, sendo o mesovario o ligamento responsável por ancorar os ovários; o mesossalpinge o responsável pelas tubas uterinas e o mesometrio o responsável unicamente pela sustentação do útero (SILENCIATO, 2017).

Quando se comparam os ovários entre as diversas espécies, o seu formato e forma sofrem variações de acordo com a raça do animal, a idade, o estado nutricional, o estágio do ciclo estral, o número de partos, entre outros (CARVALHO, 2017). Em relação às funções dos ovários, estes exercem de forma exócrina a liberação dos oócitos e na forma endócrina são os responsáveis pela produção dos hormônios esteroides, estradiol (E2) e progesterona (P4) e dos hormônios proteicos, relaxina, folistatina, ativina e inibina (SANTOS, 2016).

Já o útero é subdividido pelo corpo, cornos e cérvix sendo que os cornos são divididos pelo septo intercornual. Uma das principais funções do útero é fornecer abrigo para o embrião e, posteriormente, o feto além de ser responsável pela proteção e nutrição do feto durante toda a gestação. Além disso, exerce também a função de transporte dos espermatozoides além de ter participação direta na regulação da função do corpo lúteo (CL) (ROCHA, 2016).

Na vagina, encontra-se uma projeção da cérvix uterina que é um órgão fibroso e de extrema importância que pode haver variação do número de anéis entre as fêmeas bovinas, variando de 3 a 5 anéis, exercendo a função de selecionar e armazenar os espermatozoides viáveis que são depositados em sua porção final da vagina. Além disso, proporciona proteção ao corpo do útero durante o período da gestação por meio do seu fechamento e da produção do muco cervical (SANTOS, 2016).

A genitália externa é composta pela vulva e pelo clitóris e ambos apresentam grande importância para a reprodução. Quando a vaca está em cio, a vulva, devido à função do estradiol, torna-se edemaciada, úmida e hiperêmica, o que ajuda na observação dessa fase do ciclo estral. O clitóris é importante durante a cópula pois, quando estimulado, desencadeia resposta neural que auxilia nas contrações uterinas (ROCHA, 2016).

## 2.2. PUBERDADE, CICLO ESTRAL E CONTROLE HORMONAL

A puberdade das fêmeas bovinas se inicia em média aos 12 meses de idade e, nessa espécie, o ciclo reprodutivo é classificado como poliestríco contínuo, ou seja, manifesta-se durante todo o ano. O período estral na vaca dura, aproximadamente, 18 horas, e o crescimento folicular se dá por meio de 2 a 3 ondas e em sequência ocorre a ovulação do folículo dominante (FD) em, aproximadamente, 10 a 12 horas após o término da manifestação de cio (NEVES,

MIRANDA e TORTORELLA, 2010; SILVA *et al.*, 2011).

Segundo Pansani e Beltran (2009); Godoi, Silva e Paula, (2010) e Silva *et al.*, (2011), o retorno da ciclicidade das fêmeas ocorre em média a cada 21 dias e está ligado à função reguladora dos ovários, controlada por meio do eixo-hipotalâmico-hipofisário-gonadal. Esse ciclo pode ser classificado em quatro fases, respectivamente: proestro, estro, metaestro e diestro, as quais apresentarão variações em sua duração; sendo o proestro 3 dias, o estro, em média, 18 horas, o metaestro de 2 a 3 dias e odiestro 14 dias.

As fases do ciclo estral são indicadas por um acontecimento fisiológico sendo que, no proestro, ocorre a regressão do CL, o que desencadeia o desenvolvimento de um novo folículo ovulatório. No estro, ocorre o início da maturação folicular e as manifestações comportamentais como a aceitação de monta. No metaestro, ocorre a ovulação e, posteriormente, a formação do CL, o qual permanece no diestro com atividade máxima e a liberação de P4 constante (ROCHA, 2017).

Todas as interações endócrinas parácrinas e autócrinas do ciclo reprodutivo das fêmeas bovinas são controladas pelo eixo-hipotalâmico-hipofisário-gonadal em que o hipotálamo é o ponto central responsável por liberar o hormônio liberador de gonadotrofinas (GNRH) que irá atuar diretamente sobre a adenohipófise. Esta, por sua vez, secreta o hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH) que são os hormônios responsáveis pelo crescimento folicular, maturação ovocitária e ovulação do folículo dominante, dando início a um novo ciclo estral. As células foliculares sob ação direta do LH e do FSH produzem hormônios esteroides como a P4, E2 e outros hormônios reguladores (SILVA *et al.*, 2011; ROCHA, 2017).

### 2.3. DEFINIÇÃO, FUNÇÕES E ATUAÇÕES DOS HORMÔNIOS NA REPRODUÇÃO DAS FÊMEAS BOVINAS

Hormônios são substâncias químicas liberadas por células especializadas e que são carregadas pela corrente sanguínea para as células alvo as quais apresentam receptores. As células alvo podem estar localizadas distantes, próximas ou, até mesmo, funcionarem também como a própria célula secretora. Essas funções são denominadas respectivamente: endócrina, parácrina e autocrina (PERTINARI, 2020; OLIVEIRA, SANTOS e VALENÇA, 2019). Segundo Madella-Oliveira, Quirino e Pacheco (2014), esses hormônios liberados possuem as funções

de inibição, estimulação ou regulação das atividades dos órgãos e tecidos alvos.

O entendimento da atuação de cada um dos hormônios é dado por meio do conhecimento e estudo de todo o ciclo reprodutivo das fêmeas bovinas (ROCHA, 2017). Os principais hormônios envolvidos na manifestação reprodutiva são os esteroides E2 e P4, os proteicos LH, FSH e o GnRH (SARAIVA *et al.*, 2010; CREMA, 2012). A gonadotrofina coriônica equina (eCG) é produzida pelas éguas gestantes por meio de seus cálices endometriais e possui ação semelhante ao LH e FSH. Ademais, a prostaglandina (PGF2 $\alpha$ ) é produzida no útero e atua na regressão do CL no ovário (MELLO, FERREIRA, MELLO e PALHANO, 2014; MADELLA-OLIVEIRA, QUIRINO e PACHECO, 2014; GODOI, SILVA e PAULA, 2010; ZANÃO, 2015).

A progesterona é o hormônio responsável pela manutenção da gestação e é utilizada objetivando elevar o nível sanguíneo e diminuí-lo posteriormente, para que ocorra uma fase estrogênica. Quando associado a estrógenos, esse hormônio ocasiona regressão do folículo dominante (FD), iniciando-se uma nova onda folicular. Tal tratamento visa a manter altos os níveis de P4 para anular a liberação endógena do LH, simulando a fase luteínica do ciclo estral. Já a associação de estrógenos e GnRH eleva a capacidade de liberação de LH e FSH pelo GnRH (PEREIRA, 2009).

O LH e o FSH são glicoproteínas secretadas por células gonadotróficas na hipófise anterior, que agem na diferenciação e crescimento gonadal. Apesar de possuírem origem parecida, sua liberação e atuação não são iguais. O LH é liberado na forma pulsátil e atua na ovulação e luteinização dos folículos ovarianos. O FSH é liberado na forma constante e grande parte é liberada de acordo com o que é produzido e uma pequena porção é armazenada para ser liberada mediante resposta do GnRH, que atua na proliferação das células foliculares e maturação inicial ovocitária (SARAIVA *et al.*, 2010; ZANÃO, 2015; COSTA *et al.*, 2014).

Liberado pelos neurônios do hipotálamo de forma pulsátil, o GnRH age na estimulação e liberação do FSH e LH pelos gonadotrófos na adenohipófise com a finalidade de proporcionar a ovulação do folículo dominante, gerar uma nova sincronização do crescimento folicular e luteogênese (ROCHA, 2016; LIMA *et al.*, 2010; ALMEIDA, PINHO, LIMA e MARTINS, 2013).

A gonadotrofina coriônica equina (eCG) apresenta ação semelhante ao FSH e

ao LH, pois estimula a esteroidogênese e o crescimento folicular, apresentando efeitos que variam de acordo com a dose e momento de administração. Quando usada antes da retirada do implante vaginal em doses baixas, favorece o crescimento do folículo dominante nas 48 horas após a retirada do implante, acarretando uma elevação nas taxas de ovulação (PEREIRA, 2009).

A administração de prostaglandina (PGF $\alpha$ ) ou seus semelhantes durante a fase luteínica média do ciclo ocasiona uma luteólise prematura e conseqüente queda nas concentrações periféricas de progesterona (TREVISOL, 2011).

#### 2.4. INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL (IA) X INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF): VANTAGENS E DESVANTAGENS

Visando a melhorar cada vez mais os indicadores da eficiência reprodutiva e da produção dos rebanhos, várias biotecnologias estão sendo utilizadas na agropecuária para gerar avanços no melhoramento genético dos animais, proporcionando eficiência reprodutiva (FALEIRO, ANDRADE e REIS JUNIOR, 2011; FERREIRA et al., 2013; SANTOS, TORTORELLA e FAUSTO, 2018).

Como vantagens, a Inseminação Artificial tem como objetivo, a redução do número de reprodutores no rebanho, a diminuição das disseminações de doenças sexualmente transmissíveis. Possibilita, também, o aumento do valor genético e zootécnico da propriedade, pois, com o uso de animais geneticamente superiores, há continuação da descendência por meio das progênes após morte dos pais e concentra a mão-de-obra da propriedade (TAVARES e CHAYA, 2017; SANTOS, 2018).

Quanto às desvantagens e fatores que limitam a prática da IA quando executada de forma incorreta destacam-se: a diminuição da taxa de nascidos vivos da propriedade, o aumento do estresse das matrizes, o surgimento de problemas clínicos e ginecológicos, as falhas na técnica também estão associadas ao processo de descongelamento e manuseio inadequado do sêmen, a baixa qualificação da mão de obra, a detecção inadequada do estro bem como o horário da inseminação e a falta de assistência técnica (SOETHE, 2014; VENDRUSCOLO *et al.*, 2005).

Tendo em vista corrigir algumas desvantagens da IA e reduzir os fatores limitantes da técnica como a observação do cio, assim como buscar a melhoria nos índices reprodutivos e produtivos dos animais, surgiu a técnica de inseminação

artificial em tempo fixo (IATF) que, por meio da associação de hormônios, desobriga a observação da manifestação estral, possibilitando a sincronização e o aumento da fertilidade dos animais, proporcionando identificar o horário preciso da ovulação (FERREIRA *et al.*, 2013; SANTOS, TORTORELLA e FAUSTO, 2018). Godoi, Silva e Paula (2010) defendem que, antes de implantar o emprego da técnica de IATF na propriedade, deve-se levar em conta a viabilidade econômica, pois a aquisição de custo-benefício dos hormônios pode ser desfavorável à realização das sincronizações.

## 2.5. FATORES QUE INFLUENCIAM NA EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DOS REBANHOS

A eficiência reprodutiva dos rebanhos de aptidão leiteira envolve o retorno cíclico dos ovários no período pós-parto, o intervalo parto-concepção e entre o parto e a primeira IA. Os animais com alto valor genético para a produção leiteira tem apresentado uma perda na fertilidade, intensidade e duração do estro das fêmeas em lactação, podendo apresentar modificações na fisiologia reprodutiva acarretando dificuldade na manifestação e detecção do estro (RODRIGUES *et al.*, 2008; TEIXEIRA, 2010; LEAL *et al.*, 2013).

O aumento na produção de leite proporcionado pelo melhoramento genético afeta a fertilidade das fêmeas bovinas em lactação assim como o manejo nutricional. Além da produção e manejo dietético, o ambiente em que o animal convive desfruta de grande influência sobre a fisiologia reprodutiva do animal como a temperatura ambiente, a umidade do ar e a radiação solar. O estresse calórico gera um bloqueio na secreção dos hormônios gonadotróficos e, conseqüentemente, afeta diretamente a ciclicidade do animal. (ALVES, PEREIRA e COELHO, 2009; FERRO *et al.*, 2010; NÓBREGA, SILVA, SOUZA e MANGUEIRA, 2011).

O escore de condição corporal (ECC) durante a gestação e no período pós-parto também apresenta influência direta na fertilidade, sendo assim o ECC é avaliado como um parâmetro a fim de diminuir os problemas reprodutivos e impedir o balanço energético negativo (BEN) desses animais, pois essa condição afetará a liberação de LH e FSH na adenohipófise (MELLO, FERREIRA, MELLO e PALHANO, 2014).

Nos primeiros 30 dias pós-parto, a produção de GnRH é reduzida em razão

de alterações fisiológicas advindas do parto e a amamentação promove um bloqueio na ciclicidade da vaca (DUARTE JÚNIOR, 2013).

### 3. METODOLOGIA

O experimento ocorreu na fazenda Bom Fim, localizada na região de Matipó (MG). Foram utilizadas 90 vacas mestiças de escore corporal  $\geq 3$ , as quais eram mantidas em pasto de *Brachiaria brizantha*, com livre acesso à água e sal mineralizado.

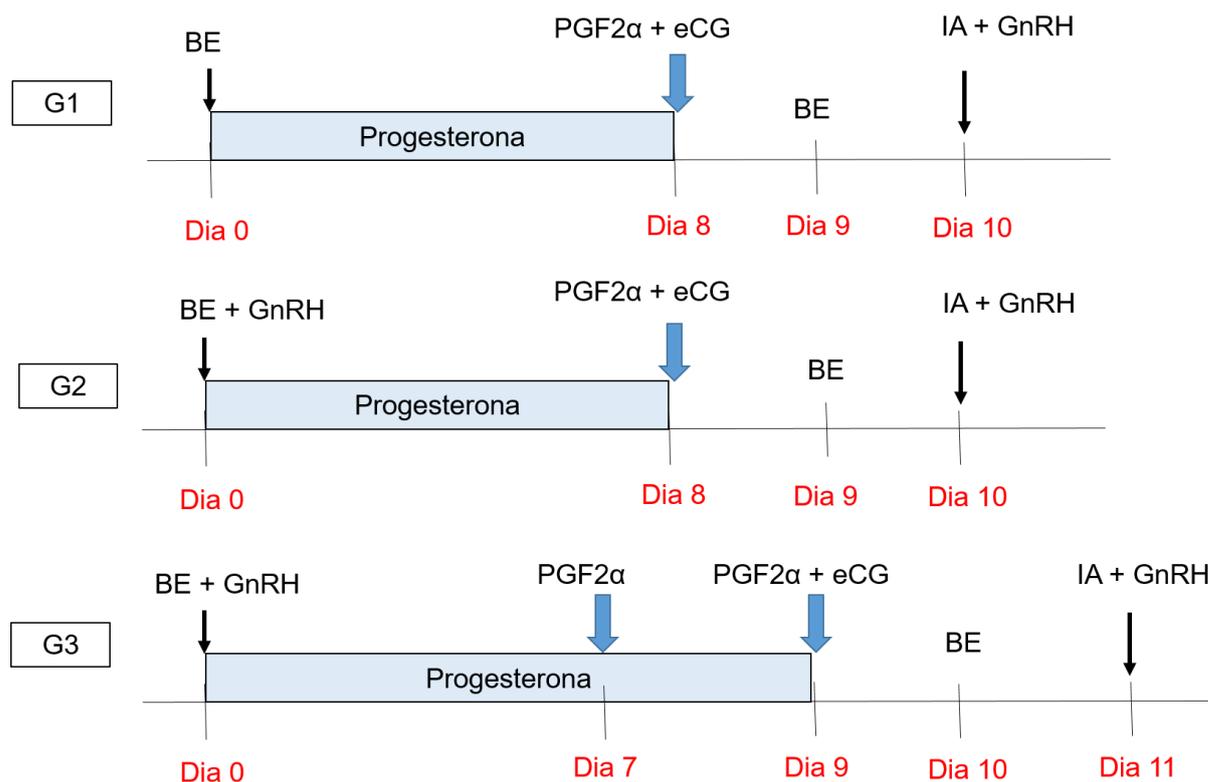
Elas foram submetidas a três protocolos diferentes de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Grupo 1: no dia 0 (D0) foi administrado 2 mL de benzoato de estradiol (BE, Ric-be®, Tecnopec) por via intramuscular (IM) e colocado o implante intravaginal de progesterona (PRIMER®, Tecnopec). No D(8), o implante foi retirado de todas as vacas e todas receberam 2 mL PGF2 $\alpha$  (Sincrocio®, Ourofino); 2 mL de eCG (Folligon®, MSD). No D(9) foi administrado 1 mL de benzoato de estradiol (BE, Ric-be®, Tecnopec) e no D (10) foi realizada a inseminação artificial e aplicado 1 mL de GnRH (Tec-Relin, Tecnopec).

O grupo 2 foi submetido ao seguinte protocolo: no dia 0 (D0) administrou-se 2 mL de benzoato de estradiol (BE, Ric-be®, Tecnopec) por via intramuscular (IM), colocado o implante intravaginal de progesterona (PRIMER®, Tecnopec) e 1 mL de GnRH (Tec-Relin, Tecnopec). No D(8), o implante foi retirado de todas as vacas e estas receberam 2 mL PGF2 $\alpha$  (Sincrocio®, Ourofino); 2 mL de eCG (Folligon®, MSD). No D(9) foi administrado 1 mL de benzoato de estradiol (BE, Ric-be®, Tecnopec) e no D (10) realizou-se a inseminação artificial e foi aplicado 1 mL de GnRH (Tec-Relin, Tecnopec).

O grupo 3 foi submetido ao seguinte protocolo: no dia 0 (D0) foi administrado 2 mL de benzoato de estradiol (BE, Ric-be®, Tecnopec) por via intramuscular (IM), colocado o implante intravaginal de progesterona (PRIMER®, Tecnopec) e 1 mL de GnRH (Tec-Relin, Tecnopec). No D(7) todas receberam 2 mL PGF2 $\alpha$  (Sincrocio®, Ourofino). No D(9) o implante foi retirado de todas as vacas e aplicado 2 mL de eCG (Folligon®, MSD) e 2 mL de PGF2 $\alpha$  (Sincrocio®, Ourofino). No D(10) foi aplicado 1 mL de benzoato de estradiol (BE, Ric-be®, Tecnopec) e no D(11) realizou-se a inseminação artificial e administrou-se 1 mL de GnRH (Tec-Relin, Tecnopec), Figura 1.

Após 60 dias da realização dos protocolos, as vacas foram submetidas a avaliação ultrassonográfica para diagnóstico de prenhez.

As variáveis qualitativas (prenhe ou não prenhe) foram comparadas em tabelas de contingência e analisadas pelo teste de qui-quadrado a 5% de probabilidade (SAMPAIO, 2002).



**Figura 1.** Protocolos hormonais utilizados na IATF  
**Fonte:** elaborado pelos autores

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo não houve diferença estatística entre os grupos submetidos a três diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo, Tabela 1.

**Tabela 1.** Taxa de prenhez de vacas mestiças, comparando três protocolos na inseminação artificial em tempo fixo.

	N	Prenhez (%)
Grupo 1	12	40,0 <sup>a</sup>
Grupo 2	16	53,3 <sup>a</sup>
Grupo 3	19	63,3 <sup>a</sup>

Fonte: Elaborado pelos autores

Valores com letras sobrescritas iguais indicam que não houve diferença ( $P>0,05$ ) pelo teste de qui-quadrado.

De acordo com Pereira (2009), a utilização da combinação dos hormônios para a realização de IATF tem obtido bons resultados tanto em vacas de corte quanto em vacas de leite. Ressalta-se que o GnRH exerce uma função fisiológica nas fêmeas induzindo o pico pré-ovulatório de LH e, conseqüentemente, a ovulação e luteinização das células foliculares, além de induzir uma nova onda de crescimento folicular.

Este hormônio é um decapeptídeo produzido pelos neurônios presentes no hipotálamo e, por meio da circulação porta-hipofisária, atua nos gonadotrofos presentes na adenohipófise e estes liberam as gonadotrofinas LH e FSH, as quais atuarão nos folículos (YÁNIZ, MURUGAVEL e LÓPEZ GATIUS, 2004).

Silva *et al.* (2008) e D'Avila (2019) avaliaram o efeito do GnRH na indução da ovulação e observaram que este hormônio tem capacidade de sincronizar o momento da ovulação, conseqüentemente, aumentando a taxa de fecundação. Esse hormônio age diretamente na adenohipófise, diferenciando-se dos protocolos que utilizam ésteres de estradiol, os quais atuam no hipotálamo e apresentam uma ovulação tardia já que a atuação ocorre de forma indireta.

Comparando as taxas de prenhez a outros estudos, verificaram-se resultados semelhantes ao deste estudo. Almeida *et al.* (2016), em seu estudo em vacas da raça nelore submetidas a inseminação em tempo fixo, obteve no grupo utilizando benzoato de estradiol 42,6% de prenhez e, no grupo que recebeu GnRH, 45,5% e 68,8% no grupo com eCG. Em seu estudo, Ribeiro *et al.* (2012) verificaram que uma administração adicional de PGF2 $\alpha$  em um protocolo de IATF utilizando GnRH favoreceu a taxa de prenhez.

No experimento de Vedana *et al.* (2008), foi possível concluir que a utilização de eCG eleva as taxas de aproveitamento de receptoras. A eCG é um hormônio produzido nos cálices endometriais de éguas prenhes e se liga, diretamente, aos receptores de LH e FSH criando condições propícias de crescimento folicular, ovulação e luteinização de forma direta. Segundo Kaim *et al.*, (2003) o tratamento com o GnRH ou o análogo sem associação ao eCG aumentou a magnitude dos surtos de LH e diminuiu os intervalos de estro, tal ação foi descrita como positiva em primíparas e/ou em animais com escore corporal baixo. No presente estudo, o eCG

não apresentou efeito sinérgico ao GnRH, que pode ser atribuído ao escore corporal  $\geq 3$  e presença de ciclicidade regular.

Coelho *et al.* (2021) salientam que existem diversos fatores que podem impactar na eficiência reprodutiva dos rebanhos leiteiros e reduzir as taxas de prenhez. Dentre eles, destaca-se o estresse térmico, pois este atinge diretamente os folículos ovarianos, levando à produção de ovócitos com menor capacidade de fertilização.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A administração do GnRH associado ao benzoato de estradiol no D (0) não trouxe incremento à taxa de prenhez, assim como a dose extra de PGF2 $\alpha$ . Dessa forma, deve-se optar pelo protocolo de menor custo econômico sendo o protocolo utilizado no primeiro grupo.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Ítalo Câmara de *et al.* Taxa de prenhez em vacas de leite após uso de protocolos hormonais de inseminação artificial em tempo fixo. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 23, n. 1-2, p. 99-103, 2016.

ALMEIDA, Odonei Mória de; PINHO, Rogério Oliveira; LIMA, Daniel Mendonça de Araújo; MARTINS, Leonardo Franco. Endocrinologia da puberdade em fêmeas bovinas. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. ano XI, n. 20, 2013. Disponível em: [http://faef.revista.inf.br/imagens\\_arquivos/arquivos\\_destaque/U2Qdcfgbe5GbfFN\\_2020-6-21-15-57-36.pdf](http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/U2Qdcfgbe5GbfFN_2020-6-21-15-57-36.pdf). Acesso em: 07 jun 2021.

ALVES, Nadja Gomes; PEREIRA, Marcos Neve; COELHO, Rodrigo Michelini. Nutrição e reprodução em vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Reprodução Animal Suplemento**, Belo Horizonte, n. 6, p. 118-124, 2009.

BARRENHO, Gonçalo José Pinheiro. **Nutrição e fertilidade em bovinos de leite**. Orientadora: Prof. Dra. Cristina Maria Conceição Pinheiro. 2016. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, Évora, 2016. Disponível em: <https://dspace.uevora.pt/rdpc/bitstream/10174/18518/1/Relatorio%20terminado.pdf>. Acesso em: 07 jun. 2021.

BEZERRA, Antonio Ray Amorim *et al.* Ciclicidade em bovinos leiteiros após o parto em relação ao escore de condição corporal. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 5, n. 11, p. 24281-24285, 2019.

CARVALHO, Viviane Souza de. **Avaliação morfométrica do aparelho reprodutor**

**de novilhas pertencentes a três grupos raciais.** Orientador: Clayton Quirino Mendes. 2017. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

CELEGHINI, Eneiva Carla Carvalho *et al.* Impacto da qualidade do sêmen sobre a fertilidade a campo em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 41, n. 1, p. 40-45, 2017.

COELHO, Matheus *et al.* Fatores que influenciam a taxa de gestação em fêmeas da raça nelore submetidas ao protocolo de IATF. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 5, p. 46901-46915, 2021.

COSTA, Sanely Lourenço da *et al.* Caracterização estrutural do hormônio folículo estimulante e seu papel na fisiologia de células ovarianas. **Ciência Animal**, v. 24, n.1, p.11-23, 2014.

CUNHA JÚNIOR, Nilson Raimundo de Almeida da. **Inseminação artificial em tempo fixo em vacas da raça Nelore:** relato de caso. Orientadora: Profa. Dra. Josemara Silva Santos. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Centro Universitário Luterano de Palmas, Palmas, 2019. Disponível em: <https://ulbra-to.br/bibliotecadigital/uploads/document5d4c6ce80f244.pdf>. Acesso em: 30 maio. 2021.

D'AVILA, Camila Amaral. **Efeito da prostaglandina e anti-inflamatório não esteroide no processo ovulatório em bovinos.** Orientador: Dr. Thomaz Lucia Júnior. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/ppgveterinaria/files/2019/09/Camila-Amaral-DAvila.pdf>. Acesso em: 11 jun. 2021.

DUARTE JÚNIOR, Moacir Ferreira. Aspectos relacionados à fisiologia do anestro pós-parto em bovinos. **Colloquium Agrariae**, v. 9, n.2, p.43-71, 2013.

FALEIRO, Fábio Gelape; ANDRADE, Solange Rocha Monteiro de; REIS JUNIOR, Fábio Bueno dos. **Biотecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária.** Planaltina: Embrapa Cerrados, 2011.

FERRO, Francisco Renalvo de Almeida *et al.* Efeito do estresse calórico no desempenho reprodutivo das vacas leiteiras. **Revista Verde**, Mossoró, v. 5, n. 5, p. 01-25, 2010.

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

GODOI, Carlos Rosa; SILVA, Ednea Freitas Portilho; PAULA, Adriano Pereira de. Inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos de corte. **Pubvet**, Londrina, v. 4, n. 14, 2010. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/artigo/2150/p-styletext-align-justify-aligncenterstronginseminaccedilatildeo-artificial-em-tempo-fixo-iatf-em->

bovinos-de-cortestrongp. Acesso em: 07 jun. 2021.

KAIM, M. *et al.* Efeitos do GnRH administrado a vacas no início do estro no momento da ovulação, respostas endócrinas e concepção. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 6, p. 2012–2021, 2003. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73790-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73790-4).

LEAL, Luciana da Silva *et al.* Fatores que interferem na eficiência reprodutiva de vacas de leite. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 1411-1428, 2013.

LIMA, Flávio Aragon *et al.* Redução da primeira dose de GnRH em vacas holandesas de alta produção sincronizadas com Ovsynch ou Heatsynch. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 47, n. 2, p. 127-134, 2010.

MADELLA-OLIVEIRA, Aparecid de Fátima; QUIRINO, Celiaa Raquel; PACHECO, Aline. Principais hormônios que controlam o comportamento reprodutivo e social das fêmeas ruminantes – Revisão. **Pubvet, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, Londrina, v. 8, n. 3, 2014. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/uploads/fc3a6bdbf197691aef0244f9a2b8cc6a.pdf>. Acesso em: 03 jun. 2021.

MELLO, R. R. C.; FERREIRA, J. E.; MELLO, M. R. B.; PALHANO, H. B. Utilização da gonadotrofina coriônica equina (eCG) em protocolos de sincronização da ovulação para IATF em bovinos: revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 38, n. 3, p. 129-134, 2014.

MORAIS, Sérgio Batista de *et al.* Custos e benefícios da Inseminação Artificial em pequenas propriedades leiteiras. **Revista Agrarian, Dourados**, v. 13, n. 48, p. 249-264, 2020.

NEVES, Jairo Pereira; MIRANDA, Karina Leite; TORTORELLA, Rodrigo Dornelas Progresso científico em reprodução na primeira década do século XXI. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 39, p. 414-421, 2010. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982010001300046&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982010001300046&script=sci_arttext). Acesso em: 03 jun. 2021.

NÓBREGA, Giovanna Henrique da; SILVA, Elisângela Maria Nunes da; SOUZA, Bonifácio Benício de; MANGUEIRA, Júlia Marry. A produção animal sob a influência do ambiente nas condições do semiárido nordestino. **Revista Verde**, Mossoró, v. 6, n. 1, p. 67-73, 2011.

OLIVEIRA, Vinicius da Silva; SANTOS, Ana Crolino Pinho dos; VALENÇA, Roberta de Lima. Desenvolvimento e fisiologia do trato digestivo de ruminantes. **Ciência Animal**, v. 29, n. 3, p. 114-132, 2019.

PANSANI, Marcelo Augusto; BELTRAN, Maria Paula. Anatomia e fisiologia do aparelho reprodutor de fêmeas bovinas. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n.12, 2009.

PEGORARO, Ligia Margareth Cantarelli; SAALFELD, Mara Helena; PRADIEÉ, Jorgea. Inseminação artificial em bovinos. **Embrapa Clima Temperado**, Pelotas, 2016. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/151361/1/Documento-412.pdf>. Acesso em: 30 maio. 2021.

PEREIRA, Viviana Cabral. **Inseminação artificial e sincronização de cio em bovinos**. Orientador: Jorge José Bangel Júnior. 2009. Monografia (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/22909>. Acesso em: 09 jun. 2021.

PERTINARI, Roberta Barbizan (coord.). **Biologia celular voltada para o ensino da medicina**. Teófilo Otoni: UFMG, 2020. Disponível em: <http://acervo.ufvjm.edu.br/jspui/handle/1/2231>. Acesso em: 03 jun. 2021.

RIBEIRO, E. S. *et al.* Fertilidade em vacas leiteiras após pré-sincroização e administração de duas vezes a dose luteolítica de prostaglandina F<sub>2α</sub> como uma ou duas injeções no protocolo de inseminação artificial com duração de 5 dias. **Theriogenology**, v. 78, p. 273-284, 2012.

ROCHA, Cecília Constantino. **Estratégias para otimização da eficiência reprodutiva de bovinos: suplementação com progesterona no início do diestro e diagnóstico precoce de gestação**. Orientadr: Prof. Dr. Valério Valdetar Marques Portela Jr. 2017. Monografia (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/177984>. Acesso em: 03 jun. 2021.

ROCHA, Marcela Kuczynski da. **Efeitos do ambiente na reprodução de bovinos de corte**. Orientador: Júlio Otávio Jardim Barcellos. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Faculdade de vVeterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/148220>. Acesso em: 03 jun. 2021.

RODRIGUES, Alexandra Soares *et al.* Diâmetro folicular e fertilidade de vacas mestiças leiteiras submetidas a protocolo de IATF com ajustes no proestro. **Archives of Veterinary Science**, v. 22, n. 3, p. 40-49, 2017.

RODRIGUES, Carlos Aalberto *et al.* Fatores que influenciam o sucesso de programas de IATF em gado de leite. **Biotecnologia da Reprodução em Bovinos - (3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada)**, 2008. Disponível em: <https://docplayer.com.br/56627275-Fatores-que-influenciam-o-sucesso-de-programas-de-iatf-em-gado-de-leite.html>. Acesso em: 11 jun. 2021.

SANTOS, Glauber dos; TORTORELLA, Rodrigo Dorneles; FAUSTO, Daiane. Rentabilidade da monta natural e inseminação artificial em tempo fixo na pecuária de corte. **Revista iPecege**, v. 4, n. 1, p. 28-32, 2018.

SANTOS, Jayne Kelly. **A relação do escore de condição corporal na qualidade de ovócito e tamanho de diâmetro folicular em vacas SRD**. Orientador: Prof. Dr.

Ricardo Romão Guerra. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Universidade da Paraíba, Areia, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/4181>. Acesso em: 03 jun. 2021.

SARAIVA, M. V. A.; *et al.* Hormônios hipofisários e seu papel na foliculogênese. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 34, n. 4, p. 206-221, 2010.

SILVA, Paula Regina Basso *et al.* Regulação farmacológica do ciclo estral de bovinos. **Pubvet, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**. Londrina, v. 5, n. 39, 2011. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/artigo/2168/regulaccedilatildeo-farmacoloacutegica-do-ciclo-estral-de-bovinos>. Acesso em: 03 jun. 2021.

SILVA, A.E.F.; DIAS, M.J.; DIAS, D.S.O.; DUARTE, J.B.; ANDRADE, J.R.A. Influência do momento da inseminação artificial sobre a fertilidade e o sexo da cria de novilhas da raça Nelore. **Ciência Animal Brasileira**, pp. 997-1003, 2008.

SOETHE, Ailton *et al.* Avaliação da técnica de inseminação artificial entre dois inseminadores no estado do Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 8, n. 4, p. 22-35, 2014.

TAVARES, Alaire Franco; FARIA, Mayrla Barbosa. **Desempenho reprodutivo de vacas Nelore submetidas protocolos de inseminação artificial em tempo fixo**. Orientadora: Prof<sup>a</sup> M.Sc. Alessandra Epifano Rodrigues. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Zootecnia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Paragominas, 2019. Disponível em: <http://bdta.ufra.edu.br/jspui/handle/123456789/848>. Acesso em: 30 maio. 2021.

TAVARES, Igor Jefferson Pereira; CHAYA, Alberto Yukio. **Conservação e transporte do sêmen canino utilizando diferentes diluentes para inseminação artificial**. Anais do X FAVE – Fórum Acadêmico da Faculdade Vértice – UNIVÉRTIX – Matipó/MG. Matipó. 2017.

TEIXEIRA, Alessandra Ambrósio. **Impacto da inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de leite de alta produção**. São Paulo, 2010. 60 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2010.

TREVISOL, Eduardo. **Resgate da função luteal em bovinos após desafio com cloprostenol sódico**. Orientador: Prof. Dr. João Carlos Pinheiro Ferreira. 2011. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botocatu, 2011. Disponível em: [https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/98159/trevisol\\_e\\_me\\_botfmvz.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/98159/trevisol_e_me_botfmvz.pdf?sequence=1&isAllowed=y). Acesso em: 09 jun. 2021.

VALENTIM, Jean Kaique *et al.* Fatores nutricionais aplicados à reprodução de ruminantes. **UNICIÊNCIAS**, v. 23, n. 2, p. 77-82, 2019.

VEDANA, Carlos Henrique *et al.* Efeito da aplicação do eCG na taxa de aproveitamento e de prenhez em receptoras de embriões. **Iniciação Científica CESUMAR**, v. 10, n. 2, p. 141-143, 2008.

VENDRUSCOLO, M. *et al.* Relação entre a duração do ato da inseminação artificial em bovinos e a fertilidade. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 2, p. 81-88, 2005.

VIANA, Willian de Araújo. **Taxa de prenhez em fêmeas bovinas leiteiras submetidas à inseminação artificial em tempo fixo em condições semiáridas**. Orientadora: Prof. DSc. Maria Dulcinéia da Costa. 2016. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros, 2016. Disponível em: <https://www.posgraduacao.unimontes.br/ppgz/wp-content/uploads/sites/24/2019/11/Wilian.pdf>. Acesso em: 30 maio. 2021.

ZANÃO, Amanda. **Fatores que afetam a fertilidade em vacas de alta produção: Diagnóstico e medidas de ação para a fazenda São José do Salto – PR**. Orientador: Paulo Tonon. 2015. Trabalho de Conclusão (Graduação em Zootecnia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015. Disponível em: <http://www.agrarias.ufpr.br/portal/zootecnia/wp-content/uploads/sites/13/2016/10/47.pdf>. Acesso em: 07 jun. 2021.

YANIZ, J. L.; MURUGAVEL, K.; LOPEZ-GATIUS, F. Recent Desenvolvimentos recentes na sincronização do estro de vacas leiteiras pós-parto com e sem distúrbios ovarianos. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 39, n. 2, p. 86–93, 2004.

# **INFLUÊNCIA DO TEMPO E DA TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO NA CONTAGEM BACTERIANA TOTAL E NO TEOR DE SÓLIDOS DO LEITE CRU REFRIGERADO**

**Acadêmicos:** Ingrid Mayra Do Carmo Gualberto e Isac Batista De Brito

**Orientador:** Ítalo Stoupa Vieira

## **RESUMO**

O leite é um dos produtos que mais contribuíram para a economia brasileira e apresenta alto valor nutritivo, composto por 87% de água e 13% de sólidos como gordura, proteína, lactose, sais minerais e vitaminas. Por possuir tantos nutrientes ele se torna um ótimo meio de cultura para microrganismos, o que pode acarretar em prejuízos tanto para a indústria como para o consumidor, sendo assim é de suma importância garantir a sua qualidade. Uma das formas de avaliar a qualidade do leite cru refrigerado é observando a contagem bacteriana total (CBT) ou contagem padrão em placa (CPP). A CBT pode ser influenciada por diversos fatores, dentre eles o tempo e a temperatura de armazenamento do leite. Nesse contexto o presente trabalho objetivou verificar como a temperatura e o tempo de armazenamento podem influenciar na contagem bacteriana total e no teor de sólidos do leite cru refrigerado. O trabalho foi realizado a partir da coleta de 6 amostras de leite recém ordenhado em uma fazenda localizada em Granada, distrito de Abre Campo – MG, e analisadas num período de 48 horas no Laboratório do Hospital Veterinário Gardingo. As amostras apresentaram crescente aumento na contagem padrão em placa desde a primeira análise após a coleta do leite, mesmo com a temperatura de armazenamento dentro do limite estabelecido pela legislação e relativa homogeneidade nos teores de sólidos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Leite cru refrigerado; Qualidade do leite; Análise físico-química; Contagem bacteriana total; Contagem padrão em placa.

**Linha de pesquisa:** Controle da Qualidade de Produto de Origem Animal.

## **1. INTRODUÇÃO**

O leite é um dos produtos que mais contribuíram para a economia brasileira, tem elevada importância social, além de ser uma atividade que gera emprego e renda, faturando, em 2017, aproximadamente R\$27,2 bilhões (EMBRAPA, 2018b). Nesse mesmo ano, o Brasil atingia a quarta posição no *ranking* mundial dos países com maior produção de leite, entretanto a sua participação representava 4,5% do total de leite produzido no mundo (SILVA, 2019). Em 2018, o Brasil possuía 16,4 milhões de vacas ordenhadas, com 33,8 bilhões de litros de leite produzidos, e produtividade média de 2069 litros de leite por vaca por ano (IBGE, 2019).

Entende-se por leite cru refrigerado, de acordo com a Instrução Normativa nº 76 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) de 26 de Novembro de 2018, o leite produzido em propriedades rurais refrigerado e destinado

aos estabelecimentos de leite e derivados sob serviço de inspeção oficial (BRASIL, 2018a). Uma das formas de avaliar a qualidade do leite cru refrigerado é observando a contagem bacteriana total (CBT) ou contagem padrão em placa (CPP) (TAFFAREL *et al.*, 2015), e, para esse parâmetro, é tolerado uma média trimestral de no máximo 300.000 UFC/ml no tanque de expansão comunitário ou individual (BRASIL, 2018a).

Sendo um produto de grande valor nutritivo, o leite é composto de água (cerca de 87%) e 13% de sólidos totais. Estes sólidos são divididos em lipídeos (gordura) que representa em média 3,9% e sólidos não gordurosos (SNG) onde se enquadra 3,4% de proteína, 4,8% lactose, 0,8% de minerais em média, além de várias vitaminas. Alguns fatores como a raça, alimentação, período de lactação, idade, saúde, período de cio, clima, espaço entre as ordenhas podem influenciar na composição do leite (VENTURINI, SARCINELLI, SILVA, 2007).

É de suma importância garantir a qualidade do leite, tendo em vista que os alimentos de origem animal, em especial o leite, apresentam nutrientes que se tornam um ótimo meio de cultura para crescimento de microrganismos, trazendo prejuízos para a indústria e para o consumidor (SILVA, 2018). Existem diversas zoonoses que podem ser transmitidas a partir da ingestão de leite, tais como brucelose, tuberculose e listeriose, gerando quadros infecciosos sistêmicos graves (VASCONCELLOS e ITO, 2011).

A CPP pode ser afetada por diversos fatores, como a falta de uma área própria para ordenha, falta de higiene antes, durante e após a ordenha, bem como a falta de higiene no local da ordenha e o armazenamento do leite em temperatura imprópria (ZEFERINO *et al.*, 2016). A temperatura de conservação e expedição no posto de refrigeração e na unidade de beneficiamento de leite e derivados deve ser de 5°C (BRASIL, 2020). Na propriedade, o leite, ao ser adicionado ao tanque de expansão, deve ser coado e refrigerado à temperatura máxima de 4,0°C (BRASIL, 2018b). O armazenamento do leite em temperaturas superiores interfere diretamente na qualidade do leite, elevando sua contagem bacteriana total, o que pode acarretar em prejuízos não só no rendimento industrial como também na saúde do consumidor (QUEIROZ *et al.*, 2019).

Assim como a temperatura, o tempo de armazenamento influencia no aumento da CPP, pois tempo prolongado associado à refrigeração permite o desenvolvimento de bactérias psicrófilas, entretanto, quando esse leite é obtido com higiene adequada e armazenado em temperatura menor ou igual a 4°C por no

máximo 48 horas, a multiplicação de microrganismos psicrotróficos é controlada (SANTOS *et al.*, 2009). Deste modo, o objetivo do trabalho foi verificar como a temperatura e o tempo de armazenamento podem influenciar na contagem bacteriana total e no teor de sólidos do leite cru refrigerado.

## **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1 LEITE**

O leite, sem outra especificação, é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outras espécies de animais deve conter o nome da espécie de que proceda (BRASIL, 2017).

O leite cru refrigerado deve apresentar algumas características sensoriais. Deve ser um líquido branco opalescente, sem grumos ou materiais sólidos, com odor e sabor característicos (BRASIL, 2018a).

Diversos fatores podem alterar as características do leite, desse modo é necessário que os sistemas de ordenha e coleta sejam eficientes, por estarem ligados diretamente com elementos que afetam parâmetros físico-químicos e a segurança do alimento. Além de ter um manejo adequado, com higiene, e sido adquirido de animais saudáveis, é indispensável o armazenamento do leite sob refrigeração, tanto na propriedade quanto no transporte ao laticínio (FRANÇA *et al.*, 2015).

### **2.2 ASPECTOS NUTRICIONAIS DO LEITE**

O leite sempre foi utilizado na alimentação pelo homem por se tratar de uma fonte de proteína, gordura, carboidrato e outros elementos de ótimo valor nutricional. Todo mamífero o tem como primeiro alimento por ser completo quando se trata de nutrientes (MOURA, SOUZA, FERREIRA e RIZZATTI, 2017).

De acordo com Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018, o leite cru refrigerado deve apresentar mínimo de 3% de gordura, 8,4% de extrato seco desengordurado, 2,9% de proteína, 4,3% de lactose anidra. Deve ainda ter uma acidez titulável entre 14 e 18°D, uma densidade relativa à 15°C entre 1,028 a 1,034g/mL e um índice crioscópico variando entre -0,530°H a -0,550°H.

O leite contém vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K) e hidrossolúveis (B1, B2 e C), além de sais minerais como sódio, cálcio, potássio e magnésio (MENEZES *et al.*,

2014). Existem diversas proteínas, mas a de maior relevância no leite é a caseína, com 85% da proteína total (COSTA NETO, NARDI JUNIOR e MARTINS, 2019).

### **2.3 PRODUTIVIDADE DO LEITE NO BRASIL**

O ano de 2018 se destacou na produção de leite no mundo com cerca de 843 bilhões de litros produzidos. O resultado pode ser explicado pela implantação de tecnologias, manejos nutricionais e sanitários adequados (EMBRAPA 2018a).

Várias são as fontes de renda da economia brasileira, dentre elas se destaca a pecuária leiteira, que é disseminada em todo país e responsável por grande fonte de renda e fornecimento de emprego a milhares de pessoas. Em um número estimado no ano de 2017, mais de 4 milhões de empregos foram distribuídos em suas diversas áreas, fato comprovado por uma pesquisa feita pelo IBGE. Nesta pesquisa ainda foi destacado o resultado bruto da produção: acima de R\$ 27,2 bilhões, fazendo que o leite se enquadre no sexto lugar entre os produtos com maior produção (EMBRAPA, 2018b).

Para melhor compreensão dos dados da produção leiteira mundial, bem como as contribuições dos avanços tecnológicos nesse processo produtivo, é necessário analisar de forma específica cada continente de modo a permitir melhor entendimento nos aspectos como investimento econômico e tecnológico que justifique ascensão produtiva (EMBRAPA, 2018a).

Cada vez mais o mundo se depara com forte crescimento na produção agropecuária, especificamente na produção leiteira, o destaque entre os continentes vai para a Ásia que desponta com 40% da produção mundial em 2017 segundo dados da EMBRAPA (2018a).

Ao se analisar os dados de produção leiteira na América do Sul é possível visualizar o percentual de 8% da produção mundial, possuindo o leve crescimento de 2,7% em 2017 com relação a 2016, sendo o Brasil o maior produtor, com aumento gradativo ano a ano (EMBRAPA, 2018a).

Entre os anos de 1974 à 2014 o Brasil se destacou mundialmente na produção leiteira, com constante crescimento. No biênio 2015 e 2016 houve um declínio na produtividade do leite, tal fato, pode ser justificado pela crise econômica que o país viveu nesse período (EMBRAPA, 2018c).

As variações do mercado lácteo no Brasil ocorrem por questões econômicas externas e internas, como o consumo, preço do leite e derivados, tanto no atacado

quanto no varejo, custo de produção, importação e exportação de leite e derivados (EMBRAPA, 2018c).

No ano de 2017 constatou-se contínuo crescimento da produção de leite na região sul, que se manteve no primeiro lugar dentre as outras regiões brasileiras, produzindo cerca de 12.626 milhões de litros de leite. Tamanha quantidade se dá por comportar três grandes estados produtores, Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Apesar de estar no segundo lugar com 11.267 milhões de litros, no sudeste encontramos o estado que mais produziu, Minas Gerais se destacou com 8.814 milhões de litros, o que representa 27% da produção do país (EMBRAPA, 2018c).

Segundo o IBGE, no Brasil, em 2017, foi estimado o número 18,6 mil vacas ordenhadas. O rebanho leiteiro tem diminuído em quantidade nas regiões do Brasil, com exceção da região Sul, que aumentou 23,3% no decênio de 2006 a 2016 (EMBRAPA, 2018c).

## **2.4 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE**

Podem ser encontrados no leite microrganismos psicrótrófos, que podem crescer de 0 a 15°C, microrganismos mesófilos, com crescimento de 20 a 30°C e microrganismos termófilos, que se multiplicam em temperaturas de 50 a 60°C. Existem poucas bactérias termófilas, mas elas podem se desenvolver quando o leite atinge altas temperaturas, aumentando a sua quantidade (SANTOS, 2016).

O sabor, odor e vida de prateleira do leite podem ser alterados pela existência de bactérias, sendo assim a refrigeração logo após a ordenha, a 4°C, é importante para limitar o crescimento microbiano, entretanto, os microrganismos psicrótrófos são capazes de se multiplicar após 72 horas nessa temperatura (PEIXOTO *et al*, 2016).

A multiplicação das bactérias leva a mudanças químicas nos teores de sólidos do alimento, por consequência as características nutricionais do leite são modificadas (LUZ, SILVA, MARCIEL e OLIVEIRA, 2020). Os microrganismos consomem esses nutrientes diminuindo a qualidade do produto, por exemplo, a ação proteolítica de *Bacillus* sp., *Proteus* sp. e *Pseudomonas* sp. degrada a caseína formando peptídeos e por consequência aminoácidos. *Pseudomonas fluorescens* e *Achromobacter lipolyticum* quebram lipídeos formando glicerol e ácidos graxos, através da fermentação butírica (MENEZES *et al*, 2014). A variação da temperatura

acima do recomendado favorece o desenvolvimento de bactérias aeróbias mesófilas capazes de fazer a fermentação da lactose, acidificando o leite (SEQUETTO *et al.*, 2017).

Os microrganismos psicotróficos incluem bolores, leveduras dos gêneros *Candida*, *Saccharomyces*, *Rhodotorula*, *Torulopsis* e *Trichosporon* e bactérias das classes *Gammaproteobacteria*, *Bacilli*, e *Actinobacteria*, principalmente dos gêneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter* (*Gammaproteobacteria*), *Leuconostoc*, *Lactococcus* (*Bacilli*), e *Microbacterium* (*Actinobacteria*). As *Pseudomonas* são um grupo predominante capaz de causar alto grau de deterioração do leite. Na legislação não há limite para presença de microrganismos psicotróficos, mas quando a produção ocorre de maneira higiênica, estes microrganismos não passam de 10% do total de microrganismos mesófilos do leite (FELIPUS, 2017).

Existem microrganismos que não causam deterioração e ainda podem ser benéficos para a produção de derivados lácteos, como é o caso do gênero *Lactobacillus*, que produzem ácido lático a partir da lactose e, no caso da fabricação do queijo, esse agente ajuda na maturação e produz diacetil e acetaldeído, que proporcionam aroma e sabor aos produtos (SANTOS, 2016).

## 2.5 AVALIAÇÕES DE QUALIDADE

É importante fazer a avaliação da qualidade do leite para garantir que o consumidor estará ingerindo um produto dentro das exigências estabelecidas. Dentre as avaliações encontra-se a prova do álcool para medir a estabilidade térmica do leite e o teste de acidez titulável que mede a concentração de ácido lático (quando o leite está ácido significa que a contagem bacteriana está alta). O pH do leite que acabou de ser ordenhado deve ficar entre 6,4 e 6,8 e uma variação desse valor reflete a qualidade sanitária e estabilidade térmica do leite. A avaliação de densidade determina o peso do leite, medida pela concentração de substâncias em suspensão e solução (gordura, proteínas, carboidratos e minerais). O extrato seco total abrange os sólidos do leite, enquanto o extrato seco desengordurado abrange os sólidos subtraindo a gordura (COSTA NETO, NARDI JUNIOR e MARTINS, 2019).

A contagem bacteriana total (CBT) é feita por diluições decimais seriadas e mostra o potencial de multiplicação bacteriana na matéria-prima durante o armazenamento (MENEZES *et al.*, 2014). Os principais microrganismos que compõem a CBT são as bactérias do grupo dos psicotróficos, como as

*Pseudomonas*, termodúricos, capazes de sobreviver ao processo de pasteurização, e os coliformes (ALMEIDA, 2013).

A temperatura e o tempo de armazenamento estão ligados à multiplicação microbiana e, por consequência, alteram a CBT. Estudos realizados em propriedades leiteiras comprovaram que o aumento da CBT de amostras foi causado pela distância dos postos de refrigeração, fazendo assim a relação com intervalo de tempo da ordenha, refrigeração e CBT (MENEZES *et al*, 2014).

É comum que diferentes propriedades de uma mesma região armazenem o leite produzido em tanques de expansão coletivos, onde o caminhão isotérmico recolhe o produto em dias alternados. Entretanto, por misturar leite de propriedades distintas, tanques de expansão comunitários podem apresentar leite com alta CBT, sendo necessária a implantação de medidas que reduzam a carga microbiana (FRANÇA *et al*, 2015).

O tanque de expansão direta visa refrigerar o leite cru a temperatura de 4°C, em até 3 horas após o término da ordenha das vacas (BRASIL, 2018b), essa temperatura mantém a qualidade do leite quando se trata de CBT, pois a 4°C ocorre desaceleração da multiplicação e da atividade metabólica das bactérias mesófilas por tempo determinado. Mesmo em taxas baixas, as bactérias psicrótróficas continuam crescendo em baixas temperaturas, mas tratamentos térmicos (pasteurização, UHT, esterilização) as inativam. Entretanto enzimas produzidas por elas antes do aquecimento (proteases e lipases) não são destruídas, levando a deterioração, como alteração de cor, odor e sabor amargo no leite (FELIPUS, 2017).

A presença de coliformes termotolerantes no leite indica contaminação de origem fecal, o principal microrganismo pertencente a esse grupo é a *Escherichia coli*. A existência desse agente leva a perdas na qualidade do produto e consequentemente prejudica a saúde do consumidor (SANTOS, GAZOLA, SILVA e MATOS, 2017).

O leite produzido nas fazendas brasileiras é destinado a tanques de refrigeração onde deve atingir a temperatura máxima de 4°C proposta pela legislação. (BRASIL, 2018b). Na propriedade rural são coletadas amostras para mensuração de alguns parâmetros de qualificação do leite, tais parâmetros apresentam limites máximos e mínimos fixados pela legislação nas Instruções Normativas n° 76 e 77. Compete a esse leite apresentar médias trimestrais de Contagem Padrão em Placas (ou Contagem Bacteriana Total, ou Contagem Total de

Mesófilos) de no máximo 300.000 UFC/ml (trezentas mil unidades formadoras de colônia por mililitro) e de Contagem de Células Somáticas de no máximo 500.000 CS/ml (quinhentas mil células por mililitro). Caso não seja respeitado esses parâmetros, o estabelecimento deve interromper a coleta na devida propriedade (BRASIL, 2018a).

O leite cru refrigerado, na propriedade rural será captado por caminhão de tanque isotérmico em até 48 horas, com mangueira e bomba sanitárias, em circuito fechado. Há exigências para os tanques isotérmicos serem construídas em aço inoxidável austenítico.

Realizar alguns procedimentos, adotar novos métodos e boas práticas nas propriedades rurais são algumas estratégias que contribuem para melhoria na qualidade do leite e torná-lo mais seguro ao consumidor, dentre elas cita-se o planejamento funcional da propriedade, organização dos equipamentos e instalações, higienização da sala de ordenha antes, durante e após a obtenção do leite, manutenção dos equipamentos de ordenha (de acordo com as recomendações do fabricante) e capacitação dos operadores para as tarefas diárias (BRASIL, 2018b).

A contaminação do leite por microrganismos é um fator importante durante a ordenhado mesmo, sendo assim algumas medidas podem ser incluídas na rotina das fazendas leiteiras para minimizar a quantidade de bactérias e sujidades no leite, podemos mencionar a lavagem dos tetos apenas quando houver acúmulo de matéria orgânica, teste da caneca de fundo escuro para detecção de mastite clínica, realização de pré e pós-dipping e secagem adequada dos tetos (GONÇALVES, TOMAZI e SANTOS, 2017).

## **2.6 PRINCIPAIS MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS**

Segundo Oliveira (2017a), a contaminação do leite por bactérias pode ocorrer através do próprio animal, do ambiente e pela linha de produção. De qualquer forma essa contaminação vai acontecer por conta de uma falha higiênica na hora da obtenção do alimento. Todas as partes dessa produção devem ser analisadas, desde a saúde das vacas, a água utilizada na limpeza de equipamentos e utensílios de ordenha até a higiene do próprio ordenhador, além da temperatura de armazenamento após a ordenha nos tanques e no caminhão isotérmico.

Alguns patógenos no leite cru podem acarretar doenças ao consumidor, como é o caso da *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* (SANTOS, 2016).

### **2.6.1 *Staphylococcus aureus***

As bactérias da espécie *S. aureus* são gram-positivas, aeróbias facultativas, não formadores de esporos. Presentes na pele e mucosas de animais e humanos normalmente e encontrados contaminando alimentos como o leite (SANTOS, 2016), podem ser inativados em tratamentos térmicos, mas as enterotoxinas produzidas por estes microrganismos são resistentes a pasteurização e esterilização do leite, podendo causar intoxicação alimentar no seres humanos. São microrganismos mesófilos com temperatura ótima de crescimento de 37°C a 40°C, e pH ótimo entre 6 e 7 (SANTANA, 2015).

O leite é contaminado por *S. aureus* através do próprio animal, principalmente quando a vaca apresenta mastite, durante a ordenha e pelo ambiente. A ingestão pelo homem das enterotoxinas presentes no leite leva a intoxicação estafilocócica, com náuseas, vômitos, cólicas abdominais e prostração (SANTOS, 2016).

### **2.6.2 COLIFORMES TOTAIS**

Os coliformes totais são encontrados no intestino de animais e humanos, sendo assim podem ser isolados das fezes. São bactérias aeróbias ou anaeróbias facultativas, não esporuladas, gram-negativas. Dentro desse grupo encontra-se a *Escherichia coli*, que é um coliforme termo tolerante com capacidade de fermentar lactose entre 44°C e 45°C e sua presença em alimentos de origem animal indica erros na manipulação e armazenamento. A *E. coli* exibe temperatura ótima de 37°C e multiplicação em pH de 4,5 a 9. A contaminação com *E. coli* leva a infecção intestinal que pode variar de diarreias leves até colite enterohemorrágica (SANTOS, 2016).

### **2.6.3 *Listeria monocytogenes***

O gênero *Listeria* é catalase positiva, oxidase negativa, fermentador de glicose. A principal espécie desse grupo encontrado no leite é a *Listeria monocytogenes*, que é capaz de se multiplicar de 2,5 a 45°C e sobrevive a pH de 5,5 a 9,6. Essa bactéria pode estar presente nos alimentos e na água e consegue

sobreviver ao congelamento e descongelamento e à desinfecção, entretanto, é sensível a pasteurização. É um microrganismo capaz de formar biofilmes, fato importante quando se trata de leite, tendo em vista que ela pode formar esse biofilme em equipamentos industriais, inclusive no próprio tanque de expansão.

A infecção por *L. monocytogenes* em humanos está relacionada, na maioria das vezes, à ingestão de leite cru contaminado. Os sinais são inespecíficos, mas podem evoluir para gastroenterites, meningite, septicemia, abortamentos, entre outras manifestações (OLIVEIRA, 2017a).

#### **2.6.4 *Salmonella* spp.**

Bactérias do gênero *Salmonella* apresentam temperatura ideal de crescimento entre 35°C e 37°C, mas podem se desenvolver até 49,5°C (PEREIRA *et al.*, 2016), são bacilos retos, gram-negativos, anaeróbios facultativos, pertencente à família *Enterobacteriaceae*. A salmonelose causa quadros gastrointestinais graves, e a infecção humana está ligada ao consumo de leite e produtos lácteos contaminados (LUZ, SILVA, MARCIEL e OLIVEIRA, 2020).

A bactéria do gênero *Salmonella* se apresenta nos seres humanos e animais como uma bactéria entérica patogênica que leva a surtos de intoxicações alimentares quando há ingestão de alimentos e água contaminados com esse agente, por este motivo é necessário garantir a inocuidade dos alimentos (PEREIRA *et al.*, 2016).

### **3. METODOLOGIA**

O trabalho em questão trata-se de um estudo experimental. De acordo com Dutra e Reis (2016) o estudo experimental busca testar hipóteses a partir da manipulação de variáveis que podem influenciar nos resultados da pesquisa.

#### **3.1 Amostras**

Foram coletadas 6 amostras de leite de 10 ml, uma amostra para cada tempo de análise, sendo 1 hora, 2 horas, 3 horas, 4 horas, 24 horas e 48 horas após a coleta das amostras. Foi utilizado o tempo de 3 horas, pelo fato de ser o tempo máximo para o leite alcançar 4°C após o término da ordenha e o tempo de 48 horas foi escolhido por ser o tempo máximo que o leite pode permanecer no tanque de expansão até a coleta pelo caminhão isotérmico, segundo a Instrução Normativa n°

77, de 26 de novembro de 2018. Os outros tempos foram escolhidos de forma aleatória para mostrar a evolução da contagem bacteriana total. As amostras foram coletadas diretamente dos latões que armazenam temporariamente o leite após a ordenha. Tal coleta ocorreu em uma fazenda, localizada em Granada, distrito de Abre Campo – MG, no dia 21 de abril de 2021.

O procedimento para coleta de amostras de leite para contagem bacteriana total foi feito com base no documento de Dias e Antes (2012), intitulado “Procedimentos para a coleta de amostras de leite para contagem de células somáticas, contagem bacteriana total e detecção de resíduos de antibióticos”.

A coleta do leite no latão foi feita após a agitação para a homogeneização dos componentes do leite, incluindo glóbulos de gordura, células somáticas e bactérias. A coleta foi feita com uma concha devidamente higienizada e as amostras de leite foram colocadas em frascos esterilizados.

Logo após a coleta as amostras foram colocadas em caixas isotérmicas com gelo, com temperatura máxima de 7°C, e encaminhadas para o laboratório de Microbiologia do Hospital Veterinário Gardingo, situado em Matipó - MG.

### **3.2 Avaliação Microbiológica e dos Sólidos**

Para realização das análises foi adotado o método descrito por Guerra (2016). Para observar a qualidade microbiológica em diferentes momentos, foi utilizada a contagem padrão em placa.

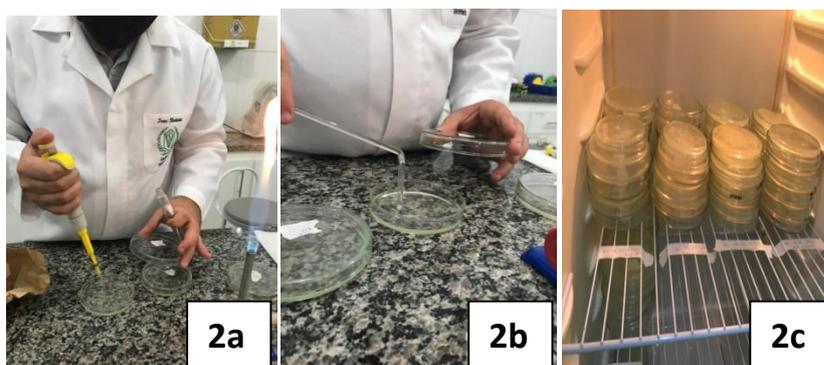
Para esse método retirou-se 1 ml de cada amostra (Figura 1a) e acrescentou-se em um recipiente com 9mL de solução salina a 0,85% (Figura 1b) esterilizado por meio de autoclave conforme mostra a Figura 1c e posterior homogeneização, sendo proporcional a uma diluição de  $10^{-1}$ , homogeneizou-se e repetiu-se o procedimento até  $10^{-5}$ .

Ao final das diluições coletou-se 0,1 ml de cada diluição, homogeneizada com a utilização do vórtex (Figura 1d), e adicionou-se na superfície seca do Plate Count Agar, espalhando de forma homogenia (Figura 2a e 2b), foram usadas 3 placas para cada diluição e em cada tempo de análise. Com intuito de favorecer o crescimento microbiano, as amostras foram incubadas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , por 48 horas (Figura 2c). Após este intervalo de tempo selecionou-se placas contendo entre 30 e 300 colônias. Enumerou-se as colônias formadas nas 3 placas da diluição selecionada,

calculou-se a média dos resultados obtidos nas 3 placas e expressou-se o resultado em unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/ml).



**Figura 1a:** Meios de cultura e solução salina sendo auto clavadas; **Figura 1b:** Retirando 1 ml da amostra com ponteira estéril; **Figura 1c:** Acrescentou a amostra de 1 ml na solução salina a 0,85%; **Figura 1d:** Com auxílio do vórtex homogeneizou a solução.



**Figura 2a:** Amostra de 0,1 ml sendo colocada nas placas com ágar sólido; **Figura 2b:** Amostra sendo espalhada de forma homogênea por toda a placa; **Figura 2c:** Placas na estufa por 48 horas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

A avaliação do teor de sólidos do leite foi feito através do analisador de leite da marca Master Complete, um equipamento capaz de fornecer a concentração de sólidos através de uma amostra de 5 ml, o aparelho consegue detectar além dos sólidos, a densidade, o ponto de congelamento, adição de água e condutividade, entretanto no trabalho em questão foi utilizado apenas as concentrações de sólidos (gordura, proteína, lactose e sais) e a densidade.

### 3.3 Análise e processamento dos dados

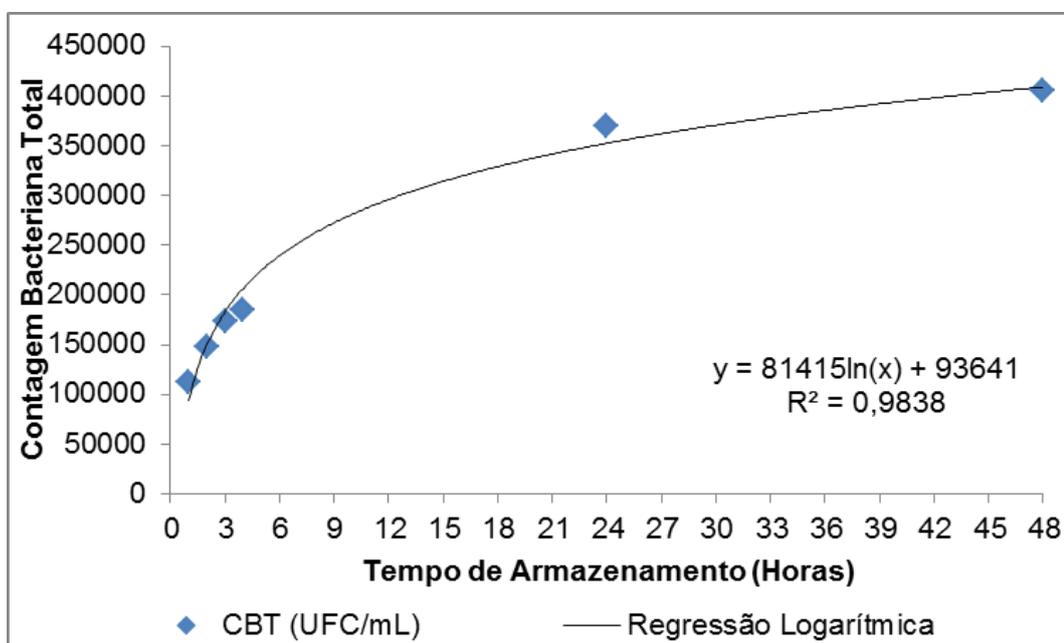
Os dados obtidos foram organizados no Microsoft Office Excel e a partir das tabelas foram criados gráficos para melhor visualização dos resultados, que posteriormente foram avaliados de forma descritiva e por meio de análise de regressão.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A avaliação microbiológica das amostras revelou um crescente aumento no número de colônias com o passar do tempo de armazenamento do leite cru, mesmo com a temperatura correta estabelecida pela legislação. Na Tabela 1 estão expressos resultados da contagem padrão em placa e, a partir desses dados, foi elaborada uma análise de regressão logarítmica para determinar a tendência de evolução da CBT em função do tempo de armazenamento do leite cru refrigerado (Figura 3).

**Tabela 1:** Análise microbiológica do leite produzido em uma fazenda localizada no distrito de Granada, no município de Abre Campo, MG.

Tempo (h)	Temperatura (°C)	CBT (UFC/mL)
1	8	112500
2	6	148000
3	7	174000
4	3	185000
24	4	370000
48	2,5	405000



**Figura 3:** Curva de regressão da contagem bacteriana total em função do tempo de armazenamento do leite.

Ao analisar a Figura 3, podemos observar que a tendência foi de aumento da CBT em função do tempo de armazenamento do leite. A curva da regressão logarítmica explica o comportamento da CBT. Essa curva de tendência é obtida pela

fórmula  $y = 81415 \ln(x) + 93641$ , onde  $y$  é a CBT e  $x$  é o tempo de armazenamento. O coeficiente de determinação por ( $R^2$ ) mostra o quanto a regressão logarítmica explica a evolução da contagem bacteriana total, quanto mais próximo de 1 estiver o valor de  $R^2$ , melhor o modelo explica a tendência; como no trabalho em questão  $R^2 = 0,983$ , significa que 98,3% dos dados são explicados através da equação, sendo a regressão logarítmica o método de regressão mais adequado para a interpretação dos dados. Desse modo, confirma-se que houve uma alta tendência de aumento da CBT em função do tempo de armazenamento do leite.

Ao observar a Tabela 1 constata-se que a primeira hora pós-ordenha, apesar de a temperatura ter sido a mais alta se comparado às outras análises, o leite apresentou a menor contagem microbiológica. Desde a primeira análise após a coleta do leite a contagem padrão em placa aumentou progressivamente.

Segundo Leite (2006), amostras com até 10°C podem ser armazenadas por até sete dias, com adição de conservante, sem que ocorram alterações importantes na contagem padrão em placa, entretanto, no presente trabalho não foi utilizado nenhum tipo de conservante e por conta disso, mesmo mantendo as amostras a temperaturas inferiores a 10°C houve aumento, principalmente nas horas 24 e 48.

Quando o leite é armazenado por um longo período de tempo em uma temperatura de 7°C e apresentar uma contagem bacteriana total inicial alta, pode influenciar diretamente o produto lácteo final, podendo o leite pasteurizado, leite UHT e queijos sofrerem alterações pela presença de enzimas extracelulares de bactérias psicotróficas como as *Pseudomonas* spp. Essas bactérias são capazes de produzir enzimas lipolíticas e proteolíticas termoresistentes, que mantêm sua função mesmo após a pasteurização ou tratamento UHT do leite (SANTOS *et al.*, 2009).

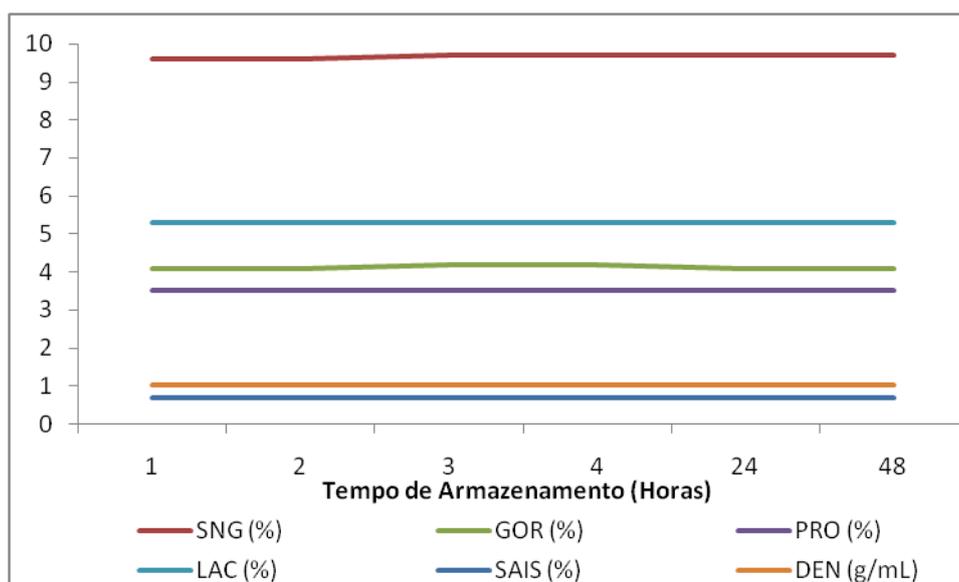
Segundo Santos *et al.* (2009) é justificado o progressivo crescimento na contagem bacteriana das amostras, apesar da baixa temperatura. A chance das amostras em questão estarem contaminadas com bactérias psicotróficas é alta, pois são microrganismos comuns de serem encontrados na água, solo, poeira, vegetação e fezes. O que reforça o pressuposto de contaminação, sendo que a água utilizada para higienizar os equipamentos de ordenha não passou por nenhum processo de tratamento antes.

Ao analisar os resultados obtidos e compará-los com o limite de microrganismos por ml de leite aceito pela legislação brasileira, que é 300.000 UFC/ml, o leite em questão não poderia ser utilizado se fosse recolhido 24 e 48

horas após a ordenha, por apresentarem resultados superiores ao permitido, o que não foi observado nas quatro primeiras horas. Porém a referência estipulada pela Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018, é de uma média trimestral e não de um único dia como os dados do presente trabalho.

Os teores de sólidos apresentaram relativa homogeneidade no período de análise conforme se evidencia na Figura 4. Em relação à composição química, os resultados foram adequados, levando em conta a Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018, que estabelece o mínimo de 3% de gordura e todos os resultados se apresentaram maiores ou igual a 4,10%. A legislação ainda estabelece o mínimo para sólidos não gordurosos de 8,4% e o leite em questão estava entre 9,6% e 9,7%. Isso é explicado pelo fato de proteína, lactose e sais também estarem maiores do que é exigido pela legislação. A proteína se manteve com 3,5%, a lactose se manteve com 5,3% e os sais se mantiveram com 0,7%.

Além de se apresentarem altas as porcentagens de lactose e sais, os valores desses componentes também se mantiveram durante as 6 análises, isso se explica porque a lactose e os sais são componentes que sofrem pouco com a variação de tempo e temperatura (ALMEIDA *et al.*, 2016).



**Figura 4:** Análise do teor de sólidos do leite produzido em uma fazenda em Granada, distrito do município de Abre Campo, MG.

Segundo Oliveira *et al.* (2017b), comumente é encontrada uma redução das concentrações de gordura quando existe um aumento de CBT, resultante da

atividade de fosfolipases liberadas pelos microrganismos psicotróficos. Cabral *et al* (2016) reitera que o aumento da CBT leva a um aumento de proteína por conta da quebra de lactose e gordura, corroborando com Oliveira *et al.* (2017b), que relata que a CBT reduz a concentração de gordura do leite. Entretanto, no presente trabalho não ocorreu essa redução na concentração de gordura e nem aumento na concentração de proteína, podendo ser explicado pelo tempo máximo de análise do produto (48 horas).

Ainda como mostra a Figura 4, a densidade se manteve com 1,03 g/ml durante todas as análises, sendo um resultado coerente, tendo em vista que a densidade aumenta com o aumento de proteína, lactose e sais minerais de acordo com Dias e Antes (2014), como esses 3 constituintes se mantiveram constantes durante todas as análises é de se esperar que a densidade também se mantivesse constante.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando os dados obtidos, concluiu-se que, mesmo mantendo a temperatura, durante o tempo determinado pela legislação, a quantidade de microrganismo elevou-se, revelando um crescimento maior a partir das 24 horas de armazenamento, confirmando que, apesar da baixa temperatura, o tempo de armazenamento do leite cru influencia na sua contagem bacteriana total. Entretanto em relação aos sólidos, mesmo com CBT alta, eles se mantiveram constantes, indicando que mesmo 48 horas após a ordenha, mantendo o leite refrigerado em até 4°C, ele poderia ser utilizado, considerando apenas o teor de sólidos. Mesmo que o leite tenha ultrapassado 300.000 UFC/ml antes das 48 horas, de acordo com a legislação, esse leite poderia ser utilizado, desde que a média trimestral geométrica não passe de 300.000 UFC/ml.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Thamara Venâncio de. **Parâmetros de qualidade do leite cru bovino: contagem bacteriana total e contagem de células somáticas**. Dissertação para mestrado em ciência animal. Orientador: Edmar Soares Nicolau. Escola de Veterinária e Zootecnia. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2013.

ALMEIDA, Thamara Venâncio de *et al.* Efeito da temperatura e do tempo de armazenamento de amostras de leite cru nos resultados das análises

eletrônicas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.68, n.5, p.1316-1324, Goiânia, 2016

BRASIL. **Decreto nº 9013, de 29 de março de 2017**. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Secretaria-Geral. Brasília, DF. 2017. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2015-2018/2017/Decreto/D9013.htm#art541](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2015-2018/2017/Decreto/D9013.htm#art541). Acesso em: 01 de dez. de 2020

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018**. Regulamenta a lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Brasília, DF. 2018a. Disponível em: [https://www.in.gov.br/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076](https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076)< Acesso em: 26 de set. de 2020

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 77, de 26 de novembro de 2018**. Regulamenta a lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Brasília, DF. 2018b. Disponível em: [https://www.in.gov.br/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750141/do1-2018-11-30-intrucao-normativa-n-77-de-novembro-de-2018-52749887](https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750141/do1-2018-11-30-intrucao-normativa-n-77-de-novembro-de-2018-52749887). Acesso em: 26 de set. de 2020

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 55, de 23 de setembro de 2020**. Altera a Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. Brasília, DF. 2020. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-55-de-30-de-setembro-de-2020-280529682>. Acesso em: 01 de dez. de 2020.

CABRAL, Jakeline Fernandes *et al.* Composição química do leite refrigerado em função das contagens de células somáticas e contagem bacteriana total. **Ciência Animal**, p. 03-12, 2016.

COSTA NETO, Cid de Almeida; NARDI JUNIOR, Geraldo de; MARTINS, Edson Aparecido. Composição e característica físico-químico do leite recebido em um laticínio no interior de São Paulo. In: **VIII JORNACITEC - Jornada Científica e Tecnológica**. Botucatu – São Paulo, 2019.

DIAS, Juliana Alves; ANTES, Fabiene Goldschidt; Procedimentos para a coleta de amostras de leite para contagem de células somáticas, contagem bacteriana total e detecção de resíduos de antibióticos. **Embrapa**. ISSN: 0103-9865; out. Porto Velho – Rondônia, 2012.

DIAS, Juliana Alves; ANTES, Fabiene Goldschidt; Qualidade físico-química, higiênico-sanitária e composicional do leite cru: indicadores e aplicações práticas da

Instrução Normativa 62. **Embrapa**. ISSN: 0103-9865; out. Porto Velho – Rondônia, 2014.

DUTRA, Herica Silva; REIS, Valesca Nunes dos. Desenhos de estudos experimentais e quase-experimentais: definições e desafios na pesquisa em enfermagem. **Journal of Nursing UFPE/Revista de Enfermagem UFPE**, ISSN: 1981- 8963, v. 10, n. 6. Recife, 2016.

EMBRAPA - **A Nova Pecuária Leiteira** – Produção Mundial de Leite em 2018. p. 7. Recife. 2019. Embrapa de Embrapa Gado de Leite, ISSN versão *online*. 2018a. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/337009265\\_PRODUCAO\\_MUNDIAL\\_DE\\_LEITE\\_EM\\_2018\\_-\\_WORLD\\_PRODUCTION\\_OF\\_MILK\\_IN\\_2018](https://www.researchgate.net/publication/337009265_PRODUCAO_MUNDIAL_DE_LEITE_EM_2018_-_WORLD_PRODUCTION_OF_MILK_IN_2018). Acesso em 26 de set. de 2020

EMBRAPA - **Evolução tecnológica da atividade leiteira no brasil: Uma visão a partir do sistema de produção**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2018b. ISSN 1516-7453 versão *online*. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1098303/evolucao-tecnologica-da-atividade-leiteira-no-brasil-uma-visao-a-partir-do-sistema-de-producao-da-embrapa-gado-de-leite>.

EMBRAPA - **Anuário de leite 2018**. São Paulo: Embrapa Gado de Leite, 2018c. ISSN versão *online*. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/36560390/anuario-do-leite-2018-e-lancado-na-agroleite#:~:text=S%C3%A3o%207.478%20litros%2Fvaca%2Fano,Anu%C3%A1rio%20Leite%202018%2C%20cliq>.

FELIPUS, Nadine Cristina. **Impacto do transporte a granel na qualidade microbiológica e físico-química e na composição do leite cru refrigerado em indústria de laticínios**. Orientador: André Thaler Neto. 2017. 93 f. Dissertação (Pós-graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias) - Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Lages, 2017.

FRANÇA, Arthur Inácio Medeiros de *et al.* Qualidade do leite cru refrigerado granelizado coletado no sudoeste goiano. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 70, n. 6, p. 316-325, 2015

GONÇALVES, Juliano Leonel; TOMAZI, Tiago; SANTOS, Marcos Veiga dos. Rotina de ordenha eficiente para produção de leite de alta qualidade. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 15, n. 2, p. 9-14. Pirassununga - São Paulo, 2017.

GUERRA, André Fioravante; **Métodos de contagem microbiana**. 1ª Edição, 28 p. Valença, 2016. Disponível em: <http://files.microbiologia-de-alimentos.webnode.com/200000184-5c3f35d384/M%C3%A9todos%20de%20contagem%20microbiana.%20Valen%C3%A7a,%201%C2%AA%20Edi%C3%A7%C3%A3o,%202016,%2028p.pdf>. Acesso em: 08 de out. de 2020

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da Pecuária Municipal 2018**. Rio de Janeiro. v. 46, p. 4. 2019. Disponível

em:[https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm\\_2018\\_v46\\_br\\_informativo.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2018_v46_br_informativo.pdf). Acesso em: 26 de set de 2020

LEITE, Mônica de Oliveira. **Fatores interferentes na análise eletrônica da qualidade do leite cru conservado com azidiol líquido, azidiol comprimido e bronopol**. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Orientador: Nelio Jose de Andrade. Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, f. 63, Belo Horizonte, MG, 2006.

LUZ, Dirce Ferreira; SILVA, Tamara Ferreira da; MARCIEL, Sirlei Fernandes; OLIVEIRA, Marcus Vinicius Morais de. Incidência de *Salmonella* ssp e *Staphylococcus aureus* no leite de vacas da raça Pantaneira. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 3, p. 973-982, Curitiba, 2020.

MENEZES, Maria Fernanda Cáceres *et al.* Microbiota e conservação do leite. **REGET - Revista eletrônica em gestão, educação e tecnologia ambiental**, v. 18, n. 5, p. 76-89, Santa Maria, 2014.

MOURA, Riane Castro de; SOUZA, Juciel Silva; FERREIRA, Rita de Cássia; RIZZATTI, Ivanise Maria. Análise físico-química e microbiológica do leite cru comercializado em Roraima. **Boletim do Museu Integrado de Roraima (Online)**, v. 11, n. 02, p. 29-38, Roraima, 2017.

OLIVEIRA, Gabriela Capriogli. **Pesquisa de *Listeria monocytogenes* no leite bovino de conjunto de propriedades de agricultura familiar**. Dissertação ao Programa de pós-graduação de Medicina Veterinária para obtenção do título de mestre. Orientador: Felipe de Freitas Guimarães. Botucatu – São Paulo, 2017a.

OLIVEIRA, Nariane Coelho de *et al.* Contagem de células somáticas, contagem bacteriana total e análises físico-químicas do leite produzido na região sul do estado de Goiás. **Colloquium Agrariae**, vol. 13, n. Especial 2, p. 135-141. ISSN: 1809-8215. Jan–Jun. Goiás, 2017b.

PEIXOTO, Aline Leite *et al.* Influência do tipo de ordenha e do armazenamento do leite sobre a composição química, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 71, n. 1, p. 10-18, Juiz de Fora, 2016.

PEREIRA, Juliana Marques *et al.* **Metodologia alternativa para detecção rápida de *Salmonella* ssp. em leite via espectroscopia e quimiometria**. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Orientador: Paulo Henrique Março. Campo Mourão, 2016.

QUEIROZ, Rafael Lennini Lemes *et al.* Contagem bacteriana total do leite cru refrigerado em função do período do ano. **PUBVEST**, 2019. Disponível em:<http://www.pubvet.com.br/artigo/5713/contagem-bacteriana-total-do-leite-cru-refrigerado-em-funccedilatildeo-do-periacuteodo-do-ano>. Acesso em: 26 de set de 2020.

SANTANA, Thiago Coelho de. **Uso do extrato de folhas do Jatobá (*Hymenaea martiana* Hayne) na redução das contagens de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em leite cru.** Dissertação (Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2015.

SANTOS, Priscila Alonso dos *et al.* Efeito do tempo e da temperatura de refrigeração no Desenvolvimento de microrganismos psicrotóxicos em leite Cru refrigerado coletado na macrorregião de Goiânia, Goiás. **Ciência Animal Brasileira.** Goiânia – Goiás. V. 10, n. 4, p. 1237-1245, out./dez. 2009.

SANTOS, Monique Lima dos. **Prevalência de patógenos e de microrganismos indicadores em leite informal e processado comercializados no Recôncavo da Bahia.** Orientador: Ludmilla Santana Soares e Barros. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Cruz das Almas – Bahia, 2016.

SANTOS, Diones Gonçalves dos; GAZOLA, Helen Queite Guterres Barros; SILVA, Olivia Bezerrada; MATOS, Najla Benevides. Análise microbiológica de leite produzido em rondônia e comercializados no município de Porto Velho–RO. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 4, n. 1. Porto Velho, 2017.

SEQUETTO, Priscila Lima *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica de leite cru refrigerado obtido de propriedades rurais da Zona da Mata mineira. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 7, n. 1, Juiz de Fora, 2017.

SILVA, Lorena dos Santos da. **Doenças transmitidas por alimentos com abordagem nos principais microrganismos patogênicos presentes no leite – revisão de literatura.** Orientadora: Tatiana Pacheco Rodrigues. 2018. 11 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2018.

SILVA, Emanuel Isaque Cordeiro da. **A Nova Pecuária Leiteira – Produção Mundial de Leite em 2018.** p. 7. Recife. 2019. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/337009265\\_PRODUCAO\\_MUNDIAL\\_DE\\_LEITE\\_EM\\_2018\\_-\\_WORLD\\_PRODUCTION\\_OF\\_MILK\\_IN\\_2018](https://www.researchgate.net/publication/337009265_PRODUCAO_MUNDIAL_DE_LEITE_EM_2018_-_WORLD_PRODUCTION_OF_MILK_IN_2018)

TAFFAREL, Loreno Egídio, *et al.* **Variação da composição e qualidade do leite em função do volume de produção, período do ano e sistemas de ordenha e de resfriamento.** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, vol. 36, núm. 1, pp. 2287-2299 Universidade Estadual de Londrina. Brasil. 2015.

VASCONCELLOS, Sílvio Arruda e ITO, Fumio Honma. Principais Zoonoses Transmitidas pelo Leite. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia CRMV.** São Paulo. V. 9, nº. 1, p. 32-37. 2011.

VENTURINI, Katiani Silva; SARCINELLI, Maryelle Freire; SILVA, Luís César da. **Características do Leite.** Boletim Técnico, Universidade Federal do Espírito Santo,

Pró-Reitoria de Extensão, Programa Institucional de Extensão, PIE-UFES, v. 1007,  
n. 6, 2007.

ZEFERINO, Edivânia Souza, *et al.* Qualidade do leite produzido no semiárido de Minas Gerais. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.16, n.1, p.54-60. 2016.

## **ISOLAMENTO DE *Rhodococcus equi* EM POTROS DE PROPRIEDADE DO INTERIOR DO ESPÍRITO SANTO**

**Acadêmicos:** Kadson Dos Reis Florindo e Marcus Vinícius Pereira

**Orientador:** Leandro Silva Araújo

### **RESUMO**

A criação de cavalos é uma atividade desenvolvida em todo território brasileiro, de grande importância econômica e social. Das diversas doenças que os equinos apresentam, as doenças bacterianas são de alta incidência nos rebanhos de potros, devido ao grande desafio ao qual são expostos em seus primeiros meses de vida. A bactéria *Rhodococcus equi* é uma bactéria oportunista que pode estar presente na microbiota intestinal dos potros, sendo eliminada nas fezes. Este agente é causador da rodococose, doenças de caráter respiratório de potros. Neste trabalho foram incluídos nove potros, que foram avaliados quanto aos parâmetros semiológicos e submetidos à coleta de amostra da cavidade nasofaríngea. As amostras foram cultivadas em ágar sangue ovino 5% e as culturas testadas para catalase e urease. Os resultados laboratoriais foram sugestivos da presença de *R. equi* em todas as amostras, entretanto, os animais se encontram dentro da normalidade dos padrões semiológicos, o que sugere um estado de carreador assintomático e um ambiente contaminado.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Rhodococcus equi*; Potros; pneumonia.

### **INTRODUÇÃO**

O equino assume um papel importante no agronegócio, pois está diretamente ou indiretamente ligado ao setor agrícola, nas áreas de produtos veterinários e laboratoriais, exposições, reprodução, leilões, atividades esportivas, lazer e equiterapia. O rebanho brasileiro de equinos encontra-se entre os cinco maiores do mundo, tendo um papel bastante significativo na sociedade e na atividade econômica brasileira de empregos, o que tem agregado um grande valor zootécnico a esses animais. Logo, tem se buscado cada vez mais conhecimentos para uma melhor sanidade, manejo e qualidade de vida. Os equinos apresentam diversas doenças em cada faixa etária e diversas etiologias, contudo, ao se tratar de potros, as enfermidades têm sido pouco exploradas. Dentre essas enfermidades, as infecciosas de origem viral, bacteriana e fúngica são grandes causas de morte em potros, devido à vulnerabilidade do sistema imune (DO NASCIMENTO, 2016).

A Rodococose é uma doença infecciosa de grande importância na mortalidade de potros por broncopneumonia abscedante severa. Grandes perdas acontecem nas propriedades que relatam a presença da doença, os prejuízos econômicos mostram-se não apenas na infecção fatal dos animais, mas também no retardo do crescimento,

diminuição da capacidade de trabalho, no alto custo do tratamento e também na queda do valor dos animais afetados (PEIRÓ *et al.*, 2002).

A bactéria *Rhodococcus equi* é considerada oportunista, gram-positiva, intracelular facultativa e encontrada normalmente no trato gastrointestinal de equinos, multiplicando-se facilmente nos solos que recebem esterco desses animais apresentando ampla disseminação em propriedades de criação de equinos (HUBER, 2016). Após sua eliminação no solo e sob condições adequadas de temperatura e umidade, o microrganismo prolifera de forma rápida no ambiente aeróbico das fezes e apresenta boa capacidade de resistência fora do organismo do animal (GUAZZELLI, 2009).

Tendo em vista a importância da identificação da presença do patógeno para a determinação de medidas de prevenção e controle das afecções causadas por ele, este trabalho teve o objetivo de isolar *R. equi* a partir de amostras da cavidade nasofaríngea de potros de uma propriedade criadora de equinos.

## FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### Etiologia

Em 1923, a bactéria *Rhodococcus equi* foi descrita por Magnusson, na Suécia, como *Corynebacterium equi*, com base em um isolado pulmonar de um potro com pneumonia granulomatosa. Este passou a ser um patógeno com importância na medicina veterinária, pois pode causar pneumonia grave com grande frequência em potros entre um a seis meses de vida. Bactérias deste gênero são descritas como cocobacilos pleomorfos fortemente gram positivos, aeróbicos, sem motilidade que contém ácido micólico na parede celular.

Seu gênero pertence ao grupo dos actinomicetos nocardioformes, como *Mycobacterium tuberculosis*. *R. equi* é um microrganismo intracelular que estabelece um nicho específico no interior da célula do hospedeiro e sobrevive através de um desvio da via normal de maturação do fagossomo, apresenta colônias mucóides, branco-acinzentadas, com crescimento visual em 48 horas. Após serem incubadas por períodos prolongados, apresentam coloração salmão, atividade hemolítica, positivo para catalase, urease e nitrato, formando um diâmetro de quase 1 mm. A virulência desse microrganismo está associada ao plasmídeo que se correlaciona com a proteína de superfície Vap (virulência associada a proteína) (GODOI, 2018).

O gênero *Rhodococcus* possui cerca de 27 espécies de bactérias, separadas pela diversidade de metabolismo, aplicação industrial ou potencial em biorremediação. Dentre as espécies do gênero, *R. equi* é a que possui maior potencial patogênico para animais, incluindo os seres humanos. A especificação deste agente como parte do gênero *Rhodococcus* foi bastante discutida, no entanto, foi feita uma análise do genoma sequenciado que demonstra a sua semelhança com o genoma do *Rhodococcus sp*, o que justifica essa afiliação taxonômica (PORTO; FERNANDES; BARREIRA, 2011).

A virulência da bactéria *R. equi* está associada com a capacidade do microrganismo de inibir a fusão fagolisossomal e se multiplicar no interior dos macrófagos, resistindo assim à eliminação pulmonar, hepática e esplênica (KREWER *et al.*, 2008).

Este agente possui basicamente três fatores que conferem essa virulência. O ácido micólico presente na parede celular cujo tamanho da cadeia carbônica pode interferir na virulência, já que cepas contendo ácidos com cadeias longas são letais para camundongos. O “fator equi” considerado o segundo fator, inclui polissacarídeos capsulares, que vão inibir a fagocitose do microrganismo, e exoenzimas como a do colesterol oxidase e a fosfolipase C, que destroem com os tecidos do hospedeiro pela sua acentuada atividade membranolítica. O terceiro fator possibilita a especificação da virulência das cepas de *R. equi* em três classes (GOTOH *et al.*, 1991).

A especificação está ligada com antígenos e plasmídeos expressos na superfície do agente. Cepas virulentas demonstram um plasmídeo que codifica a proteína de superfície VapA, cepas com virulência intermediária expressam a proteína VapB e cepas avirulentas não demonstram antígenos de superfície. A classificação das cepas se dá pelas proteínas, que vão das mais virulentas até a não virulenta, e cada nível é encontrado em diferentes espécies, causando diferentes lesões, com exceção do nível avirulento, que apesar de ser isolado no ambiente e no hospedeiro, não causa nenhum prejuízo ao animal (DO NASCIMENTO, 2016). A proteína VapA é o principal antígeno de virulência codificado por plasmídeo relacionado com a infecção em equinos até então (BYRNE *et al.*, 2001).

## **Epidemiologia**

Bactérias da espécie possuem distribuição global com ampla disseminação em

áreas de criação de cavalos. Os herbívoros são portadores passivos de *R. equi* em seus intestinos, e as cepas virulentas possuem capacidade de colonizar os intestinos dos potros e se multiplicarem. Dessa forma, potros infectados são vistos como a principal fonte de contaminação, disseminando grande fração virulenta de *R. equi* até os três meses de vida. Em condições favoráveis, *R. equi* pode se multiplicar no solo, especialmente em solos com dejetos dos equinos, que proporciona ácidos orgânicos para o crescimento. Temperaturas entre 30°C e 37°C com pH entre 8,5 e 10 são ideais para o crescimento de *R. equi*, podendo sobreviver em condições de temperatura e pH extremos por 12 meses. O pH ideal para replicação é semelhante ao da matéria fecal, sendo esse o pH alcalino. Do mesmo modo, *R. equi* tem a habilidade de codificar as ureases e amidases que, ao liberar amônia, promovem crescimentos em ambientes ácidos (CARRIQUIRY OBES, 2016).

O uso constante de um determinado local para criação de potros aumenta o contágio por *R. equi*, em razão do fornecimento progressivo de nutrientes essenciais para seu crescimento. Além do mais, as temperaturas da época de parição são as mais altas do ano e viabilizam o incremento na proliferação do agente. Potros com 8 a 12 semanas de vida fornecem condições propícias para o crescimento de *R. equi*. A contaminação ambiental está ligada ao número de equinos na propriedade, pois os microrganismos contidos nas fezes ofertam ácidos orgânicos voláteis que potencializam o seu crescimento no solo (MARTINS *et al.*, 2010).

Verões secos e quentes, principalmente em piquete sem cobertura vegetal, apresentam as condições favoráveis para a multiplicação do *R. equi*. As amostras virulentas de *R. equi* são experimentalmente detectadas 17,3 vezes mais no ar empoeirado de estabelecimentos do que quando comparado ao ar de ambientes externos de clima úmido e temperado, o que confirma que a inalação é a principal fonte de infecção pulmonar. Foi confirmada a transmissão por aerossóis provenientes do trato respiratório de potros com ou sem sinais clínicos. A ocorrência de contaminação oral com um número menor de carga bacteriana pode desencadear colonização entérica sem sinais clínicos e a estimulação linfocitária confere a resistência ao agente em equinos adultos a partir de dois a três meses de idade. A contaminação crescente e insidiosa do ambiente se dá devido ao ciclo fecal-oral (OLIVEIRA, 2013).

É uma patologia que, na maioria das vezes, o animal afetado só apresenta sinais clínicos visíveis em um estágio avançado da doença, quando já não é possível tratá-lo. Pode ser sazonal em muitos lugares, algumas propriedades relatam nunca ter tido animais acometidos com a doença, enquanto em outras possuem uma morbidade acima de 40% (HUBER, 2016). A infecção tem maior aparição no período no qual a imunidade passiva não foi transmitida de forma efetiva, e o sistema imunológico do potro recém-nascido está defasado (MARTINS *et al.*, 2010).

A doença possui um período de incubação de 13 a 19 dias, em que, nas três primeiras semanas de vida, seja mais provável a ocorrência da infecção, devido à falha de transferência da imunidade passiva, sendo assim, a chance de o animal contrair a doença aumenta consideravelmente. Por isso, é importante o animal ingerir o colostro em até 8 horas após o nascimento, para que haja a transferência das imunoglobulinas da égua para o potro (DO NASCIMENTO, 2016; GODOI, 2018).

### **Sinais clínicos**

A doença é descrita por uma manifestação lenta com início leve, muitas vezes os sinais clínicos apenas aparecem em uma fase avançada da enfermidade. São descritas duas formas de apresentação clínica da doença, a forma crônica e a subaguda. Na crônica, os animais se mantêm infectados por um longo período (meses), algumas regiões do pulmão que foram acometidas sofrem fibrose, interferindo na capacidade de respirar, já na subaguda ocorre uma pneumonia piogranulomatosa miliar difusa em que os potros vêm a óbito dentro de alguns dias por dificuldade respiratória (GODOI, 2018).

Os principais sintomas clínicos são: esforço respiratório, febre, sibilos na ausculta, crepitações e também os sinais clínicos característicos de trato respiratório acometido como broncopneumonia supurativa crônica, dispneia, tosse produtiva ou não, apatia, corrimento nasal mucopurulento, desinteresse em mamar, osteomielite, abscessos subcutâneos e artrite (BARR, 2006), sendo a osteomielite e abscessos subcutâneos pouco frequentes. A uveíte imunomediada pode ocorrer em até 10% dos potros severamente acometidos (ROSSI, 2011).

Outra particularidade relevante a respeito dessa afecção é que ela pode atacar o aparelho intestinal, causando uma inflamação piogranulomatosa dos linfonodos mesentéricos, diarreia, sendo que 50% dos casos em que ocorrem lesões

respiratórias, o trato intestinal também é acometido (GODOI, 2018).

## **Diagnóstico**

O animal acometido pela rodococose muitas vezes não apresenta os sinais clínicos no princípio da doença, pois uma das características da patogenia é um desenvolvimento lento e sem sinais evidentes, isso faz com que na maioria dos casos a infecção só seja notada quando em estágio avançado. Dessa forma, um diagnóstico rápido é importante (HUBER, 2016).

O diagnóstico pode ser feito através de radiografias do pulmão, hemograma, exame e cultura do lavado traqueal e testes sorológicos. O lavado traqueal associado ao isolamento bacteriano tem sido o método de maior valor, e também o mais indicado. Em casos de suspeita de pneumonia é realizado hemograma, dosagens de bioquímicos para determinação de concentrações de proteínas plasmáticas e fibrinogênio (MARTINS, 2003).

Ultrassonografia e a radiografia não devem ser usadas como diagnóstico definitivo, pois outros patógenos podem causar abscessos semelhantes, como *Streptococcus Zooepidemicus*. Trombocitose e hiperglobulinemia foram relatadas associadas a infecções por *R equi*. Esses exames podem ser utilizados para avaliar a área de acometimento da doença, assim como para acompanhamento da resposta dos medicamentos usados no tratamento (GIGUÈRE *et al.*, 2011).

Para termos um diagnóstico definitivo, é utilizada a cultura bacteriológica ou utilização da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para identificação do gene vapA a partir da coleta de aspiração traqueobrônquica. É fundamental, para se ter esse tipo de diagnóstico, que o animal apresente ao menos sinais clínicos de uma afecção do sistema respiratório inferior. Apesar de a recomendação ser utilizar esses meios de diagnóstico, eles são invasivos e caros para se realizar por veterinários a campo (GODOI, 2018).

## **Tratamento**

O tratamento é tido como difícil, pois o agente causador é muito resistente aos medicamentos. *R. equi* é intracelular facultativo, sendo assim, mais complicado o acesso e a ação dos antimicrobianos. Por muito tempo foi usada a associação de eritromicina e rifampicina, porém, esses fármacos têm muitos efeitos colaterais como:

diarreia, hipertermia e desconforto respiratório. Atualmente temos fármacos macrolídeos mais eficazes, com maior penetração e biodisponibilidade como a azitromicina e claritromicina. Com essa associação, minimiza-se a chance de resistência bacteriana (GODOI, 2018).

De acordo com análise realizada em Santa Maria, Rio Grande do Sul, por pesquisadores da Universidade Federal de Santa Maria, a bactéria se mostrou sensível aos medicamentos azitromicina e claritromicina. Esse resultado foi obtido através de amostras coletadas por vários anos e em locais distintos, e realizado o perfil de sensibilidade do *Rhodococcus equi*, que se apresentou vulnerável em todos os isolados analisados. Já a eritromicina demonstrou 27% de sensibilidade intermediária (BOTTON; GLESSLER, 2015).

As dosagens a serem administradas para o tratamento da rodococose são: 5 mg/kg de rifampicina de 12 em 12 horas concomitante com eritromicina 25mg/kg de 6 em 6 horas ou 8 em 8 horas via oral. Porém, de acordo com estudos realizados e citados acima, o tratamento que tem se mostrado mais eficaz pela estabilidade dos medicamentos é claritromicina 7,5 mg/kg de 12 em 12 horas e azitromicina 10mg/kg de 24 em 24 horas ou 48 em 48 horas. O período de tratamento varia de animal para animal, podendo ser de 3 a 12 semanas, dependendo da condição clínica do mesmo (PORTO; FERNANDES; BARREIRA, 2011).

Durante o tratamento bacteriano é importante realizar um tratamento suporte, fazendo uso de medicamentos anti-inflamatórios, antipiréticos; além disso, é preciso manter o animal hidratado e nutrido; se necessário realizar também nebulizações, a fim de melhorar a ventilação do mesmo (GODOI, 2018).

## **Prevenção**

Os métodos profiláticos da rodococose ainda não são totalmente definidos. Diversos fatores que envolvem a criação e o manejo dos animais podem levar à proliferação da doença. A tática eficaz para dissipar o *R. equi* é a imunidade celular (DEPRÁ *et al.*, 2001). A utilização de plasma hiperimune é uma das opções a serem utilizadas em potros após o seu nascimento, pois o plasma proporciona o aumento de anticorpos no sangue, pois o soro de plasma hiperimune vem de animais que foram vacinados contra *R. equi* (SANZ *et al.*, 2016).

A vacinação das éguas que estão no fim da gestação é a principal forma de

aprimoramento de imunidade passiva, assim, os anticorpos específicos contra o *Rhodococcus equi* são transferidos através do colostro da mãe para o neonato (GODOI,2018).

O colostro é rico em imunoglobulinas que é o único meio de proteção contra os agentes infecciosos durante seu período neonatal, pois não ocorre transferência de imunoglobulinas por via transplacentária em equinos. Os neonatos possuem em seu trato gastrointestinal enterócitos que absorvem por pinocitose moléculas de grande porte como as imunoglobulinas. Entretanto, essa absorção é limitada apenas na fase inicial do seu nascimento, em cerca de 18 a 24 horas de vida, encontrando nas primeiras 6 a 12 horas a fase máxima de absorção (MARTINS, 2003).

Segundo Martins *et al.* (2005), a vacina contra a enfermidade – Rhodovac® – é proveniente de um material solúvel extracelular oriundo da cultura bacteriológica do *R. equi*. O plano de vacinação de éguas prenhes inclui duas doses, em 45 e 15 dias antes da data prevista do parto. Alguns problemas e limitações associados à aplicação da vacina incluem: reação local dolorosa causada pela inoculação subcutânea da vacina por 5-12%; má resposta à vacinação (2-5%), levando a uma transferência passiva insuficiente; e não fornece proteção para potros vacinados em 20, 30 e 40 dias de idade (GUIDI CABRERA, 2016).

Além da vacinação e transferência de imunidade passiva, outra forma de controle e possível prevenção da doença é a detecção precoce da pneumonia causada pelo agente agressor, através da triagem dos animais, pois, se identificada em estágio inicial, terá melhor prognóstico. Essa triagem inclui observação do animal, monitoramento da temperatura, sinais clínicos em relação à pneumonia, padrões hematológicos e sorologia (HUBER, 2016).

## **METODOLOGIA**

### **Coleta de amostras**

Trata-se de um estudo seccional quantitativo que foi feito na propriedade do Sr. Roosevelt Elpídio Florindo, localizada em Criciúma, distrito de Ibatiba, interior do Espírito Santo, onde são criados cavalos da raça Mangalarga Marchador com maior ênfase na marcha batida. Os cavalos são preparados para competições de marcha e morfologia em provas especializadas da ABCCMM – Associação Brasileira

dos criadores do cavalo Mangalarga Marchador.

Mediante a autorização e consentimento do proprietário foi feita uma pesquisa em nove potros, dentre eles machos e fêmeas, nascidos a partir de julho de 2020 até fevereiro de 2021, sendo que três desses potros têm mais de seis meses de idade e seis com idade inferior a seis meses. O estudo teve como objetivo identificar a prevalência de *Rhodococcus equi* naquela determinada propriedade.

Os potros foram divididos em dois grupos.

- Grupo 1: potros que convivem somente com a mãe dentro de uma baia com cama de serragem, presença de bebedouro com boias automáticas e cochos separados para ração, volumoso e sal mineral, sendo feita a limpeza do ambiente semanalmente, com trato de silagem de milho, ração duas vezes ao dia e sal mineral à vontade.
- Grupo 2: os potros e suas mães são mantidos todos juntos em um piquete maternidade com pastagens naturais daquela região, que são o capim-gordura, da família *Poaceae*, da espécie *Melinis minutiflora* e grama Tapete, também conhecida como grama São Carlos, grama Curitiba, grama Sempre Verde, grama Raspim, da família *Poaceae*, da espécie *Axonopus compressus*, administrado apenas um trato de silagem de milho e ração no período da manhã, em cochos coletivos e sal mineral à vontade.

Cada animal foi avaliado individualmente antes da coleta de amostra quanto aos parâmetros físicos (frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura, coloração das mucosas, tempo de preenchimento capilar, palpação de linfonodos e presença de sinais respiratórios), manejo sanitário do local de permanência e histórico de vacinação contra o agente.

### **Avaliação microbiológica**

Para fazer o exame clínico dos potros, o método de contenção escolhido foi um cabresto, causando menor estresse, assim sendo avaliado frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura, mucosa, TPC (tempo de preenchimento capilar), linfonodos, presença ou não de tosse.

Em seguida, as amostras foram coletadas de acordo com as técnicas

assépticas, garantindo a esterilidade e evitando a contaminação por agentes externos. Foram coletadas as secreções do trato respiratório da cavidade nasofaríngea com *swab* absorve, hastes de madeira estéril. Após a coleta, as amostras foram rearmazenadas em suas embalagens, identificadas com o nome dos potros, data e hora da coleta, em seguida, foram armazenadas em caixa térmica e encaminhadas para o Hospital Veterinário Univértix, na cidade de Matipó-MG.

As secreções do trato respiratório foram avaliadas por métodos rotineiros em culturas em ágar sangue ovino 5%, as amostras foram armazenadas em estufa com temperatura de 37°C para o crescimento das bactérias. Após o crescimento, foi realizada coloração de gram. Em seguida, foi realizado o teste de catalase e o teste de urease.

Os fatores de risco avaliados incluíram a idade dos nove potros, o sistema de criação, exame clínico junto ao material que foi coletado, avaliado e determinado a prevalência de *Rhodococcus equi* naquela propriedade. Os dados coletados foram computadorizados com auxílio do Microsoft Word 2016 e em seguida avaliados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Grupo 1	Cultura	Catalase	Urease
---------	---------	----------	--------

As nove amostras isoladas demonstraram cultivo bacteriano sugestivo de *R. equi*, com crescimento em ágar sangue ovino 5%, em condições de aerobiose, a 37°C, após 48 horas, crescimento de colônias mucoides de “gotas de leite” branco-acinzentadas. Em seguida, foi realizada a avaliação microscópica; a caracterização morfológica das bactérias permitiu classificá-las como coccobacilos gram positivos, como descrito para o gênero *R. equi*. Após o crescimento bacteriano ter sido constatado, foram realizados os testes bioquímicos, para os quais observou-se resultado positivo tanto para catalase quanto para urease em todas as amostras conforme Tabela 1.

1	+	+	+
2	+	+	+
3	+	+	+
4	+	+	+
<b>Grupo 2</b>	<b>Cultura</b>	<b>Catalase</b>	<b>Urease</b>
5	+	+	+
6	+	+	+
7	+	+	+
8	+	+	+
9	+	+	+

**Tabela 1:** Resultados de cultura, testes de catalase e urease de amostras da cavidade nasofaríngea dos potros.

Segundo Krewer, *et al.* (2008), a bactéria é de característica aeróbica estrita, encontrada no trato gastrointestinal dos equinos, que em seu ciclo reprodutivo é realizado no intestino delgado, nas primeiras 12 semanas de vida do potro. Nos potros a suscetibilidade para a infecção é relacionada à quantidade de microrganismos inalada ou ingerida, a carência de anticorpos maternos adquirido via colostro nos potros de 1 a 7 meses de vida e sistema imune imaturo, principalmente em nível de resposta celular, tornando o agente um patógeno oportunista.

Em seu estudo, Martins (2003) afirma que a rodococose acomete potros em geral com idade menor que 4 meses de idade, onde a susceptibilidade dos potros à doença está associada a fatores com a exposição a um grande número de microrganismos, especialmente nos períodos mais secos, empoeirados e com alta densidade populacional. No grupo 1, a presença do agente em todas as amostras pode ser explicada devido ao tipo de cama utilizada (serragem) que pode aumentar a circulação de poeira no ambiente, que é higienizado uma vez por semana, permitindo a proliferação bacteriana no ambiente. No grupo 2, a presença do patógeno pode estar relacionada ao ambiente já contaminado e à alta densidade populacional, o piquete contém, em média, 10 animais em uma área de 2 mil metros quadrados, que pode aumentar a disseminação do agente.

A permanência do patógeno no ambiente onde os animais vivem pode ser explicado pela alta adaptabilidade deste microrganismo ao tipo do solo, pH, temperatura, clima, umidade e manejo dos criatórios. De acordo com Santos (2016), o solo com pH ácido pode favorecer o aumento da disseminação de cepas virulentas na população de *R. equi*. Procedimentos de manejo ambiental podem reduzir os níveis de exposição de potros vulneráveis, reduzindo o impacto da pneumonia em criações endêmicas.

Porto; Fernandes e Barreira (2011) afirmam que os potros se infectam pelo alimento e água contaminados por fezes ou pelo contato direto com as fezes infectadas que são eliminadas pelos cavalos no ambiente, inalação de partículas de poeiras contaminadas ou transmissão direta pelo ar exalado pelos potros doentes.

Segundo Santos (2016), a presença de cepas virulentas de *R. equi* no ar expirado dos pulmões dos potros tem sido isolado na maioria dos abscessos pulmonares de potros infectados. Afirma também que a concentração de cepas do agente foi significativamente superior no ar exalado dos potros em relação ao ar ambiental, não tendo grande diferença na concentração média de *R. equi* virulentos encontrados no ar expirado dos potros clinicamente saudáveis e potros doentes.

Oliveira (2013) afirma que o uso constante de uma estipulada área para criação de potros promove o aumento da contaminação pelo microrganismo devido ao fornecimento progressivo de nutrientes propícios para o seu crescimento. Seu surgimento nos potros em certas propriedades tem caráter endêmico e em outras esporádicas, que varia entre 0 e 100% dos animais nascidos. Em propriedades endêmicas, a porcentagem de potros afetados pode variar de 13% a 25%, enquanto a letalidade fica entre 0 a 30%.

Martins (2003) relata que os potros têm seu sistema imunológico menos eficiente do que um animal adulto, o colostro ingerido pelos neonatos garante sua imunidade passiva, prevenindo de infecções oportunistas como a rodococose. Em seu trabalho, a imunização das éguas prenhes teve um aumento significativo após a administração da vacina Rhodovac, em que se manteve elevada até o parto, com pequeno declínio até os 150 dias pós-parto. Já as mães dos 9 potros avaliados não têm histórico de vacinação, desta forma, houve uma carência na imunidade passiva dos mesmos, pois não teve aumento de anticorpos colostrais adquiridos pela vacina, assim favorecendo infecção por bactérias oportunistas.

Foi constatado, a partir da avaliação clínica, que os potros se encontram dentro da normalidade dos padrões semiológicos, não apresentando nenhuma sintomatologia clínica em relação à infecção por *Rhodococcus equi*. Os resultados positivos para o cultivo não significam necessariamente doença clínica, pois o animal pode apresentar apenas um estado portador do patógeno, justificando os resultados microbiológicos sugestivos para presença do agente na ausência de sinais clínicos, conforme apresentado na Tabela 2.

**Tabela 2:** Resultado da avaliação clínica dos potros quanto à frequência respiratória, frequência

cardíaca, temperatura, coloração das mucosas, tempo de preenchimento capilar, palpação de linfonodos e presença de sinais respiratórios.

Grupo 1	FR	FC	T°	Mucosa	TPC	Linfonodos	Tosses
1-Cadillac	20	56	38,7	Normo	<2	Não reativo	Ausentes
2-Canária	14	52	38,2	Normo	<2	Não reativo	Ausentes
3-Corcel	16	54	38,4	Normo	<2	Não reativo	Ausentes
4-Capitão	14	51	38,8	Normo	<2	Não reativo	Ausentes
Grupo 2	FR	FC	T°	Mucosa	TPC	Linfonodos	Tosses
5-Cinderela	12	42	37,6	Normo	<2	Não reativo	Ausentes
6-Cereja	10	40	37,8	Normo	<2	Não reativo	Ausentes
7-Comandante	16	49	37,6	Normo	<2	Não reativo	Ausentes
8-Cíntia	14	45	37,5	Normo	<2	Não reativo	Ausentes
9-Cordel	15	47	37,7	Normo	<2	Não reativo	Ausentes

FR: frequência respiratória; FC: frequência cardíaca; T°: temperatura; TPC: tempo de preenchimento capilar

Rossi (2011) afirma que os principais sinais clínicos são esforço respiratório, febre, sibilos na ausculta, crepitações, tosse, corrimento nasal, dispneia, apatia, desinteresse ao mamar, artrite, abscessos subcutâneos e osteomielite, sendo os abscessos subcutâneos e a osteomielite pouco frequentes. Nenhum dos nove animais avaliados apresentavam alguma dessas alterações clínicas.

Segundo Godoi (2018), para obter um diagnóstico definitivo é indicado o teste de PCR ou cultura bacteriológica. A partir da avaliação dos resultados dos testes relacionados com o exame clínico, sugere-se que os animais sejam portadores assintomáticos do patógeno.

Foi constatado de forma presuntiva que na propriedade ocorre o agente *R. equi*, podendo ser explicado pelas características de manejo, em que as condições são propícias devido ao solo com dejetos fecais que proporcionam ácidos orgânicos para o crescimento, associados a temperaturas e pH favoráveis.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados laboratoriais constataram de forma presuntiva, a presença de *R. equi* em todos os animais avaliados. Como não houve identificação de alterações clínicas descritas pela doença causada por esta bactéria dentro do período avaliado, sugere-se que os potros se encontram em estado de portado assintomático, sendo aconselhado outro teste para a confirmação do patógeno e adoção de medidas de prevenção à doença clínica.

## REFERÊNCIAS

BARR, Bonnie S. Rhodococcus equi pneumonia in a foal. **Veterinary Clinics: Equine Practice**, v. 22, n. 1, p. 239-246, 2006.

BOTTON, Sônia; GLESSLER, Letícia Trevisan. Estudo detalha perfil de susceptibilidade de isolados de *Rhodococcus equi* frente aos antimicrobianos AZI, CLARI e ERI. **Cienc. Rural**, v. 45, n. 4. 2015.

BYRNE, Barbara A. et al. Virulence Plasmid of *Rhodococcus equi* Contains Inducible Gene Family Encoding Secreted Proteins. **Infection and immunity**, v. 69, n. 2, p. 650-656, 2001.

CARRIQUIRY OBES, M. **Estudo da cinética no sangue de imunoglobulinas específicas contra *Rhodococcus equi* administradas como imunidade passiva em cavalos de corrida de raça pura**. 2016. 56f. Tese (Doutorado) – Universidade da República (Uruguai). Faculdade de Veterinária, Montevideo, Uruguai, 2016.

DEPRÁ, N. M. *et al.* Monitoramento da infecção por *Rhodococcus equi* em potros puro sangue de corrida. **Arquivo Faculdade Veterinária-UFRGS**, v. 29, n. 1, p. 25-35, 2001.

DO NASCIMENTO, M. J. R. **Rodococose em potro diagnosticada no sertão paraibano**. 2016. 38 f. Dissertação – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos, Paraíba, 2016.

GIGUÈRE, S. et al. Diagnosis, Treatment, Control, and Prevention of Infections Caused by *Rhodococcus equi* in Foals. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, [s.l.], v. 25, n. 6, p.1209-1220, nov. 2011.

GODOI, Vanessa Eliza Tenório de *et al.* **Infecção por *Rhodococcus equi* em oito Potros**. 2018. 30 f. Dissertação – Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Medicina Veterinária, Uberlândia, 2018.

GOTOH, Kohkichi et al. Mycolic acid-containing glycolipid as a possible virulence factor of *Rhodococcus equi* for mice. **Microbiology and immunology**, v. 35, n. 3, p. 175-185, 1991.

GUAZZELLI, Alessandro. **Virulência de linhagens de *Rhodococcus equi* isoladas de linfonodo de suínos e javalis (*Sus scrofa*) de abatedouros**. 2009. 101 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2009.

GUIDI CABRERA, Camila. **Neumonía por *Rhodococcus equi* en potrillos: diagnóstico, tratamiento y prevención**. 2016. 53 f. Tese (Doutorado) – Universidad de la República, Facultad de Veterinária, Montevideo, 2016.

HUBER, Laura. **Monitoramento de potros por ultrasonografia torácica, cultura bacteriológica e pcr: diagnóstico de infecção subclínica por**

***Rhodococcus equi***. 2016. 37 f. Dissertação (Mestrado) – universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Animal: Equinos, Porto Alegre, 2016.

KREWER, C. C. et al. *Rhodococcus equi*. **Arq Inst Biol**, v. 75, n. 4, p. 533-45, 2008.

MARTINS, Carla Braga et al. Ensaio imunoenzimático indireto (ELISA) para detecção de anticorpos anti-*Rhodococcus equi* em potros. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 618-624, 2005.

MARTINS, Carla Braga et al. Detecção de anticorpos anti-*Rhodococcus equi* em éguas vacinadas e potros pelo ensaio imunoenzimático indireto. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 194-200, 2010.

MARTINS, Carla Braga. **Titulação de anticorpos anti-*Rhodococcus equi* em éguas prenhas e potros**. 2003. ix, 81 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, São Paulo, 2003.

OLIVEIRA, Luiz Gustavo Schneider. **Infecção por *Rhodococcus equi* em potros**. 2013. 91 f. Dissertação – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, 2013.

PEIRÓ, Juliana Regina et al. Pneumonia em potros causada pelo *Rhodococcus equi*. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 5, n. 1, p. 73-86, 2002.

PORTO, Ana Carolina Rusca Correa; FERNANDES, Wilson Roberto; BARREIRA, Maria Cristina Roque. *Rhodococcus equi* Parte 1: epidemiologia, manifestações clínicas, diagnóstico e tratamento. **Ciência Rural**, v. 41, n. 12, p. 2143-2150, 2011.

ROSSI, Mariana Silva. **Rodococose equina: uma revisão com ênfase na fisiopatogenia e tratamento**. 2011. 22 f. Dissertação – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade “Julio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, São Paulo, 2011.

SANTOS, Valesca Peter dos. **Isolamento de bacteriófagos líticos para *Rhodococcus sp.*** 2016. 70 f. Dissertação – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária – Programa de Pós-Graduação em Medicina Animal – Equinos, Porto Alegre, 2016.

## LEVANTAMENTO DE CASOS DE GASTROENTERITES NO HOSPITAL VETERINÁRIO UNIVÉRTIX, EM MATIPÓ, MG

**Acadêmicas:** Ariany Guedes Fialho e Nattália Vieira Superbi

**Orientador:** Leandro Silva de Araújo

### RESUMO

A gastroenterite está entre as doenças mais comuns em cães e gatos, causada por etiologia de origem viral, bacteriana ou parasitária. A diarreia sanguinolenta junto a sinais clínicos como vômito, apatia, anorexia, dores abdominais caracterizam apresentações mais comuns. O animal com esse quadro deve ser tratado imediatamente para sucesso na recuperação, evitando o óbito do animal. Esta pesquisa trata-se de um trabalho retrospectivo da série histórica 2016-2019, realizada no Hospital Veterinário da Faculdade Vértice/Univértix, para determinar a ocorrência de gastroenterites em cães atendidos no local. Foram analisadas 524 fichas de consultas clínicas de cães, nas quais identificou-se 6,8% de casos (suspeitos + confirmados), sendo 22 casos suspeitos de gastroenterites e 14 casos de parvovirose confirmada. Os sinais clínicos mais relatados nas fichas clínicas foram: diarreia com hematoquezia em 25 (27,1%), êmese em 30 (32,6%), outros sinais clínicos em 33 (35,8%) e sem informações de sinais clínicos em 4 (4,5%). No âmbito geral, as afecções gastrintestinais na população em estudo se mostraram de baixa ocorrência, sendo a parvovirose a mais relatada.

**PALAVRAS-CHAVE:** gastroenterite; parvovirose; vírus; cães.

**LINHA DE PESQUISA:** Epidemiologia e Saúde Coletiva

### INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa o 4º lugar em criação total de animais de estimação e o 2º lugar em criação de cães, gatos e aves, sendo o setor pet incluído no agronegócio brasileiro. A presença destes animais de estimação para os humanos pode fornecer efeitos importantes como diminuição da depressão, ansiedade e estresse, aumento da expectativa de vida, estimulação de atividades saudáveis e aumento da socialização de idosos, pessoas com necessidades especiais e crianças. Porém deve-se ter em mente que estes animais precisam de cuidados durante toda a vida, sendo que alguns podem precisar de atenção extra, devido a algum problema de saúde. Os proprietários precisam arcar com custos como vacinação, vermifugação, tratamentos de saúde, alimentação e higiene e ter tempo para cuidar e dar a atenção necessária que eles precisam, visando sempre o bem-estar do animal (OLIVEIRA, 2019).

Dentre as doenças que ameaçam a vida dos cães está a gastroenterite que é uma enfermidade rotineira na clínica veterinária, afetando cães de todas as raças e

idades. Sua etiologia pode ser causada por vários fatores, principalmente os de origem viral, bacteriana e parasitaria. Os cães com idade entre três e seis meses são os que têm maior predisposição a ocorrência da enfermidade (GOUVEA *et al.*, 2017).

Sinais clínicos como vômito e diarreia são observados, porém bastantes inespecíficos, o que pode estar relacionado à doenças em outros órgãos como a pancreatite, doença endócrina, doença renal aguda ou hepatite aguda (SILVA, 2019).

A gastroenterite hemorrágica é comum em filhotes e é causa de grande mortalidade e internação. É caracterizada por inflamação de qualquer parte intestinal, sendo afecção recorrente em filhotes de seis semanas até seis meses de idade. Entre os principais agentes estão os de origem virais (LOPES *et al.*, 2017).

A apresentação de dados sobre a ocorrência de afecções gastrointestinais permite analisar e estudar o perfil epidemiológico, possibilitando assim adotar meios de controle e prevenção a fim de diminuir a incidência de animais contaminados (BIEZUS *et al.*, 2018). Este trabalho tem como objetivo analisar a ocorrência das gastroenterites nos anos base de 2016 a 2019 devido à importância da disponibilidade de dados para controle de doenças infectocontagiosas em uma região, identificando o perfil de animais acometidos e o protocolo terapêutico adotado a partir dos prontuários do Hospital Veterinário Univértix, Matipó, MG.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **Gastroenterite hemorrágica**

A gastroenterite hemorrágica é acompanhada de odor fétido e muco com episódios de vômito. O animal, na maioria das vezes, apresenta dor abdominal, apatia e anorexia; sendo mais observada em cães jovens e pequeno porte. Entre os agentes etiológicos responsáveis estão as infecções bacterianas por *Clostridium perfringes*, *Escherichia Coli*, *Campilobacter*, e as infecções virais por *coronavírus* e *parvovírus*. Outras doenças como a estase vascular, a sepse, a cirrose hepática com hipertensão portal e outras causas de choque grave, devem ser consideradas como diagnósticos diferenciais (ALVEZ, 2013).

### **Gastroenterite viral**

- **Parvovirus**

O parvovírus canino (CPV-2), pertencente à família *Parvoviridae*, é um vírus de tamanho pequeno, esférico, não envelopado, com capsídeo icosaédrico com 60

capsômeros, molécula linear fita simples possuindo quatro genes em duas regiões codificantes, com cerca de 5 kb (quilo bases). Ele apresenta entre seis a dez sequências palindrômicas, onde possibilita a forma de grampo em suas regiões terminais que é fundamental para replicação do genoma viral e sua encapsulação. A preferência por célula na fase S do ciclo celular atinge principalmente órgãos com multiplicação celular, como medula óssea e criptas intestinais (ANTUNES. 2009).

Vírus altamente resistentes ao meio ambiente e relativamente a desinfetantes, sendo estáveis a PH entre 3,0 e 9,0, são inativados em temperatura de 56 c por 60 minutos; o que pode levá-lo a sobreviver durante meses no ambiente, por ser vírus não envelopado (MARULAPPA *et al.*,2009).

O CPV apareceu no final dos anos 70 e desde então sofreu modificações genéticas; o CPV-2 foi modificado para CPV2-a e CPV2-b. Já em 2000 foi identificada outra cepa viral definida como CPV2-c encontrada na Itália e se espalhando para todo o continente, menos na Austrália.

Apesar das modificações ocorridas nas cepas virais a patogenicidade é semelhante à de doenças clínicas idênticas (MYLONAKIS *et al.*, 2016). Há, porém, estudos que relatam que o CPV-2c tem uma apresentação clínica mais agressiva que os demais podendo se instalar em cães adultos ainda que estejam com protocolo vacinal em dia (RODRIGUES *et al.*,2017).

A PVD-2 é uma doença extremamente contagiosa, podendo infectar uma vasta população de animais quando expostos ao vírus. Sinais clínicos da doença estão relacionados principalmente ao sistema gastrointestinal, sendo considerada uma gastroenterite. Contudo, poderia ser considerada doença sistêmica uma vez que ela causa ocorrência de vasculite, artrite, septicemia e miocardite que são observados em cães infectados (VIEIRA *et al.*, 2011).

A destruição pelo vírus ocorre em locais com divisão celular rápida como a medula, timo, criptas intestinais e nódulos linfáticos; o que leva à ruptura da barreira mucosa intestinal, atrofia das vilosidades e má absorção (MATHIOS *et al.*,2016), causando diarreia e desidratação (MARULAPPA *et al.*,2009). Alterações hematológicas são observadas como leucopenia, linfopenia e, às vezes, neutropenia; essas alterações se dão pelo acometimento do vírus na medula e baço (BIEZZUS *et al.*, 2018). A infecção ocorre quando os animais são expostos ao ambiente contaminado, por contato direto com fezes ou fômites; mas também pode ocorrer por várias vias com oral, nasal e oronasal; além de se contaminarem, também, por

inoculação, IM, IV, SB. Os cães contaminados secretam o vírus pelas fezes no terceiro dia e continuam com alta disseminação até o vigésimo dia, tendo seu fim dependendo do estado imunológico do animal (ANTUNES, 2013).

Em filhotes com duas-três semanas o vírus também é capaz de replicar no coração, provocando miocardite nos fetos, mas por adquirirem anticorpos das mães essa patologia não é tão observada. A apresentação clínica mais observada relacionada ao CPV são as que estão relacionadas ao sistema gastrointestinal com enterites hemorrágicas, cuja letalidade depende do título de anticorpos maternos dos filhotes na hora da infecção (DECARO *et al.*, 2011). A falha de vacinação da mãe pode ser um fator contribuinte para o contágio dos filhotes, já que pode haver um retardo na transferência de imunidade passiva. A vacinação e exposição da cadela ao agente são importantes, pois confere aos filhotes títulos de anticorpos contra o vírus na fase neonatal (SOUTO *et al.*, 2018).

Os filhotes com os primeiros meses de idade sofrem com gastroenterite hemorrágica intensa levando a alta mortalidade, o que comprova relatos feitos nos Estados Unidos, Brasil e Uruguai (MITTAL *et al.*, 2014). Apesar de cães jovens com menos de seis meses de idade serem mais susceptíveis à doença, os animais adultos com sistema imunológico debilitado também podem contrair o vírus pelo fato de ser altamente resistente ao meio ambiente e podendo perdurar por até um ano; visto que as infecções ocorrem por meio de contato direto com fezes contaminadas, vômitos e fômites (MYLONAKIS *et al.*, 2016).

Os sinais clínicos apresentados pela doença normalmente são variados e estão relacionados com fatores como a idade do animal, carga viral presente, tempo e tamanho da viremia. Os sinais mais comumente notados são depressão, perda de apetite, perda de peso repentina, anorexia, febre, vômitos, diarreia com sangue (normalmente não presente em animais adultos), mucosas pálidas, letargia, desidratação (devido ao grande volume de fluido perdido) com probabilidade de haver choque hipovolêmico (VIEIRA, 2011).

A maioria dos sintomas irá aumentar rapidamente levando a morte em animais severamente afetados (SANTANA *et al.*, 2019). Normalmente cães, entre seis e oito semanas de vida, apresentam alta taxa de mortalidade já que estes ainda não foram vacinados e ainda apresentam baixa imunidade (MITTAL *et al.*, 2014).

Os métodos diagnósticos podem ser feitos pela anamnese e histórico do animal em complemento com exames como teste ELISA, PCR, isolamento viral, microscopia

eletrônica, cultura tecidual e sorologia por inibição da hemaglutinação (SANTANA *et al.*, 2019).

No exame físico podemos observar taquicardia, mucosas pálidas, congestas ou ictéricas; durante a palpação pode ser notado desconforto abdominal, presença de líquido e, em casos mais raros, intussuscepção (DAMETTO, 2019). É válido solicitar radiografia para avaliar o trato gastrointestinal e ultrassonografia para avaliar linfonodos, alça intestinal, distensão ou diminuição da motilidade gastrointestinal. Ao solicitar o hemograma possível detectar leucopenia de acordo com a gravidade e estágio da doença (DAMETTO, 2019).

O uso do PCR em tempo real é o método mais recomendado por sua alta sensibilidade, juntamente com teste ELISA que é confirmatório para a doença, posto que este detecta o antígeno; podendo, porém, gerar resultados falsos positivos decorrentes da vacinação (SANTANA *et al.*, 2019).

Animais que apresentam diarreia sanguinolenta com odor fétido podem ser positivos para a infecção, porém, a parvovirose canina também logra apresentar diarreia não hemorrágica. É importante um diagnóstico diferencial para descartar outras doenças como coronavírus, rotavírus, *Clostridium perfringes* (CASTRO *et al.*, 2016). A fase inicial do tratamento consiste em isolar animais infectados de animais saudáveis, impedindo ainda mais a disseminação da doença. Normalmente o tratamento subsequente é baseado na reposição de fluidos e eletrólitos e na reposição de líquidos corpóreos perdidos (WAGNER, 2019).

Alguns medicamentos já foram estudados contra a infecção pelo vírus, como interferon-alfa, contudo, seu custo elevado dificulta sua utilização na prática clínica. Estudos indicaram a Metoclopramida (0,4 mg/kg, TID) para controlar o vômito, usada por via subcutânea (SC) ou em infusão contínua (IC) e, caso o animal apresente gastrite, ela pode ser associada com omeprazol na dose de 0,5-1 mg/kg, BID (SANTANA *et al.*, 2019).

O uso de antibiótico de amplo espectro é fundamental porque o parvovírus deixa o animal susceptível a várias infecções secundárias, normalmente causadas por bactérias Gram-negativas. Já o uso de esteroides é indicado em choque endotóxico para reduzir a absorção de toxinas intestinais e de reações inflamatórias sistêmicas. Alguns dias após os vômitos cessarem é viável voltar a fornecer água ao animal e a alimentação deve ser feita com base em uma dieta leve e facilmente digerível (SANTANA *et al.*, 2019).

A vacinação é a maneira mais segura e eficaz de prevenir a doença, mas não elimina totalmente os riscos. Não permitir o contato com outros animais, lugares ou materiais contaminados e fazer a limpeza adequada e periódica do local onde o animal vive são medidas preventivas importantes; levando em conta que o vírus resiste a longos períodos no ambiente, podendo se manter ativo por meses. Animais assintomáticos são capazes de espalhar a doença pelas fezes contaminadas para animais sadios (FERREIRA, 2011).

A vacina contra parvovirose faz parte de uma vacina polivalente (V8 e V10), que inclui a prevenção de outras doenças. Em casos em que o filhote foi infectado e se recuperou, ele pode adquirir imunidade por pelo menos vinte meses ou por toda sua vida; já a imunidade adquirida, via colostro oriunda de cadelas com baixo título de anticorpos para o CPV, é capaz de durar até seis semanas de idade. Os filhotes que apresentam um sistema imune desconhecido precisam ser vacinados aos seis, nove e doze semanas de idade (DAMETTO, 2019).

- **Coronavírus**

O coronavírus é vírus responsáveis por doenças respiratórias e entéricas em humanos e animais domésticos. O coronavírus canino (CCoV) pertence a um dos principais antígenos grupo de coronavírus. Ele está ligado sorologicamente e geneticamente para vírus da gastroenterite de suínos, felinos e humanos. Ele é um vírus envelopado com genoma RNA de fitas positivas com 27-22 kb de comprimento, possui núcleo capsídeo helicoidal. A ribonucleoproteína é arredondada por um envelope lipídico que contém três glicoproteínas virais (PRATELY *et al.*, 1999).

O (CCoV) tem sido associado a inúmeros casos esporádicos de gastroenterites em cães de todas as idades, porém mostra ser mais agressivo em filhotes. A doença pode ser grave ou fatal quando associada a outros vírus como o parvovirus. Vários países relataram surtos da doença sendo ela isolada ou associada a outros agentes (DEZENGRINI *et al.*, 2007).

A infecção por CCoV é comum em cães jovens, afetando principalmente àqueles que vivem em abrigos e canis que tem sido associado a episódios de derreias branda, emolientes, altamente contagiosas que afetam as vilosidades do intestino delgado (DEZENGRINI *et al.*, 2007).

São descritos dois genótipos: CCoV-I e CCoV-II, amplamente encontrados em continentes europeus. Estes genótipos podem ser distinguidos com base em

diferenças genéticas e antigênicas no gene que codifica a proteína de superfície espícula (S). O genótipo CCoV-II é dividido em CCoV-IIa e CCoV-IIb; os quais possuem recombinação genética com FCoV-II e o TGEV, respectivamente (VIEIRA, 2019).

Um primeiro estudo a identificar CCoV-II no Brasil é recente. Nesse estudo o CCoV-IIa foi encontrado nas fezes e em órgãos como cérebro, coração, pulmão, baço, fígado, rim, entre outros; achados em três, de um total de cinco cães até seis meses, que vieram a óbito com gastroenterite hemorrágica no Sul do país. Análises também mostraram que o subtipo encontrado é o mesmo de outros países (VIEIRA, 2015).

Lesões macroscópicas causadas pelos CCoV-I e CCoV-II são: intestino delgado dilatado, conteúdo líquido e de coloração amarelada ou esverdeada, placas de Peyer evidenciadas, mucosa intestinal hiperêmica e hemorrágica; pode-se observar linfonodos mesentéricos edemaciados. Já em lesões microscópicas observa-se atrofia das vilosidades intestinais, depressão das criptas, achatamento das células epiteliais. A necrose e infiltrado no parênquima pulmonar e hepático, severa depressão linfóide no baço, extensas áreas de necrose renal são encontradas apenas em infecção por CCoV-II (PINTO, 2013).

A transmissão ocorre pela via fecal-oral. Depois da ingestão de fezes contaminadas, o vírus infecta e replica-se no citoplasma das células e vilosidades intestinais resultando no encurtamento e distorção delas, diminuindo a absorção do intestino e conseqüentemente uma enterite. Uma infecção sistêmica pode ocorrer quando a variante for CCoV-IIa na qual apresenta alta taxa de mortalidade e sinais clínicos parecidos a parvovirose: febre, gastroenterite hemorrágica, alterações neurológicas e linfopenia, além de leucopenia intensa (VIEIRA, 2019).

Os mecanismos imunológicos relacionados à infecção ainda não estão bem elucidados. Há estudos que sugerem a vacina como forma eficaz para induzir a imunidade protetora de forma duradoura; a mesma deve ser realizada a fim de controlar a propagação do CCoV em cães com risco de desenvolver a doença (CASTRO *et al.*, 2010). A forma mais utilizada para detecção do vírus é por fezes ou pelo intestino, diferenciando-a de outros agentes causadores de enterite. O método de microscopia eletrônica é utilizado para visualização do agente nas fezes; porém outros métodos também são utilizados sendo eles a técnica de RT-PCR realizada diretamente das fezes e tem se mostrado eficaz em pesquisas, capazes de detectar menores quantidades de vírus excretados nas fezes por um maior período (PINTO, 2013).

Alguns laboratórios têm obtido sucesso na utilização de isolamento viral e as células de linhagem de fibrossarcoma canino A-72 mostraram-se particularmente susceptíveis ao CCoV, onde o vírus produz efeito citopático caracterizado pela formação de sincícios (VIEIRA, 2015). Em meio à técnica sorológica temos soro neutralização (SN), imunoperoxidase (IPX) e o ELISA. Contudo a sorologia tem pouca utilidade diagnóstica, visto que a infecção na população canina é grande e muitas vezes subclínica. Ademais a detecção de anticorpos no soro não indica necessariamente exposição recente ao agente. Há um kit ELISA que detecta IgM disponível comercialmente para uso.

Estudos com inoculações experimentais demonstraram a presença de IgM no plasma três dias após a inoculação; assim, pode-se inferir que a presença de tal imunoglobulina no soro indica infecção recente pelo CCoV (VIEIRA, 2015).

A prevenção do contágio do CCoV se dá com o não deixar os animais entrarem em contato com os infectados, falta de sanidade, superpopulação, desmame precoce, além de infecção concomitantes com outros agentes. O vírus é facilmente inativado no meio ambiente pelo calor e por solventes lipídicos, entretanto sua contaminação aumenta em temperaturas baixas (PINTO, 2013). Para o tratamento é feita terapia de suporte e se baseia na restituição do equilíbrio hídrico-eletrolítico e, ainda, o controle de infecções secundárias (HOSKINS, 1997).

### **Gastroenterite bacteriana**

A enterite bacteriana pode ser causada por várias espécies de bactérias, além de serem causas de algumas zoonoses, pois os cães e gatos podem atuar como reservatório de algumas infecções humana. Há quatro mecanismos pelo qual as bactérias afetam a saúde intestinal (RODRIGUES *et al.*, 2018).

As bactérias podem ser agrupadas de acordo com os mecanismos pelos quais causam alterações no hospedeiro, podendo ser denominadas bactérias enterotoxigênicas, por exemplo, cepas enterotoxigênicas de *Escherichia coli* (ETEC - enterotoxigenic strains of *Escherichia coli*), que secretam enterotoxinas que causam danos diretamente às membranas celulares dos enterócitos. Pode ocorrer discreta inflamação e também diarreia secretória, com grande perda de líquido e eletrólitos (RODRIGUES *et al.*, 2018).

Bactérias citotoxigênicas, por exemplo, *Clostridium spp* e cepas de *Escherichia coli* produtoras de toxinas shiga (STEC, Shiga- toxin producing strains of *E. coli*),

produzem toxinas causadoras de lesão de enterócitos, conseqüentemente inflamação e danos celulares. O quadro clínico é semelhante a patógenos enteroinvasivos, no entanto esses agentes não provem adesão e invasão (VIEIRA,2019).

Bactérias enteropatogênicas causam lesão como cepas de *Escherichia coli* enteropatogênicas (EPEC, *enteropathogenic strains of E. coli*) que se aderem intimamente à superfície celular, alterando a conformação das microvilosidades sem invadir a célula epitelial. Há cepas que podem produzir citotoxinas causando lise celular e a redução das superfícies das vilosidades causa má digestão e má absorção (RODRIGUES *et al.*, 2018).

Bactérias enteroinvasivas, por exemplo, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Yersinia spp.* e cepas enteroinvasivas de *Escherichia coli* (EIEC, *enteroinvasive strains of E. coli*) penetram na superfície do epitélio intestinal causando danos direto à mucosa. O quadro de enterocolite aguda é definido por inflamação, exsudação, hipersecreção e diarreia mucoide ou hemorrágica. O animal pode apresentar dor abdominal e piroxia e ainda ocorrer invasão de alguns microrganismos a submucosa e disseminação sistemática pelas vias linfáticas e sanguíneas (RODRIGUES *et al.*, 2018).

### **Gastroenterite verminótica**

As gastroenterites verminóticas são muito frequentes, posto que parasitas intestinais são comumente encontrados em animais de companhia (KATAGIRI; SEQUEIRA, 2007). As infecções parasitárias atingem cães de todas as idades, mas são mais comuns em filhotes devido à baixa resposta imunológica. Algumas infecções além de causarem problemas sérios nos cães podem infectar humanos sendo, assim, responsáveis por importantes zoonoses; que também são mais prevalentes e graves em crianças e em pacientes com imunossupressão (GENNARI, 2015).

A gravidade das infecções vai depender da via de infecção, do número de formas infectantes e da resposta imune desses hospedeiros. Em cães jovens a passagem de larvas pelo leite pode ter conseqüências fatais ou ser responsável pela produção de quadros de anemia hemorrágica aguda ou crônica acompanhada de diarreia; sendo possível conter sangue e muco. Em cães adultos há a possibilidade de causar deficiência de ferro e anemia hipocrômica microcítica (KATAGIRI; SEQUEIRA, 2007).

Dos nematódeos parasitas de cães, *Ancylostoma spp.* e *Toxocara canis* são os mais presentes. A grande tolerância dos estágios de vida livre às diferentes condições ambientais é a mais provável explicação para a ampla distribuição geográfica desses parasitas (KATAGIRI; SEQUEIRA, 2007).

*Ancylostoma caninum* é um nematódeo do intestino delgado de cães cuja principal forma de infecção é efetuada pela passagem de larvas pelo leite de cadelas lactantes. Os animais jovens são os mais frequentemente acometidos, porém ao longo da vida dos mesmos a infecção continua a ocorrer pela penetração cutânea e pela ingestão de larvas juntamente com alimentos e água. A baixa imunidade também favorece a reinfecção desses animais. Uma segunda espécie do gênero que pode infectar os cães é *Ancylostoma braziliensis*, que possui efeitos parecidos com a *A. caninum*; mas por ser menos frequente, se apresenta menos voraz e também menos patogênica (KATAGIRI; SEQUEIRA, 2007).

Outro nematódeo frequente é a *Toxocara canis*, cuja principal via de infecção é pela passagem transplacentária de larvas que se encontram nos tecidos das cadelas prenhes. Por isso, e também por causa da ubiquidade desse verme, aproximadamente 80% dos cães com menos de seis semanas de idade possuem exemplares de *Toxocara* em seus intestinos, sendo ou não possível eliminar os ovos nas fezes e morrer em consequência do parasitismo. Nos cães os efeitos da infecção por *T. canis* dependem da idade do animal, do número, localização e estágio de desenvolvimento dos vermes podendo provocar tosse, aumento da frequência respiratória e corrimento nasal espumoso; os vermes adultos no intestino são capazes de causar obstrução intestinal dos ductos colédoco e pancreático (KATAGIRI; SEQUEIRA, 2007).

## **METODOLOGIA**

A pesquisa foi realizada no Hospital Veterinário Univértix, localizado no município de Matipó, na região II da Zona da Mata Mineira, a 244 km da capital Belo Horizonte. O município possui uma população de 18.604 habitantes, de acordo com o censo demográfico realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 2014.

Foram analisadas fichas clínicas e prontuários de animais atendidos nos anos de 2016 a 2019. Entraram na contagem casos confirmados e casos suspeitos para

gastroenterites, independente da causa, sendo os casos suspeitos avaliados pelos sinais clínicos e por confirmação descrita nas fichas clínicas.

Foram avaliados os aspectos: idade do animal, peso, vacinação, vermifugação, exames solicitados, medicamentos utilizados, local onde vive e se houve retorno. Os dados foram coletados e organizados no programa *Microsoft Office Excel® 2019* e avaliados de forma descritiva de modo a identificar as populações mais acometidas.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No presente estudo foram analisadas 524 fichas, nas quais se identificou um total de trinta e seis (6,8%) casos de gastroenterites (confirmadas e suspeitas). Entre as causas da afecção encontrou-se confirmação apenas de parvovirose em quatorze (39%) das fichas, de acordo com o resultado do hemograma e teste rápido, não havendo confirmação de nenhuma outra doença gastrointestinal. Entretanto vinte e dois prontuários (61,11%) não possuíam diagnóstico definitivo, identificando como caso suspeito de gastroenterite, podendo ser causada por quaisquer dos agentes causais. Os achados diferem de outros trabalhos como o de Santana (2019), onde noventa e quatro prontuários foram estudados; destes sessenta e quatro testaram positivo para parvovirose, tendo um resultado de 68 %. Já Castro (2007), realizou um estudo no estado do Rio de Janeiro com 341 cães, com até seis meses de idade, onde 46% dos animais obtiveram o vírus da parvovirose.

Dentre os casos incluídos neste estudo, na parvovirose confirmada sete (50,1%) animais possuem de zero a três anos, três (21,4%) animais possuíam de quatro a seis anos, um (7,1%) animal tinha de sete a dez anos e três (21,4 %) não possuíam informações de idade na ficha clínica. Já na gastroenterite suspeita, treze (59,1%) animais possuíam de zero-três anos, cinco (22,7%) possuíam de quatro-seis anos e quatro (18,2%) possuíam mais de sete anos (Tabela 1). Entre as fichas clínicas analisadas dentre os animais com gastroenterites suspeita e confirmada, dezoito (50%) são machos e dezoito (50%) são fêmeas. Quanto aos outros critérios observados, na parvovirose confirmada dois animais (14,2%) possuíam acesso à rua, onze (78,6%) não possuíam acesso à rua e um (7,2%) animal não possuía informações a respeito. Já na gastroenterite suspeita, seis (27,3%) animais possuíam acesso à rua, doze (54,6%) não possuíam acesso à rua e quatro (18,1%) não apresentavam informações a respeito.

Destes pacientes avaliados, na parvovirose confirmada, seis (42,8%) receberam vermifugação, três (21,5%) não foram vermifugados, e cinco (35,7%) possuíam vermifugação incompleta; não havendo, neste caso, animais sem informações. Já na gastroenterite suspeita oito (36,6%) dos animais possuíam vacinação em dia, seis (27,2%) não foram vacinados, sete (31,8%) possuíam vacinação incompleta e um animal (4,7%) não possuía informações na ficha clínica.

Em relação a vermifugação, na parvovirose confirmada, oito (57,1%) dos animais possuíam o protocolo vacinal em dia, quatro (28,5%) possuíam o protocolo em dia e dois (14,4%) não apresentavam informações. Já nas gastroenterites suspeitas, onze (50%) dos animais possuíam vermifugação em dia, oito (36,3%) não possuíam vermifugação completa, dois (9,2%) possuíam protocolo incompleto e um (4,5%) animal não apresentava informações a respeito da vermifugação.

**Tabela 1:** Descrição do perfil dos pacientes identificados com parvovirose e gastroenterites, sem causa definida, nas fichas avaliadas de pacientes atendidos entre 2016 a 2019.

Critérios	Classes	Parvovirose confirmada Número de casos (%)	Gastroenterites suspeitas Número de casos (%)
Idade	0-3 anos	7 (50,1)	13 (59,1)
	4-6 anos	3 (21,4)	5 (22,7)
	> 7 anos	1 (7,1)	4 (18,2)
	Sem informação	3 (21,4)	-
Gênero	Macho	7 (50)	11 (50)
	Fêmea	7 (50)	11 (50)
Uso de vacinas	Sim	6 (42,8)	8 (36,3)
	Não	3 (21,5)	6 (27,2)
	Incompleta	5 (35,7)	7 (31,8)
	Sem informações	-	1 (4,7)
Uso de vermífugos	Sim	8 (57,1)	11 (50)
	Não	-	8 (36,3)
	Incompleta	4 (28,5)	2 (9,2)
	Sem informações	2 (14,4)	1 (4,5)
Acesso à rua	Sim	2 (14,2)	6 (27,3)
	Não	11 (78,6)	12 (54,6)
	Sem informações	1 (7,2)	4 (18,1)

A ocorrência de parvovirose em animais com idade menor de três anos e que não possuem protocolo de vacinação e vermifugação adequados é maior e, de acordo com Antunes (2013), os filhotes são mais propensos a desenvolver gastroenterite hemorrágica pelo CPV; no entanto cães de qualquer idade, raça ou sexo também podem ser propensos à doença.

O resultado da baixa ocorrência do número de casos positivos para Parvovirose pode ser explicada pela maior porcentagem de animais vacinados, entre aqueles cuja vacinação foi descrita na ficha clínica. Esta baixa ocorrência também pode ser decorrente de uma falha na identificação devido à falta de diagnóstico confirmatório feito por exames e testes rápidos, o que pode ter ocorrido por opção do veterinário não identificando necessidade de confirmação laboratorial; ou do tutor, uma vez que os testes são pagos pelo mesmo (WAGNER, 2019).

Os animais com protocolo de vacinação em dia totalizaram 38% dos casos e é importante ressaltar que a falta de vacinação completa dos animais influencia diretamente na infecção do cão pelo CPV, dado que a vacinação é o meio mais eficaz de prevenir a doença; já que apenas a imunidade adquirida através do leite materno não garante proteção duradoura contra a parvovirose. Atualmente é indicado que seja feita a primeira vacinação às seis e oito semanas de vida e as próximas com intervalos de vinte e um a trinta dias, finalizando com a última dose aproximadamente com dezesseis semanas de idade. É importante manter o reforço vacinal anualmente ou a cada três anos (ALVES, 2021).

O histórico de acesso à rua revela que possivelmente estes cães infectaram-se a partir do ambiente domiciliar ou contato com outros cães na residência, visto que o vírus pode sobreviver no ambiente por mais de um ano, tornando o ambiente suscetível a infecções por fezes infectadas, vômitos ou fômites (MAZZAFERRO, 2020).

A observação de sinais clínicos característicos permite, muitas vezes, a definição de plano terapêutico pelo veterinário mesmo na ausência de diagnóstico definitivo. Deste modo, outro critério bastante avaliado foram os sinais clínicos descritos. Os mesmos estão de acordo com outros trabalhos, como o de Mylonakis (2016), onde descreve que na parvovirose ocorre ruptura da mucosa da barreira intestinal, acompanhado de atrofia das vilosidades e má absorção; ocorre leucopenia profunda, levando a diarreia profunda, vômito, juntamente a hipovolemia grave e acidose metabólica.

**Tabela 2:** Sinais clínicos descritos em animais com Parvovirose confirmada e gastroenterites, suspeitas, nas fichas avaliadas de pacientes atendidos entre 2016 a 2019.

<b>Sinais clínicos</b>	<b>Parvovirose confirmada Número de casos (%)</b>	<b>Gastroenterites suspeitas Número de casos (%)</b>
Diarreia com hematoquezia	12 (35,3)	13 (22,4)
Êmese	12 (35,3)	18 (31,1)
Outros sinais	9 (26,5)	24(41,3)
Sem informações	1 (2,9)	3 (5,2)

Para o tratamento para gastroenterites, incluindo a parvovirose, os medicamentos são escolhidos de acordo com os sinais clínicos apresentados pelo animal. O tratamento com antimicrobianos é de suma importância para tratar e evitar o choque séptico por causa da translocação bacteriana via intestino para corrente sanguínea. O metronidazol, ampicilina e sulfa foram utilizados em 20,19% dos casos, incluindo casos suspeitos e confirmados de parvovirose. Em nenhum dos casos foi receitado o uso destes medicamentos isoladamente (Tabela 3).

**Tabela 3:** Medicamentos mais utilizados em casos suspeitos e casos confirmados de gastroenterites

<b>Medicamentos</b>	<b>Parvovirose confirmada Número de casos (%)</b>	<b>Gastroenterites suspeitas Número de casos (%)</b>
METRONIDAZOL	4 (28,5%)	7 (31,8%)
AMPICILINA	2 (14,3%)	5 (22,7%)
RANITIDINA	4 (28,5%)	9 (40,9%)
ONDANSETRONA	2 (14,3%)	3 (13,6%)
HEMOLITAN	6 (42,8%)	2 (9,09%)
DIPIRONA	6 (42,8%)	2 (9,09%)
LACTOBAC	1 (7,2%)	4 (18,1%)
GAVIZ	4 (28,5%)	5 (22,7%)
SULFAMETOXAZOL+TRIMETOPRIMA	2(14,3%)	6 (27,2%)
OMEPRAZOL	3 (21,4%)	7 (31,8%)

Os antieméticos, como a Ondansetrona, foram utilizados em dois (14,3%) casos com parvovirose confirmada e em três (13,6%) casos com gastroenterites suspeita; posto que esse medicamento é usado para prevenir o vômito. Em relação aos protetores de mucosa gástrica, na parvovirose confirmada foi observado o uso da Ranitidina em quatro (28,5%) dos casos, Omeprazol em quatro (21,4%) casos e Gaviz em quatro (28,5%) animais. Já nas gastroenterites suspeitas, usou-se a Ranitidina em nove (40,9%) animais, Omeprazol em sete (31,8%) e Gaviz em cinco (22,7%). O estudo de Wagner (2019) mostrou a utilização de antieméticos em 100% dos casos, porquanto que 41,2% usaram a Sulcralfato, 94,1% a Ranitidina e 29,4% usaram o Omeprazol.

O uso de probióticos foi realizado em um (7,2%) dos casos com parvovirose confirmada e em quatro (18,1%) dos casos com gastroenterites suspeitas, sendo ele o Lactobac. Sua utilização é feita para manter, restaurar ou estabilizar a microbiota intestinal não patogênica, principalmente em neonatos e filhotes (WAGNER, 2019).

O Hemolitan, uma poli vitamina, foi utilizado em seis (42,8%) dos casos com parvovirose confirmada e dois (9,09%) dos animais com gastroenterites suspeitas. Em comparação ao estudo de Wagner (2019), 43,8% fazem uso de vitaminas tais como as do complexo B e vitamina C; usadas a fim de auxiliar na recuperação do organismo lesionado, reparação tecidual, agindo como agente antioxidante, auxiliando na função imune.

O analgésico utilizado em seis (42,8%) dos animais com parvovirose confirmada e em dois (9,09%) dos casos de gastroenterites suspeitas, foi a dipirona, que possui propriedades antipiréticas e analgésicas; porém com fraca ação anti inflamatória é eficaz no auxílio de dores leves, moderadas e viscerais e possui efeito de curta duração. Também podem ser utilizados outros fármacos, como Meloxican (Maxican), Prednisona e Dexametasona (RODRIGUES, 2017).

Dos trinta animais, onze (30,56%) apresentaram retorno com melhora e, em vinte e cinco (69,4%) casos, não há mais informações após a primeira consulta. Muitos tutores não fazem o retorno esperado, possivelmente em decorrência de melhora do paciente; assim, a ficha do paciente permanece incompleta e incorre no risco de falha no tratamento do animal, que pode exigir modificações no plano terapêutico e acompanhamento. Com base nos dados obtidos de fichas avaliadas, a gastroenterite mostrou baixa prevalência em comparação a outros trabalhos. No entanto os casos de parvovirose mostrou resultado próximo ao trabalho de Castro (2007), onde a prevalência da doença foi em 46% dos casos em comparação a este estudo que mostrou prevalência de 36% dos animais atendidos no Hospital Veterinário no período avaliado.

## **CONCLUSÃO**

A ocorrência de gastroenterites foram baixas na população estudada. Animais que ocuparam as categorias jovens, vacinados ou com vacinação incompleta, vermifugados e que não possuíam acesso livre à rua foram as categorias com maior ocorrência dessa doença; sendo a parvovirose a mais presente entre os animais.

Entre os medicamentos mais utilizados destacaram-se os antimicrobianos e antiácidos.

Apesar dos resultados apresentarem baixa ocorrência da afecção, os mesmos não devem ser aplicados para toda a população de cães da cidade de Matipó devido a amostra representar apenas uma pequena parcela da população; restrita àqueles que são submetidos a atendimento hospitalar.

## REFERÊNCIAS

ALVES, A. R. Relato de caso: **cuidados intensivos na gastroenterite hemorrágica em cão**. 2013. xii, [67] f., il. Monografia (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

ALVES, L. G. S. **Importância da vacinação de cães em relação a parvovirose, cinomose e raiva**. 2021.

ALVES. M. C. G. P.; MATOS. M. R.; REICHMANN. M. L.; DOMINGUEZ. M. H. **Dimensionamento da população de cães e gatos do interior do Estado de São Paulo**. Instituto de Saúde. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. São Paulo, SP, 2005.

ANTUNES, J. R. **Deteção, caracterização e diagnóstico diferencial de parvovírus canino**.

BRAGA, P. F. S.; IASBECK, J. R.; ALMEIDA, L. P. **Fatores associados a gastroenterite em cães**. Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP, v. 12, n. 2, p. 73-73, 2014.

BIEZUS, G.; CASAGRANDE, R. A.; FERIAN, P. E.; LUCIANI, M. G.; SOUZA, J. R.; CRISTO, T. G.; POZO, S. D.; VARGAS, C. N. **Ocorrência de parvovirose e cinomose em cães** no Planalto Catarinense. Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, 2018.

CASTRO, C. C.; JOHANN, J. M.; FINGER, P. F.; NUNES, C. F.; VARGAS, G. D.; FISCHER, G.; HUBNER, S. O. **Coronavirus canino (CCoV) em cães vacinados e não vacinados domiciliados em Pelotas, RS**. Semina: Ciências Agrárias, v. 31, n. 4, p. 995-1000, 2010.

CASTRO, N. **Achados patológicos de helmintoses intestinais em cães**. Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS. Porto Alegre – RS. 2013.

CASTRO, N. L. M.; CASTRO, R.; TATSCH, F. M.; ZANINI, M. R.; SCHNEIDER, E. R. **PARVOVIROSE CANINA**, 2016.

CASTRO, T. X.; MIRANDA, S. C.; LABARTHE, N. V.; SILVA, L. E.; GARCIA, R. C. N. C. **Clinical and epidemiological aspects of canine parvovirus (CPV) enteritis in the State of Rio de Janeiro: 1995-2004**. Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia, v. 59, n. 2, p. 333-339, 2007.

CORSI, L. **Principais doenças que acometem cães: conhecer para prevenir**. BS thesis. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2018.

COSMOSKI, L. D. **A virologia em uma perspectiva interdisciplinar [recurso eletrônico]: saúde humana, animal e do ambiente**. Ponta Grossa, PR, 2020.

DAMETTO, J. S. **A Importância da nutrição no tratamento da Parvovirose Canina-Revisão de literatura**. Universidade federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de medicina veterinária. Porto Alegre, 2019.

DECARO, N.; DESARIO, C.; ELIA, G.; CAMPOLO, M.; LORUSSO, E.; MARI, V.; MARTELLA, V.; BUONAVOGLIA, C. **Occurrence of severe gastroenteritis in pups after canine parvovirus vaccine administration: a clinical and laboratory diagnostic dilemma**. Vaccine, v. 25, p. 1161-1166, 2007.

DEZENGRINI, R.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. **Soroprevalência das infecções por parvovírus, adenovírus, coronavírus canino e pelo vírus da cinomose em cães de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil**. Ciência Rural, v. 37, n. 1, p. 183-189, 2007.

FERNANDES, M. H. V. ; FERREIRA, L. N.; VARGAS, G. D.; FISCHER, G.; HUBNER, S. O. **Efeito do extrato aquoso de própolis marrom sobre a produção de ifn- $\gamma$  após imunização contra parvovírus canino (cpv) e coronavírus canino (ccov)**. Ciência Animal Brasileira, v. 16, n. 2, p. 235-242, 2015.

FERREIRA, M. O. **Diferentes abordagens terapêuticas em cães com parvovirose – Caracterização do uso de antibióticos**. Universidade técnica de Lisboa. Lisboa, 2011.

GENNARI, S. **Principais helmintos intestinais em cães no Brasil**. Boletim Bayer Vet, ano 02, edição 08, julho, 2015, Brasil

GRANO, F. G. **Gastroenterite hemorrágica**—Relato de caso. Revista científica eletrônica de Medicina Veterinária, v. 13, p. 1-5, 2009.

HOSKINS, J. D. **Update on canine parvoviral enteritis**. Veterinary medicine (1985)(USA), 1997.

KATAGIRI, S.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T.C.G. **Zoonoses causadas por parasitas intestinais de cães e o problema do diagnóstico**. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.74, n.2, p.175-184, abr./jun., 2007.

MARULAPPA, S.Y.; KAPIL, S. **Simple tests for rapid detection of canine parvovirus antigen and canine parvovirus-specific antibodies**. Clin. Vaccine Immunol. 16, 127–131, 2009.

MAZZAFERRO, E.M. **Update on Canine Parvoviral Enteritis**. Veterinary Clinics: Small Animal Practice, v.50,n.6, p.1307-1325,2020.

MENDES, R. S.; SOUZA, A. P.; TORRES, Leonardo M. T.; SILVA, R. M. N.; DANTAS, A. K. F. P.; BORGES, O. M. M. **Perfil leucocitário e eficácia clínica da enrofloxacina (fórmula BAIK9) em dose única no tratamento de cães com gastroenterite por Parvovírus**. Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos. Paraíba, Brasil, 2012.

MYLONAKIS, M. E .; KALLI, I.; RALLIS, T. S. **Enterite parvoviral canina: uma atualização sobre o diagnóstico clínico, tratamento e prevenção**. Medicina Veterinária: Pesquisa e Relatórios , v. 7, p. 91, 2016.

MYLONAKIS, M. E.; KALLI, I.; RALLIS, T. S. **Canine parvoviral enteritis: An update on the clinical diagnosis, treatment, and prevention**. Veterinary Medicine: Research and Reports, 7, 91–100, 2016.

OLIVEIRA, K. S. **Manual de boas práticas na criação de animais de estimação: cães e gatos**. Goiânia, GO, 2019.

PAVAN, T. R. **Parvovirose canina- revisão de literatura**. Orientador: MV, M. Sc, PhD Luiz Carlos Kreutz. 2009. 28 f. Monografia apresentada à Faculdade de Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Especialista em Análises Clínicas Veterinárias – faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2009.

PINTO, L. D. **Deteção e caracterização de parvovírus canino e coronavírus canino**. 2013.

PRATELLI, A. **Prevalence of canine coronavirus antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay in dogs in the south of Italy**. Journal of virological methods, v. 102, n. 1-2, p. 67-71, 2002.

RODRIGUES, B.; MOLINARI, B. L. D. **Diagnóstico e tratamento de Parvovirose canina : revisão de literatura**. Braz. J. Surg. Clin. Res, v.21, p 127-134,2017.

RODRIGUES, M. D. **Gastroenterite canina**. Ciência Veterinária UniFil, v. 1, n. 2, 2018.

SANTANA, W. O.; LENCINA, M. M.; BERTOLAZZ, S.; SILVEIRA, S.; STRECK, A. F. **Parvovírus canino**: uma abordagem evolutiva e clínica. Laboratório de Diagnóstico em Medicina Veterinária, Universidade de Caxias do Sul. Caxias do Sul-RS. 2019.

SILVA, M. S. **Etiologia de gastroenterites primitivas agudas em cães: estudo retrospectivo de 158 casos clínicos**. Tese de Doutorado. Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária. 2019.

SOUTO, E. P. F. et al. **Surto de parvovirose cardíaca** em filhotes de cães no Brasil. Pesquisa Veterinária Brasileira, 2018.

STROTTMANN, D. M.; SCORTEGAGNA, G.; KREUTZ, L. C.; BARCELLOS, L. J. G.; FRANDOLOSO, R.; ANZILIERO, D. **Diagnóstico e estudo sorológico da infecção pelo parvovírus canino em cães** de Passo Fundo. Rio Grande do Sul, 2008.

VIEIRA, F. V. **Coronavírus canino (ccov): isolamento e detecção molecular em amostras clínicas**. 2015.

VIEIRA, F. V. **Coronavírus Canino: Aspectos bioenergéticos relacionados com a infecção in vitro de macrófagos caninos**. 2019.

VIEIRA, M. J. N. M. P. **Parvovirose canina**. 2012.

VIEIRA, M. J. N. M. P. **PARVOVIROSE CANINA**. Tese de doutoramento em Ciências Veterinárias. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto, 2011.

WAGNER, I. S. Levantamento de dados em **testes diagnósticos e protocolos terapêuticos utilizados no tratamento da parvovirose canina** em cidades da região da Associação de Municípios da Região de Laguna (AMARUEL). Universidade do Sul de Santa Catarina. Tubarão, 2019.

# LEVANTAMENTO DE CASOS NOTIFICADOS DE MORMO NO BRASIL E NO ESTADO DE MINAS GERAIS NOS ANOS DE 2009 A 2019

**Acadêmicos:** Rodrigo Pena Da Silva e Thiago Pena Da Silva

**Orientador:** Leandro Silva Araújo

## RESUMO

A equideocultura possui grande importância econômica e social no Brasil e algumas doenças causam prejuízos consideráveis aos proprietários, principalmente aquelas para as quais é obrigatória a eutanásia dos animais positivos, como o mormo. Essa é uma doença infecciosa causada por um bacilo Gram-negativo denominado *Burkholderia mallei* que acomete, principalmente, os equídeos, sendo o homem um hospedeiro acidental. Com o objetivo de se conhecer a situação epidemiológica dessa doença em equinos no Brasil e em Minas Gerais, foi estimada a prevalência da doença utilizando dados publicados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) entre os anos de 2009 a 2019. Os resultados foram apresentados utilizando a prevalência em porcentagem e as informações confrontadas com a bibliografia recente pertinente ao tema. Observou-se uma tendência de crescimento da doença entre os anos de 2011 a 2015, seguido de tendência à redução de casos nos anos finais do período avaliado. Este estudo demonstra que a doença tende a diminuir na população de equinos, porém, deve-se manter a vigilância ativa a fim de evitar novos focos de mormo.

**Palavras Chave:** Zoonose; *Burkholderia mallei*; Equinos; Sanidade Veterinária; Doença Infecciosa.

**Linha de Pesquisa:** Saúde Pública e Defesa Sanitária

## INTRODUÇÃO

O Brasil, se destaca dentro do cenário da equideocultura, possuindo o terceiro maior rebanho do mundo e o primeiro da América Latina, com aproximadamente 8 milhões de cabeças de equídeos. Estima-se que apenas o agronegócio envolvendo cavalo gere cerca de 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos, movimentando em torno de R\$16,5 bilhões por ano (IBGE, 2019; VIEIRA, 2020).

A maior população brasileira de equinos encontra-se na região Sudeste liderada por Minas Gerais com 787.000 cabeças, logo em seguida, aparecem as regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sul e Norte (IBGE, 2019). Com o progressivo aumento da produção de equinos, observa-se também uma intensificação no sistema de produção, o que conseqüentemente leva a um aumento da proliferação de doenças infectocontagiosas dentre elas o mormo (KETTLE, WERNERY, 2016).

O mormo é uma enfermidade de curso agudo ou crônico causada pela bactéria *Burkholderia mallei*, caracterizada por lesões respiratórias, linfáticas e cutâneas em

equídeos (MOTA, 2000; 2006). Acomete, principalmente, os equídeos, mas também pode acometer os carnívoros, o homem, e eventualmente, pequenos ruminantes. É altamente contagiosa, de notificação obrigatória ao serviço veterinário oficial constituído pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) (SAID; NARDI JUNIOR E DOMINGUES, 2016).

Após vários relatos da ocorrência da enfermidade em equídeos e humanos, a doença parecia ter sido erradicada no Brasil em 1960 (DIEHL, 2013). O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), chegou a acreditar que o morno havia sido erradicado no Brasil, em 1960, porém, em 1999, foi registrado seu ressurgimento, nos estados de Alagoas e Pernambuco. Desde então, a ocorrência de casos de mormo vem sendo observada em vários estados do Brasil como Paraíba, Mato Grosso, Rio Grande do Norte e Ceará (SILVA, 2019; MOTA et al., 2000).

Esta enfermidade é uma das mais graves ameaças à equideocultura brasileira. A sua notificação submete o Brasil a uma série de restrições referentes à exportação de animais vivos ou de carne. Essa zoonose pertence à lista de doenças passivas das ações de defesa sanitária, de sacrifício obrigatório, sem indenização (MOTA, 2006; VARGAS, OLIVEIRA JUNIOR, SILVA, 2015). No Brasil, em 2008, foi instituído pelo MAPA o Programa Nacional de Sanidade dos Equídeos (PNSE), prevendo atividades de educação sanitária, estudos epidemiológicos, fiscalização e controle do trânsito de equídeos, e intervenção imediata quando há suspeita ou ocorrência da doença (BRASIL, 2008).

Devido à relevância econômica e social da equideocultura e da capacidade da doença em causar prejuízos, principalmente, por ser obrigatória a eutanásia dos animais soropositivos, é de fundamental importância a constante vigilância sanitária do rebanho, uma vez que essa pode afetar milhões de empregos no mercado de trabalho (SAID; NARDI JUNIOR e DOMINGUES, 2016; SILVA, 2019).

Levando-se em consideração que o mormo é uma doença reemergente e a dificuldade de acesso a um banco de informações sobre epidemiologia, sobretudo relacionado aos quantitativos de casos positivos e a distribuição ao longo dos anos, objetivou-se neste trabalho determinar o perfil da distribuição dos casos notificados no Brasil e em Minas Gerais, no período de 2009 a 2019. Assim, trabalhos como esse são importantes para avaliar a aplicabilidade do Programa de Sanidade dos Equídeos e auxiliar a necessidade de intervenção.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **Equideocultura**

A equideocultura é uma atividade que abrange a criação de equinos, asininos e muares (CARRIJO JUNIOR, MURAD, 2016), diferente de outras atividades agropecuárias, não se limita a apenas uma estrutura padrão de cadeia produtiva linear, por abranger uma série de cadeias entrelaçadas foi denominada como um complexo agropecuário, que envolve segmentos em setores diferenciados como eventos, lazer, turismo, esporte, trabalho, medicamentos, nutrição, veterinários, transporte, pesquisas, laboratórios, centros de treinamentos, mercado externo, frigorífico e vários outros serviços (BRASIL, 2016).

Esta complexa cadeia de negócios sofre influência de diversas variáveis, entre elas podemos citar as ambientais e legais que podem ser derivadas da ação de órgãos reguladores como o MAPA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), entre outros. Várias patologias também podem gerar enormes impactos no agronegócio do cavalo, entre essas podemos citar o mormo (SILVA, 2019).

### **Etiologia**

O mormo é uma doença infectocontagiosa, causada por uma bactéria da família Burkholderiaceae, denominada de *Burkholderia mallei*, bastonete gram-negativo, não esporulado, imóvel, pleomórfica dependendo das condições ambientais. É um microrganismo intracelular facultativo com baixa resistência ambiental, que pode sobreviver de 3 a 5 semanas em ambientes úmidos, é sensível à luz solar, à desinfetantes comuns e a temperaturas elevadas (SILVA, 2019).

É um bacilo de bom crescimento em meios que contenham sangue ou glicerol, é redutor de nitrato, aeróbio, catalase e oxidase positivos, as colônias têm aspecto brilhante e mucoide (SOUSA, 2017).

### **Epidemiologia**

A *Burkholderia mallei* é uma das zoonoses mais antigas, encontrada na Europa, Ásia e África e hemisfério ocidental, e que devido ao seu potencial de disseminação e mortalidade, já foi utilizada como arma biológica de guerra no século XX. Em virtude do uso de vários métodos de erradicação, testes e vigilância veterinária, a doença foi controlada na maioria dos países desenvolvidos, entretanto, o mormo ainda é

prevalente em países como Índia, China, Turquia, Brasil, Iraque, Paquistão e Norte da África (RICHTER, 2017).

No Brasil, o primeiro relato da doença foi em 1811, supostamente trazida por animais infectados importados da Europa. O mormo pode ser classificado como uma zoonose reemergente no Brasil, devido à ausência de registros durante a década de 60, sendo notificado seu ressurgimento em 1999, nos estados de Alagoas e Pernambuco. Desde então, com exceção dos estados do Acre e Amapá, tem se registros de casos em praticamente todos os estados brasileiros, com destaque para região nordeste (SILVA, 2019).

O mormo é uma patologia que afeta mamíferos, principalmente equinos, muares e asininos, raramente acomete o homem, podendo ser fatal. Ocasionalmente ovinos, caprinos e carnívoros podem apresentar a infecção (MOTA, 2006). Existem relatos epidemiológicos que associam estábulos coletivos com importantes focos de disseminação da infecção (LEOPOLDINO, OLIVEIRA, ZAPPA, 2009).

A disseminação do microrganismo no ambiente ocorre através de alimentos, água e solo contaminados ou, eventualmente, por aerossóis, secreções nasais, fistulação de abscessos, fezes e urina de animais acometidos. Os equinos podem se infectar por contato direto com outros animais infectados, mesmo ainda assintomáticos, ou por contato indireto em cochos, bebedouros e fômites como cabrestos, cordas, escovas e arreios. A invasão no organismo ocorre por soluções de continuidade na pele e por penetração em mucosas nasal, da região orofaríngea e intestinal (SOUSA, 2017).

Essa enfermidade é responsável por uma alta taxa de mortalidade em equídeos, podendo acometer qualquer raça, idade ou sexo, porém animais mais velhos, debilitados, malnutridos, com estabulagem em condições precárias ou sob algum estresse, são mais vulneráveis (SILVA, 2019).

## **Patogenia**

O patógeno *B. mallei* é obrigatório para mamíferos, tem grande capacidade de invadir, sobreviver e se replicar no interior de células do hospedeiro, com predisposição de adesão às células pulmonares e fagocíticas. Essa bactéria possui cápsulas de polissacarídeos e lipopolissacarídeos que produzem óxido nítrico e

reduzem citocinas nos macrófagos, diminuindo a estimulação dos receptores, fazendo com que o sistema imune demore a reconhecê-la (SOUSA, 2017).

O período de incubação do mormo varia de acordo com a via de infecção, intensidade da exposição e fatores intrínsecos do hospedeiro, podendo levar dias a meses (TAKEUTI, 2017). Após a adesão, a bactéria entra na célula, se replica dentro de um vacúolo, saindo deste, ela vai para o citosol onde usa as actinas para se movimentar entre as células e com isso vai formando células gigantes multinucleadas. Quando o sistema imune reconhece a bactéria, ocorre a infecção aguda, já quando acontece a evasão das bactérias ao sistema imune, tem-se a infecção assintomática (SOUSA, 2017).

As bactérias penetram a mucosa faríngea e intestinal, atinge a via linfática e posteriormente a corrente sanguínea, hospedando nos capilares linfáticos da via pulmonar, assim gerando focos de inflamação. Além da via pulmonar, hospedam-se na mucosa nasal, na pele e outros tecidos (com menor frequência) (MORAES, 2011).

No septo nasal, ocorrem lesões com origem hematogena, sendo essas classificadas como primárias, e as lesões com foco pulmonar, classificadas em secundárias. Também podem ser apresentados nódulos firmes no fígado e baço. Devido à deficiência de eritropoiese, pode ser verificada uma anemia normocítica normocrômica, (devido à infecção crônica ou inflamatória) e por deficiência de ferro e vitaminas geradas por falhas na produção de hemácias. Existem relatos do aumento no nível de leucócitos, bastonetes segmentados e monócitos e diminuição dos linfócitos nos animais positivos (MOTA, 2006).

### **Sinais clínicos**

Os sinais clínicos foram reconhecidos desde que a doença foi registrada pela primeira vez por Hipócrates e Aristóteles e as formas de manifestação da bactéria são pré-patente (período decorrido entre a invasão (penetração) do agente etiológico no organismo até o aparecimento das primeiras formas detectáveis do agente), hiperaguda, aguda e crônica (ARAÚJO et al., 2018).

Os sinais clínicos da doença com maior frequência são tosse, febre e corrimento nasal. Em poucos dias, na sua forma aguda, acontece morte por septicemia. Já em sua fase crônica, a manifestação clínica pode ocorrer por 3 formas:

cutânea, nasal e pulmonar, no entanto não são diferentes, sendo capaz de ocorrer todas as formas no mesmo animal (SOUZA, ESTELUTI, BOVINO, 2020).

No início da fase crônica, em sua forma nasal, percebe-se uma descarga nasal unilateral ou bilateral de secreção serosa que pode progredir para purulenta de coloração amarelada ou ainda purulenta hemorrágica, podem ser observadas lesões modulares nasais que progridem para ulcerações, que assim que cicatrizadas apresentam lesões com aspecto estrelar, em alguns casos os nódulos linfáticos submaxilares tornam-se aumentados e endurecidos com possibilidade de supurar, também podem ser observados nódulos inflamatórios, e sintomas coincidentes das outras formas clínicas como febre intermitente, letargia, perda de peso (ROCHA, 2018).

A forma pulmonar é descrita, principalmente, por secreção nasal serosa evoluindo para purulenta com sangue, epistaxe, dispneia, tosse, respiração laboriosa, pneumonia lobular com possibilidade de ocorrer abscedação cavernosa, pleurite fibrinosa, formação de nódulos ou abscessos pulmonares que podem disseminar a infecção para o trato respiratório superior (SAID; NARDI JUNIOR E DOMINGUES, 2016). Outros sinais menos característicos incluem apatia, caquexia, febre, diarreia, poliúria, debilidade progressiva (ROCHA, 2018).

Na forma cutânea da enfermidade, verifica-se formação de abscessos subcutâneos que ulceram (SAID; NARDI JUNIOR E DOMINGUES, 2016) e nódulos endurecidos pela trajetória dos vasos linfáticos, sobretudo no abdômen, costas, e membros posteriores. Essas alterações com o processo da doença, amolecem, fistulam, escorrendo conteúdo e evoluindo para ulcerações. Esses nódulos cutâneos acontecem com distanciamento mais ou menos iguais, como resultado arranjos com aspecto de colar de pérolas ou rosário (MORAES, 2011).

## **Diagnóstico**

O diagnóstico clínico necessita detectar as lesões relatadas. A ulceração das fossas nasais é um indicativo específico que caracteriza o mormo nasal, mas não obrigatoriamente aparece (SAID; NARDI JUNIOR E DOMINGUES, 2016). A investigação laboratorial é de extrema importância para confirmar o exame clínico, realizando o diagnóstico diferencial com tuberculose, anemia infecciosa equina,

linfangite ulcerativa, linfangite epizoótica, tuberculose, garrotilho e rinosporidiose (CARVALHO, 2019).

Dos exames laboratoriais disponíveis, o código zoosanitário internacional, juntamente com a legislação brasileira, sugere o teste de fixação de complemento e o ELISA como testes de triagem e o Western Blotting-imunoblotting como teste complementar. O colhimento do material deve ser feito apenas por um médico veterinário credenciado, com termo de responsabilidade técnica do laboratório, completamente preenchido, carimbado e assinado em três vias (BRASIL, 2018).

A fixação de complemento é uma prova de grande especificidade e bastante precoce, porém sua percepção é diminuída depois do início da infecção. O teste de complemento é um procedimento sorológico utilizado para definir ou semi quantificar a existência de anticorpos (AC) e antígenos (AG), impedindo a fixação do complemento em uma amostra, usando a ação do sistema de complemento (GOUVEIA FILHO, 2017).

Esse sistema é um agrupamento de proteínas séricas que tem como finalidade facilitar a destruição de micro-organismos invasores. Atua em cascata, possuindo três vias: A fixação do complemento mede o consumo de complemento pelo anticorpo (fixação do complemento) no soro ou no líquido. O espécime é incubado com quantidades conhecidas de complemento e com o antígeno que é o alvo do anticorpo que está sendo medido. O grau de fixação de complemento indica a quantidade desse anticorpo no espécime (GOUVEIA FILHO, 2017).

O teste pode medir títulos de anticorpos imunoglobulina (Ig) M e IgG ou pode ser modificado para detectar certos antígenos. Possui alta acurácia, mas tem aplicações limitadas; é muito trabalhoso e requer numerosos controles. O teste é estabelecido pela Organização Mundial da Saúde Animal (OIE) para diagnosticar o mormo, objetivando a certificação para trânsito internacional e julga como crucial sua prática rigorosa no controle de qualidade na formulação dos antígenos, do complemento e do sistema hemolítico (GOUVEIA FILHO, 2017).

Quando comparamos o teste Elisa com o de fixação de complemento, temos algumas vantagens, como maior detecção de casos clínicos, ausência de influência anticomplementar, reconhecimento de até 4 dias pós infecção. O teste Elisa baseia-se na relação antígeno anticorpo e sua geração de complexos que vão ser aderidos em poços diversos para observação (CARVALHO, 2019).

Um dos pontos a ser considerado com importância é a variabilidade nas aplicações dos exames, pois possuem diferentes tipos: direta, indireta, Elisa por competição, Elisa intracelular, Elispot e Elisa sanduíche. Para o diagnóstico de mormo, os métodos mais usados são: o Elisa competitivo, com alta especificidade e sensibilidade, tendo vantagem em sua utilização para vários hospedeiros; outro é o método indireto que baseia-se na fração semi-purificada de *B. mallei* (CARVALHO, 2019).

O teste Western blotting também chamado de immunoblotting (IB) é uma técnica bem especificada e bastante usada para identificação e análise das proteínas (FALCÃO *et al*, 2013). É um teste que preconiza a separação das proteínas por peso molecular por meio de eletroforese, prosseguindo de uma transferência a uma membrana e a constatação da proteína de interesse e um anticorpo característico. As etapas da técnica podem ser simplificadas em: extrair e quantificar as proteínas, eletroforese em gel de poliacrilamida, movimentação das proteínas para membrana, incubação da membrana a fim de identificar a proteína própria para ser analisada e descoberta dessa membrana para analisar os dados. Além de ser um exame de rápida realização, exatidão e que tem fácil acesso a laboratórios de pesquisa e diagnóstico, é um teste de grande especificidade e muito sensível (MIGUEL, MENEZES, ARAÚJO, 2012).

A propriedade que apresentar diagnóstico de um animal positivo é apontada como foco, e consecutivamente interditada, serão sacrificados os positivos pela ordem oficial, e no plantel feito o teste de fixação de complemento e retestados. O impedimento será suspenso, através desses testes, após período determinado (SAID; NARDI JUNIOR E DOMINGUES, 2016).

## **Tratamento**

Pela Instrução Normativa nº 24, de 5 de abril de 2004, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), não é autorizado o tratamento do mormo, sendo constado animais positivos, a propriedade será imediatamente interditada e sujeitada a um regime de saneamento, tal como, sacrifício dos animais contaminados (BRASIL, 2004).

## **Controle e profilaxia**

Na atualidade, ainda não há vacina humana ou animal contra o mormo, além de não existir indício que a vacinação ocasione imunidade a doença. Tentativas de vacinação não foram bem aceitas, pois não alteraram o curso da doença (HENRICH *et al*, 2019).

É importante ressaltar que a bactéria *B. mallei* é susceptível a muitas opções de desinfetantes, para limpeza de instalações, podendo utilizar hipoclorito de sódio, hipoclorito de cálcio, álcool, permanganato de potássio, iodo e soluções alcalinas. A bactéria pode se conservar em água, mas podendo ser destruída por radiação ultravioleta ou 55°C durante 10 minutos (ROCHA, 2018).

No Brasil, houve muita dificuldade para o controle da doença devido aos animais criados em confinamento, além da umidade, que favorecem a propagação do agente no ambiente (MORAES, 2011).

## **Plano Nacional de Sanidade dos Equídeos (PNSE)**

O MAPA, por meio de ações coordenadas pelo Programa Nacional de Sanidade dos Equídeos (PNSE), tendo em vista o crescimento do complexo agropecuário dos equídeos, determina adoção de ações de defesa e vigilância sanitária, por meio das atividades descritas no decorrer deste trabalho. (TAKEUTI, 2017).

As estratégias apontadas, que previnem, controlam e erradicam as doenças dos equídeos, são a adoção de práticas de educação sanitária, conhecimentos epidemiológicos, fiscalizando e monitorando o trânsito de equídeos, também cadastrando, certificando os estabelecimentos e intervindo sob qualquer suspeita ou em situação de doença. Como fonte do serviço veterinário oficial (municipal, estadual ou federal), através de ações de exames em abatedouros, fiscalização em eventos com atividade pecuária, estabelecimentos, trânsito desses animais, também a comunidade, constituídas por donos de animais, veterinários, transportadores, prestadores de serviços e profissionais de laboratório ou qualquer indivíduo da sociedade deve informar, instantaneamente, toda suspeita ou episódio de doença ao setor mais próximo do órgão executor das práticas de defesa sanitária animal (BRASIL, 2021).

Para o bom funcionamento do programa, é importante uma formação dos atores mencionados anteriormente, com conhecimentos específicos, mantendo o cadastro no órgão responsável, adquirindo animais comprovados com exames negativos para o mormo, realizando exames regulares, quarentena em animais recém-chegados, comparecendo em eventos supervisionados e notificando de imediato ao órgão fiscalizador qualquer alteração na situação sanitária dos animais (IMA, 2019).

Os médicos veterinários do setor privado podem efetuar serviços no plano do PNSE como observação das condições sanitárias, requerimento de exames laboratoriais e processos para certificar estabelecimentos para doenças objeto do programa (BRASIL, 2021).

## **METODOLOGIA**

O presente trabalho trata-se de um estudo descritivo, de caráter retrospectivo, com abordagem quantitativa, em que foram analisados casos de mormo notificados no Brasil, e no estado de Minas Gerais entre os anos de 2009 a 2019 para determinação da prevalência da doença, usando como base de dados relatórios oficiais do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e tabelas publicadas pelo site do IBGE.

A prevalência da doença (= medidas de frequência de ocorrência de um determinado evento já existente em uma determinada população em risco, ou seja,  $n^\circ$  de eventos existentes entre os indivíduos observados /  $n^\circ$  total de indivíduos observados) foi expressa em porcentagem e multiplicada por mil para melhor visualização nos gráficos.

O número de focos de mormo reportado anualmente no Brasil e em Minas Gerais, foram processados e organizados em uma planilha eletrônica, através do *Software Microsoft Office Excel 2013*.

Uma análise de regressão foi usada para modelar o número de participações de equinos afetados no Brasil e em Minas Gerais por ano a partir de 2009 a 2019. A variável dependente foi o número de casos confirmados de mormo (variável de contagem), e as variáveis independentes foram os anos (variável categórica) para a determinação de frequência. A curva da prevalência do mormo foi ajustada por

regressão polinomial, de modo a identificar a tendência da ocorrência de casos no período total avaliado (2009 a 2019) e no período dos últimos 5 anos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período compreendido entre 2009 a 2019, no Brasil, foram observados 1.561 casos de mormo confirmados e desses, 3% (52) foram notificados em Minas Gerais (Tabela 1).

Mota *et al.* (2000) e Diehl, (2013), descrevem que no Brasil, após relatos da ocorrência de mormo em equídeos e humanos, houve um período de “*Silêncio Epidemiológico*” e a doença parecia ter sido erradicada no país, onde a última referência a um foco de mormo havia sido relatada no município de Campos – RJ, na década de 60. Após esse período de silêncio epidemiológico, a doença foi novamente diagnosticada no ano de 1999 nos estados de Alagoas e Pernambuco. Já em 2004, foram notificados focos no do Paraná e Santa Catarina, em 2008 em São Paulo, em 2009 no Distrito Federal, no ano de 2012, foram notificados focos nos estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais.

**Tabela 1:** Número de casos de mormo registrados no Brasil e em Minas Gerais entre os anos de 2009 a 2019.

Ano	Brasil	Minas Gerais
2009	163	0
2010	83	0
2011	40	0
2012	73	11
2013	185	4
2014	202	7
2015	429	14
2016	152	2
2017	131	6
2018	29	6
2019	74	2
Total	1561	52

Fonte: Disponível em: <http://indicadores.agricultura.gov.br/saudeanimal/index.htm>

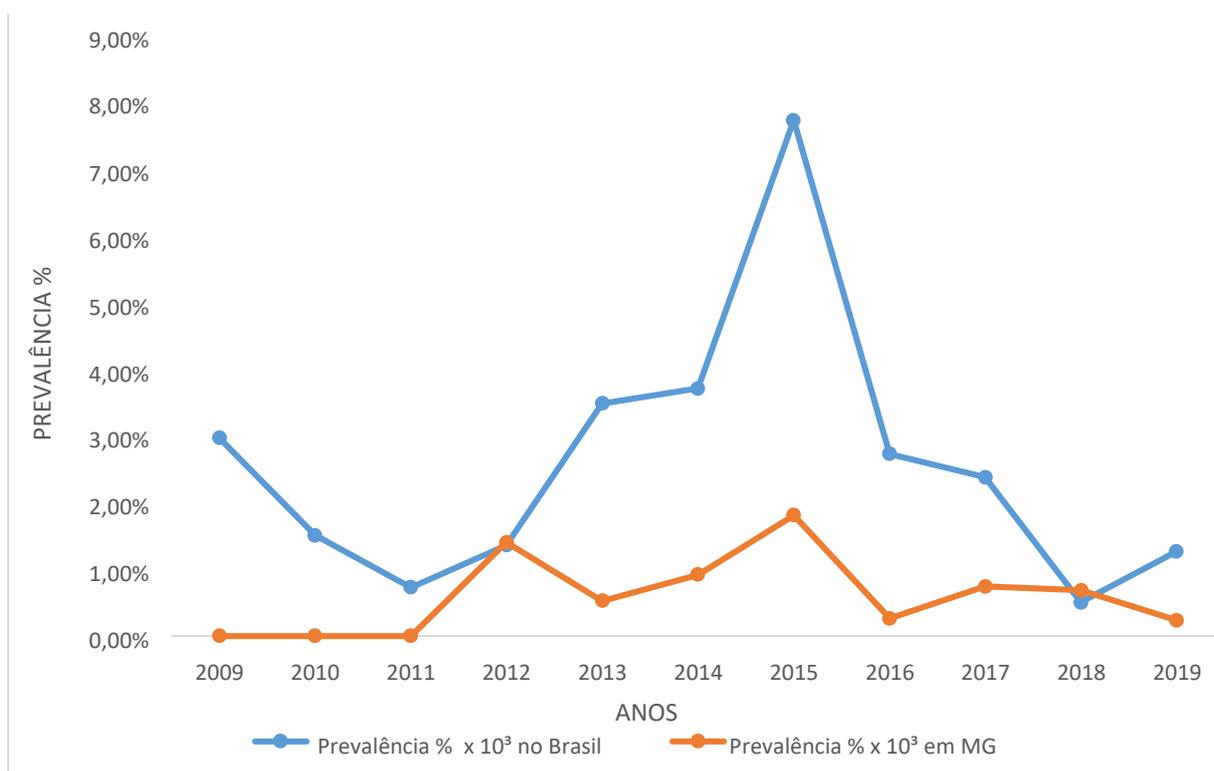
Devido ao aumento do número de casos da doença em vários estados, o Brasil passa a adotar medida de notificação imediata dos mesmos. De acordo com a Instrução

Normativa No 50, de 14 de setembro de 2013, do MAPA (BRASIL, 2013). A mesma deve ser realizada ao serviço veterinário oficial, sendo obrigatória para qualquer cidadão, assim como para os profissionais que trabalham na área de ensino, pesquisa ou diagnóstico em saúde animal.

Ao avaliar o número de casos em função da população, observa-se no Brasil a flutuação da prevalência, variando de 0,5%, registrada em 2018, até 7,7 % em um pico relatado em 2015 (Figura 1). O mesmo ano foi a maior notificação em Minas Gerais, com 1,81% e a menor notificação nos anos 2009 a 2011 (0%).

Gouveia Filho (2017), relatando a incidência de mormo no Brasil, utilizou os dados da OIE (Organização Mundial de Saúde Animal), observou que em 2011 não houve relatos de casos de mormo no país o que confirma a baixa prevalência  $\times 10^3$  (0,73%). Nesse trabalho o número de casos de mormo no Brasil, em 2015 foi o maior registro, com 429 casos, semelhante ao trabalho de Oliveira (2016) que relata 428 casos.

Fonseca-Rodríguez, Pinheiro Júnior e Mota (2019) também relatam uma prevalência igual a 0,0% nos anos de 2009 a 2011, em Minas Gerais, usando uma base de dados da OIE, o que corrobora com o presente estudo confirmando que não houve incidência da doença causada por *B. mallei* notificada nestes anos.



**Figura 1:** Prevalência da doença mormo em porcentagem para cada mil animais, analisada entre os anos de 2009 a 2019 no Brasil e no estado de Minas Gerais. **Fonte:** Elaborado pelos autores

Durante o período de 2011 a 2015, a ocorrência da doença no Brasil apresentou uma tendência crescente, representando um aumento de 970%; a mesma tendência foi registrada em Minas Gerais, ocorrendo entre os anos de 2013 a 2015 um aumento de 250% no número de casos registrados (Tabela 1 e Figura 1). Oliveira (2016), estudando o mormo no Exército Brasileiro, registrou um aumento significativo da doença no Brasil entre os anos de 2011 a 2015, passando de 40 para 428 em 2015, em apenas 4 anos, o que demonstra uma alta capacidade de disseminação. Ainda cita que neste mesmo ano foram registrados casos de mormo em 19 estados da federação.

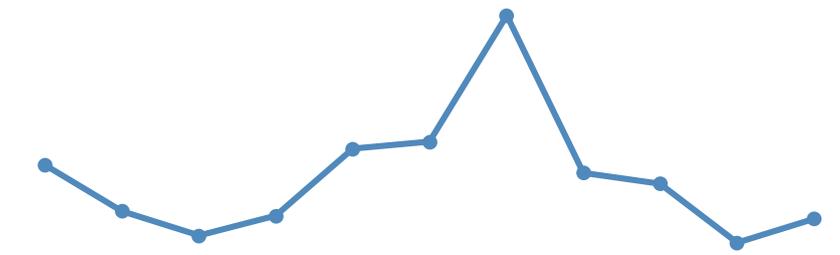
Observa-se na Figura 1 que tanto no Brasil quanto em Minas Gerais, no ano de 2016, apresentam um decréscimo nos casos notificados de mormo, evidenciando que a aplicação da normativa nº 50 de 2013 pode ter influenciado na detecção e controle da enfermidade.

No ano de 2018, o MAPA (2018) estabeleceu que “a notificação imediata dos casos suspeitos ou ocorrência de mormo é obrigatória para médicos veterinários, produtores rurais, transportadores de animais e profissionais que trabalham em laboratórios veterinários ou instituições de educação veterinária, pesquisa ou extensão. O trânsito de equídeos passa a ser realizado no Brasil apenas se houver confirmações negativas do mormo”, isso, provavelmente, obriga os proprietários a tomarem medidas sanitárias, provocando um decréscimo das notificações de casos no Brasil e em Minas Gerais.

Devido à alta variabilidade do número de casos observados no Brasil entre 2009 e 2019 a regressão polinomial não explicou com significância a tendência de crescimento ou inflexão da curva ( $r^2 = 0,40$ ) (Figura 2), assim optou-se por refazer a regressão, utilizando os dados de 2015 a 2019 (Figura 3). Analisando os casos a partir de 2015, nota-se que a linha de tendência ajustou-se melhor para os dados do Brasil, aumentando o  $r^2 = 0,95$ , permitindo notar tendência à redução no número de casos no período.

Em Minas Gerais também houve uma alta variabilidade do número de casos observados no entre 2009 e 2019 e a regressão polinomial também não explicou com significância a tendência de crescimento ou inflexão da curva ( $r^2 = 0,43$ ) (Figura 4),

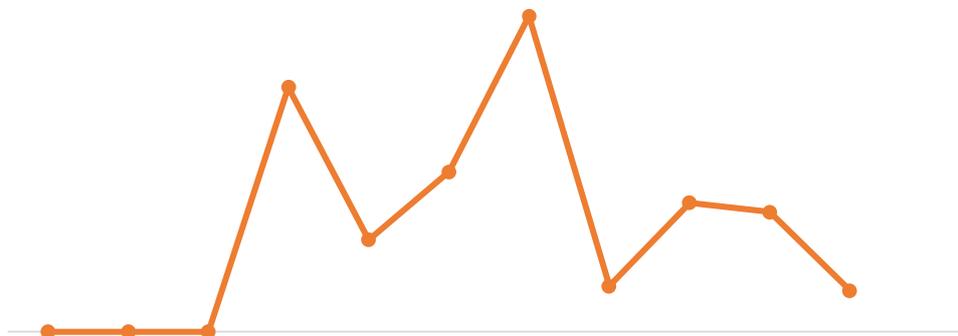
assim optou-se também a refazer a regressão utilizando os dados de 2015 a 2019, em que a nova linha de tendência apresenta um  $r^2 = 0,93$  (Figura 5).



**Figura 2:** Prevalência da doença mormo, em porcentagem para cada mil animais, analisada entre os anos de 2009 a 2019 no de Brasil. **Fonte:** Elaborado pelos autores

**Figura 3:** Prevalência da doença mormo, em porcentagem para cada mil animais, analisada entre os anos de 2015 a 2019 no de Brasil. **Fonte:** Elaborado pelos autores

Com o novo período definido, foi possível obter uma tendência mais confiável de prevalência de mormo. As linhas de tendências decrescentes sugerem uma diminuição no número de casos também no estado de Minas Gerais e eficácia das medidas exigidas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.



**Figura 4:** Prevalência da doença mormo, em porcentagem para cada mil animais, analisada entre os anos de 2009 a 2019 no estado de Minas Gerais. **Fonte:** Elaborado pelos autores

**Figura 05:** Prevalência da doença mormo, em porcentagem para cada mil animais, analisada entre os anos de 2015 a 2019 no estado de Minas Gerais. **Fonte:** Elaborado pelos autores

A avaliação dos dados de notificação permite inferir que, embora a doença ainda esteja presente no país e no estado de Minas Gerais, as medidas adotadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento têm sido importantes na detecção e controle da doença, expressas na forma de redução da tendência de casos a partir de 2016.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A consulta aos dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e IBGE permitiu concluir que o mormo esteve amplamente disseminado pelo país, com destaque ao pico registrado em 2015 no estado de Minas Gerais e no Brasil, seguido de tendência à redução. O conhecimento dos dados epidemiológicos pelos médicos veterinários possibilitou estimar o risco que os equinos têm de serem infectados pelo mormo e planejar estratégias para diminuí-lo, sendo importante a notificação de casos suspeitos aos órgãos de Defesa Sanitária Animal de modo imediato.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, Dayane K. G. O; SANTOS, Egbely m. C; SANTOS, Tiago R; SILVA, Karla P. C; ROCHA, Larissa O; FERREIRA, Maria Nazaré S.. Sinais clínicos em equídeos naturalmente infectados por *Burkholderia mallei* no estado de Alagoas: relato de caso. **Revista Brasileira de Medicina Equina**, Maceió - AL, 13(75): 26-28, jan. / fev. 2018.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Coordenação de informação de epidemiologia- saúde animal. 2020.** Disponível em: <http://indicadores.agricultura.gov.br/saudeanimal/index.htm>  
Acessado em: 02/10/2020

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instrução normativa n º 6, de 16 de janeiro de 2018.** Diário Oficial da União, 2018.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instrução normativa nº 50, de 24 de setembro de 2013.** Diário oficial da união, 2013.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Programa nacional de sanidade dos equídeos. 2021.** Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saudeanimal/programas-de-saude-animal/sanidade-de-equideos>.  
Acessado em: 18/02/2021

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavalo.** Brasília - DF, 2016. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/camaras-setoriaisematicas/documentos/camaras-setoriais/equideocultura/anos-anteriores/revisao-doestudo-do-complexo-do-agronegocio-do-cavalo>. Acessado em: 22/09/2020

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de defesa agropecuária. **Instrução normativa nº 24**, 2004.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de defesa agropecuária. **Instrução normativa nº 17**, 2008.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de defesa agropecuária. **Portaria nº 35, de 17 de abril de 2018**.

CARRIJO JUNIOR, Osmar Alves; MURAD, Júlio César Bertolucci. **Animais de grande porte II**. Brasília: NT Editora. 192p, 2016.

CARVALHO, Jéssica de Crasto Souza. **Frequência de casos de mormo em asininos no Brasil no período de janeiro de 2018 a abril de 2019**. Orientador: Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota, 2019. 44 f. Relatório do estágio supervisionado obrigatório (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife - PE, 2019.

DIEHL, Gustavo Nogueira. Mormo. **Informativo Técnico do DDA**, Secretaria Estadual de Agricultura, Pecuária e Agronegócio do Rio Grande do Sul, Informativo Técnico Nº6/Ano 04, n.p., junho. 2013.

FALCÃO, Marcus Vinícius Dias; SANTANA, Vania Lucia de Assis; VASCONCELOS, Cristiane de Melo; SILVA, Cecília Maria de Souza Leão e; SOUZA, Marcília Maria Alves de; SILVA, Luiz Evandro da; BARRETTO, Mariana Lumack do Monte; Padronização de Western Blotting para diagnóstico do Mormo (*Burkholderia Mallei*) em equídeos. **Jornada de ensino, pesquisa e extensão**, Recife, ano 8, v.1, n.1, p.13, dezembro. 2013.

FONSECA-RODRÍGUEZ, Osvaldo; PINHEIRO JÚNIOR, José Wilton; MOTA, Rinaldo Aparecido. Spatiotemporal Analysis of Glanders in Brazil. **Journal of Equine Veterinary Science**, Elsevier - Amsterdã, 78, p.14-19, abril. 2019.

GOUVEIA FILHO, Paulo Castelo Branco de; **Desempenho da fixação do complemento para diagnóstico do mormo utilizando antígeno de cepas brasileiras de *Burkholderia Mallei***. Orientador: Prof. Dr. Roberto Soares Castro, 2017. 41 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE, 2017.

HENRICH, Katyaline; ZAFANELLI, Gabriel; FORTES, Carlos Hermínio Magalhaes; NASCIMENTO, Caroline Antunes do; DALENOGARE, Christian Dos Santos; ROSA, Luciana Dalla. **Mormo em equinos: Revisão de literatura**. XXIV Seminário Interinstitucional de ensino, pesquisa e extensão. Universidade de Cruz Alta – Unicruz. Cruz Alta – RS. Disponível em: <https://home.unicruz.edu.br/seminario/anais/anais-2019/XXIV%20SEMINARIO%20INTERINSTITUCIONAL/Mostra%20de%20Iniciacao>

[%20Cientifica/Ciencias%20Exatas,%20agrarias%20e%20engenharias/RESUMO%20EXPANDIDO/MORMO%20EM%20EQUINOS%20-%20REVIS%C3%83O%20DE%20LITERATURA%20-%209353.pdf](#)

Acessado em: 18/02/2021

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, SIDRA: Sistema IBGE de Recuperação Automática, **Pesquisa da Pecuária Municipal: Tabela 3939 – Efetivo dos rebanhos**. 2019. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939> Acessado em: 15/08/2020

IMA, Instituto Mineiro de Agropecuária, Defesa Animal, Programas Sanitários, **PNSE – Equídeos**. Belo Horizonte – MG, 2019. Disponível em: <http://www.ima.mg.gov.br/defesa-animal/programas-sanitarios/equideos> Acessado em: 25/09/2020

KETTLE, A.N.B.; WERNERY, U. Glanders and the risk of introduction through the international movement of horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 48, n. 5, p. 654-658, 2016. Disponível em: <https://beva.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/evj.12599> DOI: <https://doi.org/10.1111/evj.12599>

LEOPOLDINO, Danielly Cristina de Castro; OLIVEIRA, Richard Guimarães de; ZAPPA, Vanessa. Mormo em equinos. **Periódicos Semestral Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, Garça – SP, Ano VII, n.12, p. 1 – 6, janeiro, 2009.

MIGUEL, Marina Pacheco; MENEZES, Liliana Borges de; ARAÚJO Eugênio Gonçalves de. *Western blotting*: a técnica e aplicações na pesquisa e rotina diagnóstica em medicina veterinária. **Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.8, n.15, p. 1704 - 1719, out. / nov. 2012.

MORAES, Daniella Dianese Alves de. **Prevalência de mormo e anemia infecciosa equina em equídeos de tração do distrito federal**. Orientador: José Renato Junqueira Borges, 2011. 75 p. Dissertação (Mestrado em saúde animal) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília. Brasília – DF, 2011.

MOTA, Rinaldo Aparecido. Aspectos etiopatológicos, epidemiológicos e clínicos do mormo. **Revista veterinária e zootecnia**, Recife, V.13, Nº 2, P.117-124, dezembro de 2006.

MOTA, Rinaldo Aparecido; BRITO, Marilene F.; CASTRO, Fabrício J. C.; MASSA, Marcos. **Mormo em equídeos nos estados de Pernambuco e Alagoas**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.20, n.4, p. 155-159. 2000.

OLIVEIRA, Elaine Cristina de Freitas. **Prevenção de surtos de anemia infecciosa equina e mormo nos equinos do exército brasileiro**. Orientador: José Roberto Pinho de Andrade Lima, 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Obtenção do Grau Especialização em Ciências Militares) - Escola de Aperfeiçoamento de Oficiais. Rio de Janeiro, 2016.

RICHTER, Gabriela. **Panorama da equinocultura no Rio Grande do Sul: evolução de 2010 a 2016**. Orientadora: Prof. Dra. Petra Garbade, 2017. 64 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, 2017.

ROCHA, Larissa Otaviano da; **Infecção por *Burkholderia mallei* em equídeos e cobaias (*Cavia porcellus*): avaliação da resposta humoral e estudo clínico**. Orientadora: Prof. Dra. Karla Patrícia Chaves da Silva, 2018. 58 f. Dissertação (Mestrado em ciência animal) - Unidade Educacional Viçosa, Universidade Federal de Alagoas, Viçosa – AL, 2018.

SAID, Nathália Cristina; NARDI JUNIOR, Geraldo de; DOMINGUES, Paulo Francisco. Mormo em equinos e a biossegurança no agronegócio. **Tekhne e Logos**, Botucatu - SP, v.7, n.3, p. 29 – 44, dezembro. 2016.

SILVA, Rodrigo Lopes Bragança. **Gerenciamento por processos de negócios na gestão e no controle epidemiológico do mormo no Brasil**. Orientador: Prof. Dr. Celso da Costa Carrer, 2019. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciências com ênfase em Gestão e Inovação na Indústria Animal) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2019.

SOUSA, Fernanda Mendes de. **Caracterização epidemiológica de práticas de manejo e fatores de risco para doenças infecciosas em equinos de propriedades de Uberlândia-MG**. Orientador: Prof.<sup>a</sup>. Dra. Anna Monteiro Correia Lima, 2017. 45 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2017.

SOUZA, Giovanna Dutra; ESTELUTI, João Gabriel Salomão; BOVINO, Fernanda. Doenças Infecciosas: Retrospectiva da Incidência e Legislação Vigente de Mormo no Brasil. **Jornal MedVetScience FCAA**, Andradina, v.2, n.1, p.13-17, Andradina – SP, julho.2020.

TAKEUTI, Rafael Pereira. **AVALIAÇÃO DO TESTE DE ELISA INDIRETO PARA O DIAGNÓSTICO DE MORMO**. Orientador: Prof. Adjunto Francisco Leydson Formiga Feitosa, 2017. 19 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, Campus de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba, 2017.

VARGAS, Renison Teles; OLIVEIRA JÚNIOR, Carlos Augusto de; SILVA, Nivaldo da. Situação atual do mormo no Brasil. **EPAMIG: quatro décadas de pesquisa agropecuária em Minas Gerais** - Revista V&Z em Minas, Belo Horizonte- MG, Ano XXIV, n. 127, p. 43 – 51, out./nov./dez. 2015.

VIEIRA, Claudia Elisa Martins. **Perfil biométrico de equinos quarto de milha na região de Manaus, AM, Brasil**. Orientador: Dr. Alexandre Alberto Tonin, 2020. 36p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2020.



## LEYDIGOCITOMA TESTICULAR ASSOCIADO A TVT PROSTÁTICO E PENIANO EM CÃO – RELATO DE CASO

**Acadêmicos:** Alexandre Knupp Carvalho Vaz de Araújo e Mateus Alves Monteiro  
**Orientadora:** Mayara Cristini Ferreira De Aguiar

### RESUMO

O leydigocitoma é uma neoplasia que acomete as células produtoras de testosterona e é um dos principais tumores testiculares em canídeos. Os sinais clínicos são raros e normalmente é descoberto acidentalmente nos exames de rotina, apresentando caráter benigno e raramente metastático. Para o diagnóstico definitivo, é necessário o exame histopatológico e o tratamento mais utilizado é a ablação escrotal. O Tumor Venéreo Transmissível (TVT) acomete com maior frequência cães jovens de vida livre. Frequentemente, acomete os órgãos genitais, sendo possível a ocorrência de metástase em diferentes locais. Possui sinais clínicos característicos e o diagnóstico é feito com base no exame físico e análise laboratorial. O tratamento de eleição são aplicações do quimioterápico sulfato de vincristina. O presente trabalho tem como objetivo relatar o caso de um cão atendido no Hospital Veterinário da Faculdade Univértix sob a queixa de sangramento peniano e assimetria testicular. Trata-se de um cão jovem, sem raça definida, apresentando sangramento profuso peniano e aumento da circunferência escrotal. No exame físico, todos os parâmetros se encontravam dentro da normalidade da espécie. Foram realizados exames complementares, dentre eles a citologia da lesão peniana, análise hematológica, ultrassonografia e radiografia, onde confirmou-se a presença de TVT na base do pênis pela citologia e metástase de TVT na próstata do paciente pela punção guiada pelo ultrassom. O tratamento escolhido foi a castração pela técnica fechada seguida da ablação escrotal e recomendação de um posterior tratamento quimioterápico do TVT. O testículo alterado foi encaminhado para análise histopatológica, sendo confirmado o diagnóstico de leydigocitoma.

**PALAVRA CHAVE:** Ablação Escrotal; Metástase; Cães; Neoplasia Testicular.  
**LINHA DE PESQUISA:** Clínica e Cirurgia Animal.

### INTRODUÇÃO

Tumores testiculares são considerados neoplasias que comumente acometem canídeos, principalmente indivíduos senis. Dentre as possíveis afecções, o leydigocitoma é um dos tumores testiculares mais comuns dessa espécie (MARQUES *et al.*, 2020).

O leydigocitoma é uma neoformação que acomete as células produtoras de testosterona. Apresenta caráter benigno e crescimento lento, sendo comumente diagnosticado em criptorquidas. Essa alteração é limitada pela cápsula testicular e o animal raramente demonstra sinais clínicos. Somente 16% dos acometidos relatam aumento testicular, não tendo caráter metastático (CRUZ, 2020).

Esse tumor ocorre em testículos, de forma única ou disseminada. Apresenta consistência macia, é encapsulado e raramente excede dois centímetros de diâmetro, sendo difícil a palpação e de raro processo metastático. Os cães afetados podem ser inférteis e muito frequentemente o testículo afetado terá um tamanho normal (FOSSUM, 2015).

O diagnóstico confirmatório se dá pela realização da citologia, coletada por punção aspirativa com agulha fina (PAAF) ou análise histopatológica após excisão cirúrgica. Somente após o procedimento cirúrgico e análise do material é que se dá a confirmação da neoplasia testicular (FARIA *et al.*, 2018).

O tratamento de escolha para o tumor das células de Leydig é a orquiectomia bilateral através de uma ablação escrotal (FOSSUM, 2015).

O tumor venéreo transmissível (TVT) é uma neoplasia benigna, altamente contagiosa e sexualmente transmissível entre os cães, sendo relatado também em outras espécies de canídeos, como lobos e coiotes. Apresenta massas hiperêmicas e nodulares com secreção serossanguinolenta. O diagnóstico se dá pela análise citológica ou histopatológica. O tratamento é feito com quimioterápicos, sendo o sulfato de vincristina o fármaco de eleição (SANTOS *et al.*, 2021).

Este trabalho tem como objetivo relatar o caso de um cão com o diagnóstico de leydigocitoma testicular e TVT peniano e prostático, atendido no Hospital Veterinário da Faculdade Univértix.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **ANATOMIA DO ÓRGÃO REPRODUTOR**

O sistema reprodutivo masculino é responsável pela produção de hormônios sexuais, além de desenvolver e armazenar os espermatozoides até o momento da fecundação (COLVILLE, BASSERT, 2010). Esse complexo aparelho consiste em uma bolsa escrotal na região inguinal, responsável por revestir o par de testículos, epidídimo, ducto deferente, vasos e nervos associados cobertos por uma túnica vaginal parietal, visceral e fâscia espermática. Fora desta bolsa estão presentes a uretra, glândulas genitais acessórias, pênis e prepúcio (KÖNIG, LIEBICH, 2016; FOSSUM, 2015).

Os testículos se localizam na região perineal e nos cães encontra-se na posição horizontal, estando envolto pelo escroto. Este é constituído por uma pele fina,

com glândulas sudoríparas e sebáceas; pode-se apresentar pigmentada e normalmente se encontra sem pelos, porém essa não é uma característica constante. Internamente se adere à camada de músculo liso, denominada túnica dartos, que tem como função auxiliar na termorregulação, promovendo o enrugamento e relaxamento da pele. Intimamente à túnica dartos, se localiza a fáscia espermática, um prolongamento da cavidade abdominal que apresenta íntimo contato com os testículos (DYCE, SACK, WENSING, 2010).

Os testículos possuem duas funções principais: espermatogênese e a produção hormonal. A espermatogênese é o processo de produção dos espermatozoides através das células de suporte até os túbulos seminíferos. A produção de hormônios sexuais, é feita pelas células intersticiais, sendo o principal a testosterona, hormônio responsável pelo desenvolvimento das características de macho da espécie (COLVILLE, BASSERT, 2010).

O epidídimo é dividido em três componentes anatômicos: cabeça, corpo e cauda. A cabeça recebe os espermatozoides recém-formados no testículo e promove a absorção do fluido testicular, no corpo, que é formado pelo ducto do epidídimo, o espermatozoide ganha motilidade, vigor e perde a gota citoplasmática, os fragmentos celulares sofrem fagocitose e os nutrientes necessários para os espermatozoides serão secretados, e, por último, a cauda, responsável apenas pelo armazenamento espermático (HAFEZ, HAFEZ, 2004).

Histologicamente pode-se diferenciar três segmentos na região do ducto do epidídimo, sendo os dois iniciais relacionados à maturação espermática e o último ao depósito espermático (HAFEZ, HAFEZ, 2004).

A uretra se inicia no óstio interno a partir do colo da bexiga urinária e termina no óstio externo na extremidade da glândula do pênis. O óstio ejaculatório se une com as vias da urina e do sêmen. A região pélvica da uretra transpassa a parte peniana num trajeto de arco convexo caudal com um aumento considerável da circunferência do corpo erétil (BUDRAS *et al.*, 2012).

Os cães não apresentam glândulas vesiculares, no entanto possuem próstata desenvolvida, que se localiza próximo à uretra e ao colo da bexiga. Nos cães idosos, a próstata pode se localizar na região intra-abdominal (DYCE, SACK, WENSING, 2010). Ela se apresenta em tamanhos variados de acordo com a idade e peso do

animal, sendo maior nos cães, pois é a única glândula reprodutiva acessória que apresentam (COLVILLE, BASSERT, 2010).

A glândula bulbouretral é encontrada em todos os mamíferos domésticos, com exceção do cão. Ela se situa na face dorsal da uretra pélvica próxima à extremidade caudada (KÖNIG, LIEBICH, 2016).

O pênis se divide em raiz, corpo e glande, sendo formado por dois tipos diferentes de corpos. Um deles corresponde ao corpo cavernoso, enquanto a outra parte se refere ao corpo esponjoso. Na glande do pênis, os corpos cavernosos se unem para formação do osso peniano. O corpo cavernoso da glande é derivado do corpo esponjoso do pênis (BUDRAS *et al.*, 2012).

## **LEYDIGOCITOMA**

O leydigocitoma é uma neoplasia que se origina das células responsáveis pela produção de testosterona, que estão localizadas no espaço intersticial, e se inicia como uma região de hiperplasia nodular, sendo uni ou bilateral, múltiplo ou único e de diâmetro variável (OLIVEIRA, 2019).

Macroscopicamente os tumores das células de Leydig são os menores e mais macios tumores palpáveis, bem demarcado, esférico, de coloração amarelada a alaranjada, vascularizado, podendo ter áreas de hemorragia e necrose. Este tumor apresenta padrões de benignidade, sem demonstrar características invasivas (OLIVEIRA, 2019; SCHIABEL, 2018).

Microscopicamente o tumor se apresenta com células arredondadas ou fusiformes e normalmente possui quantidades abundantes de citoplasma leve a moderadamente basofílico. É comumente observado um arranjo perivascular, possui núcleos redondos a ovais, cromatina reticular fina e nucléolos pequenos e proeminentes. Anisocariose moderada a acentuada e razões núcleo/citoplasma variadas são observadas. Pequenos vacúolos citoplasmáticos uniformes e claros são comuns, grânulos citoplasmáticos escuros e de forma irregular podem estar presentes em algumas células (HENSON, 2003).

A maioria dos casos de neoplasias testiculares são assintomáticos, muitas vezes é um achado no exame físico, ou verificado através de exames de imagem (ARGENTA *et al.*, 2016).

## **Sinais clínicos**

Os sinais clínicos vão depender do tamanho e da localização no testículo acometido, sendo raros os sinais de infertilidade. Caso a mesma ocorra, será devido degeneração do epitélio seminífero normal pela compressão tumoral (DALECK, DE NARDI, 2016).

O Leydigocitoma apresenta raríssimos sinais extratesticulares, cujo, sinal clínico normalmente observado é a feminilização. Nesses animais foram detectados altos níveis de estrógeno e inibina no sangue venoso periférico e testicular em cães com sertolioma e leydigocitoma se comparados a cães saudáveis, além disso as concentrações de testosterona e LH se encontravam reduzidas (DALECK, DE NARDI, 2016).

Segundo Daleck, De Nardi (2016) a metástase de leydigocitoma é rara, porém ela já foi citada na literatura por Nascimento *et al.*, (2020) em um estudo retrospectivo que utilizou como base 190 cães acometidos por tumores testiculares, em que 46 destes apresentaram leydigocitoma e apenas um manifestou malignidade, apresentando obliteração do parênquima testicular, alto índice mitótico e áreas de necrose, sendo observada metástase em múltiplos órgãos e tecidos.

Metástases também foram citadas em membro pélvico esquerdo de um Fox Terrier de 11 anos, descrito por Togni, Rütten, Rohrer Bley, Hurter (2015), um Golden Retriever de 11 anos com nódulos na região interescapular e na base do crânio por Canadas, Romão, Gärtner (2016), em um Pastor de Shetland de 14 anos com massa crescente e ressecada no ângulo esquerdo da boca e um SRD de 13 anos com múltiplos nódulos na região dorsal do pescoço, tórax e membro pélvico direito por Kudo *et al.*, (2019).

Essa neoplasia raramente apresenta malignidade, não estando relacionada ao hiperestrogenismo, mas existem relatos de hiperandrogenismo paraneoplásico devido à secreção periférica de andrógenos pelo mesmo, aumentando o risco de aparecimento de neoplasias perineais e prostáticas (DALECK, DE NARDI, 2016).

## **Diagnóstico**

Normalmente, o diagnóstico deste tumor se dá ao acaso, a partir da palpação cuidadosa dos testículos durante os exames físicos de rotina do animal (NELSON, COUTO, 2015).

O diagnóstico confirmatório das neoplasias testiculares nos cães se dá pela avaliação histopatológica do testículo afetado, porém podem ser empregados métodos diagnósticos complementares como a citologia aspirativa por agulha fina e ultrassonografia testicular (DALECK, DE NARDI, 2016).

Ao exame ultrassonográfico, a anatomia normal do testículo canino apresenta uma ecotextura densa, homogênea e fina com uma cápsula hiperecótica. Quando acometido por neoplasias, apresenta padrão heterogêneo com áreas hipoeecóticas ou anecóticas. Áreas hiperecóticas podem ser observadas em grandes massas e estão relacionadas com calcificação (DALECK, DE NARDI, 2016).

### **Tratamento**

A orquiectomia bilateral é o tratamento de escolha, porém se o cão for um reprodutor importante, a orquiectomia unilateral pode ser considerada, caso a ultrassonografia do testículo contralateral não exiba evidências de neoplasia bilateral. Entretanto, se o animal for criptorquídico, ambos os testículos devem ser removidos, já que o criptorquidismo tem caráter hereditário. Se não houver evidência de metástase e o tumor for removido, não há necessidade de tratamento complementar, visto que o prognóstico é bom em virtude de seu baixo poder metastático (NELSON, COUTO, 2015).

A técnica de ablação escrotal é indicada para o tratamento de tumores testiculares dos animais domésticos (TOBIAS, JOHNSTON, 2013).

Caso seja identificada metástase, é indicado a quimioterapia com cisplatina em intervalos de 21 dias, de 3 a 6 infusões, sempre com diurese salina para diminuir a nefrotoxicidade. A poliquimioterapia pode ser feita com vimblastina, ciclofosfamida e metotrexato. Os ciclos são repetidos com intervalos de 2 semanas, quantas vezes forem necessárias, sempre levando em conta as chances de o paciente manifestar grave mielossupressão e cistite hemorrágica (DALECK, DE NARDI, 2016).

### **TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL**

O Tumor Venéreo Transmissível (TVT) é de ocorrência natural, transmitido através da cópula ou pelo contato da neoplasia com outras mucosas. Acomete a espécie canina, apresentando predominância maior em animais jovens, errantes e sexualmente ativos. Comumente o TVT se localiza nos órgãos genitais de cães,

apresenta aspecto de couve flor, friável, secreção serossanguinolenta, deformidades, odor intenso e necrose. A metástase pode ser observada na pele, linfonodos, ossos, próstata, fígado, rins, pleura, mesentério, baço, entre outros (CRIVELLENTIN, BORIN-CRIVELLENTIN, 2015).

### **Diagnóstico**

O diagnóstico se dá pelo histórico do animal, associado à avaliação laboratorial de amostras das lesões, coletadas por imprint tecidual com lâmina de microscopia, punção aspirativa com agulha fina ou exame histopatológico (CAMOLESE *et al.*, 2017).

Neoplasias como o mastocitoma, histiocitoma e linfoma são formados por células redondas, tais como o TVT, se fazendo necessário a realização de seu diagnóstico diferencial (BERNDT, ROSA, KATAOKA, 2016).

### **Tratamento**

Devido à boa resposta de regressão tumoral e relativa baixa toxicidade quando comparada aos demais quimioterápicos, o sulfato de vincristina tem se mostrado eficaz no tratamento do TVT, sendo este o tratamento de eleição (DUZANSKI, 2017).

O tratamento consiste na quimioterapia parenteral com sulfato de vincristina 0,5-0,75 mg/m<sup>2</sup>, IV. Repetir a cada 7 dias, até a completa regressão do tumor, sendo indicado a realização de mais duas sessões após a regressão completa da lesão (CRIVELLENTIN, BORIN-CRIVELLENTIN, 2015).

Efeitos colaterais podem acontecer com o uso da vincristina, mielossupressão, constipação, íleo paralítico, inibição da agregação plaquetária, alterações dermatológicas, hematológicas, entre outros e é contraindicado o uso em gestantes e lactantes e usado com cautela em hepatopatas (FERREIRA *et al.*, 2017; VIANA, 2014).

### **RELATO DE CASO**

Trata-se do relato de um animal da espécie canina, SRD, com idade estimada em 4 anos, 36 kg, atendido dia primeiro de outubro de 2020 no Hospital Veterinário da Faculdade Univértix, Matipó – MG. Por ser um animal errante, foi resgatado por uma organização não governamental (ONG), apresentando sangramento profuso

peniano, aumento de volume testicular, sem histórico de vermifugação e vacinação. Ao atendimento clínico, havia presença de ectoparasitas (pulga) e foi relatada normodipsia, normofagia e normoquesia.

No exame físico, os valores da frequência respiratória e cardíaca estavam normais, TPC <2 segundos, mucosas normocoradas, turgor cutâneo aumentado, alteração na circunferência peniana e assimetria testicular com aumento de volume do testículo direito (FIGURA 1).

Na inspeção do pênis, foi observado sangramento profuso, presença de massa friável, eritematosa, com aspecto de couve flor, localizada na base do pênis (FIGURA



**Figura 1: Assimetria testicular de paciente canino atendido no Hospital Veterinário com diagnóstico de leydigocitoma testicular unilateral direito. FONTE: Arquivo pessoal.**

2). A coleta de material para a avaliação citológica foi realizada utilizando swab e imprint da lesão, sendo diagnosticado um tumor venéreo transmissível (TVT).



**Figura 2: Massa friável e eritematosa na região da base do pênis apresentando sangramento profuso**  
**FONTE: Arquivo pessoal.**

Exames hematológicos (TABELA 1) e bioquímicos (TABELA 2) foram realizados para analisar a função renal, hepática e as células sanguíneas, nos quais não foram evidenciadas alterações significativas.

**Tabela 1: Hemograma de paciente canino, macho, idade estimada de 4 anos**

<b>Parâmetro</b>	<b>Resultado</b>	<b>**Valores de referência</b>
<b>Hematócrito</b>	38%	37 – 55%
<b>Eritrócitos totais</b>	5,25	5.5 – 8 milhões/mm <sup>3</sup>
<b>Hemoglobina</b>	139	110 – 190 g/dl
<b>VCM</b>	68,1	60 – 77 fL
<b>HCM</b>	26,4	19.5 – 24.5 pg
<b>CHCM</b>	389	300 – 380 g/L
<b>Leucócitos totais</b>	8700	6.000 – 17.000
<b>Segmentados</b>	5046	3.600 – 13.090
<b>Bastonetes</b>	87	0 – 510
<b>Linfócitos</b>	1479	720 – 5.100
<b>Monócitos</b>	0	180 – 1.700
<b>Eosinófilos</b>	2088	120 – 1700
<b>Basófilos</b>	0	Raros
<b>Plaquetas</b>	182	117 – 460x10 <sup>9</sup> /L
<b>Proteína Plasmática Total</b>	7,0	5.5 – 8 g/dL

**\*Avaliação microscópica:** Anisocitose moderada e presença de macroplaquetas.

**Tabela 2: Exame bioquímico sérico do paciente canino, macho, idade estimada de 4 anos**

Parâmetros	Resultados	**Valores de referência
Ureia	21,8	21.4 – 59.92 md/dL
Creatinina	1,86	0.5 – 1.5 mg/dL
ALT	32	4.8 – 24 U/L
AST	27	23 – 66 U/L

Fonte: Hospital Veterinário Univértix.

\*\*Disponível em: [https://www.ufrgs.br/lacvet/tabela\\_referencia.php](https://www.ufrgs.br/lacvet/tabela_referencia.php)

Também foi realizada a avaliação sérica hormonal de testosterona, estrógeno e progesterona, no qual todos estavam dentro dos valores de referência para a espécie.

Exames de imagem, como a ultrassonografia abdominal e radiografia torácica foram realizadas devido à suspeita de neoplasia testicular. Ao exame ultrassonográfico foi evidenciado parênquima prostático heterogêneo com espaços intraparenquimais preenchidos por líquido, formando imagem hipoecogênica (FIGURA 3), sendo realizada a coleta por punção aspirativa guiada pelo ultrassom e realizada a análise citológica, que demonstrou células compatíveis com TVT em parênquima prostático.



**Figura 3: Prostatomegalia com parênquima heterogêneo, espaços intraparenquimais, formando imagem hipoecogênica. FONTE: Arquivo pessoal.**

Durante o exame físico através da palpação escrotal, foi possível observar consistência flácida e flutuante, o que sugere acúmulo de líquido. Após a realização de todos os exames, o animal foi encaminhado para a correção cirúrgica.

Para o tratamento cirúrgico desse paciente, foi planejada a realização de uma orquiectomia fechada, seguida pela ablação escrotal e, por fim, dermorrafia.

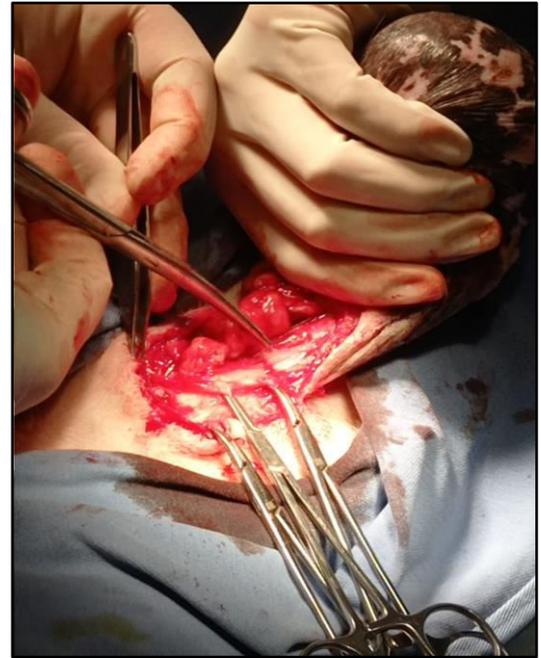
Previamente ao procedimento cirúrgico, realizou-se jejum hídrico e alimentar de 8 horas, bem como a administração do antibiótico profilático cefalotina na dose de 20 mg/kg.

Em seguida, realizou-se a medicação pré-anestésica, utilizando morfina (0,3 mg/kg) e acepromazina (0,03mg/kg), seguida de tricotomia ampla da região inguinal para o procedimento cirúrgico. Foi escolhido como fármaco para indução o propofol (6mg/kg), e a manutenção anestésica do procedimento foi feita com o fármaco isoflurano. O paciente foi posicionado em decúbito dorsal; realizou-se a antisepsia com iodopovidona 10% seguida de álcool 70%. Para a profilaxia da infecção, foi realizado isolamento do sítio cirúrgico com os panos de campo, sendo fixados ao paciente com auxílio de pinças *backhaus*.

A partir de uma incisão elíptica ao redor do escroto, foi realizada a divulsão do tecido subcutâneo e rompimento dos ligamentos fibrosos da túnica do cordão espermático. Em seguida, foi realizada a transfixação do cordão espermático e da túnica vaginal com fio monofilamentar absorvível (Caprofyl 0), objetivando hemostasia definitiva do mesmo e técnica de castração fechada (FIGURA 4). Procedimento também realizado no testículo contralateral. Após a transfixação de ambos e a excisão do cordão espermático, realizou-se a retirada do escroto juntamente com os testículos (FIGURA 5). Foi feita a redução do espaço subcutâneo com sutura em "X" ou Sultan com fio caprofyl 2-0 e, após essa etapa, a dermorrafia com fio monofilamentar não absorvível (Nylon 2-0), sendo Wolff a sutura de escolha devido a sua capacidade de manter a tensão dos nós e por ser evaginante, promove maior segurança frente a contaminações.



**Figura 4:** Transfixação do cordão espermático e sua túnica vaginal. **FONTE:** Arquivo pessoal



**Figura 5:** Divulsão do subcutâneo para retirada testicular (ablação escrotal). **FONTE:** Arquivo pessoal

O paciente foi liberado após a recuperação anestésica, prescrito como antibiótico cefalexina (30mg/kg), BID, 10 dias, anti-inflamatório meloxicam (0,2mg/kg), SID, 4 dias e para analgesia dipirona (25mg/kg), TID, 10 dias. No pós-operatório, foi indicado a limpeza da ferida a cada 8 horas com solução fisiológica e uso do colar elisabetano até a retirada dos pontos.

Foi requisitado o exame histopatológico do testículo afetado após o procedimento cirúrgico, sendo diagnosticada a presença de leydigocitoma.

Para o tratamento do TVT previamente identificado, foram indicadas sessões de quimioterapia utilizando sulfato de vincristina até a remissão completa da neoplasia peniana e prostática, porém, após a retirada dos pontos cirúrgicos, o paciente não retornou para a realização das sessões de quimioterapia.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Segundo estudos de Cruz (2020) e Oliveira (2019), apenas 16% dos casos de leydigocitoma apresentam aumento testicular, porém o paciente do presente trabalho apresentou notável aumento, além de não ser criptorquida, descrito como uma qualidade padrão para o desenvolvimento de tumores testiculares por Domingos e Salomão (2011), Argenta *et al.*, (2016) e Peroba *et al.*, (2020) que também citaram o

acometimento com maior frequência de animais idosos, não sendo compatível com o animal deste estudo que estima-se ter 4 anos.

No exame físico, foi notado sangramento profuso peniano, massa com apresentação sólida, hiperêmica, friável e aspecto de couve-flor, condizente com os relatos sobre TVT escritos por Ribeiro, Zappa (2008), Ferreira *et al.*, (2017); Duzanski (2017).

Conforme os trabalhos de Schiabel (2018) e Oliveira (2019) o parênquima do testículo acometido pelo leydigocitoma apresenta coloração amarelada a alaranjada, vascularizado, podendo ter áreas de hemorragia e necrose, fato concordante com os achados encontrados no testículo acometido do animal deste relato.

Quanto à avaliação hematológica e bioquímica, o animal se apresentou com eosinofilia, CHCM elevado, megaplaquetas e alteração na creatinina e ALT. Segundo Stockham e Scott (2011) a eosinofilia se dá pela possível presença parasitária, já que o animal não apresentava histórico de vermifugação, além de eosinofilia paraneoplásica. O aumento de CHCM não é fisiologicamente possível, logo não são produzidas hemácias hipercrômicas. Possíveis causas de seu aumento podem ser: hemoglobinemia patológica, oxiglobina, hemólise *in vitro* e interferências na análise da amostra.

Campbell *et al.*, (2020) descreveram que as macroplaquetas são liberadas na corrente sanguínea quando há uma grande demanda pelo corpo, que pode ser explicada pelo consumo plaquetário, em resposta ao sangramento peniano causado pelo TVT.

Rodrigues (2005) relatou que o aumento da ALT tem um pico de liberação no sangue de 3 a 4 dias após lesão tecidual e a persistência de valores alterados acima de duas semanas indica uma patologia crônica, como neoplasia, que é um achado condizente com o quadro clínico apresentado pelo animal.

Dusse *et al.*, (2016) discorreram que o aumento de creatinina em humanos está relacionado a quadros de glomerulonefrite, choques, doenças renais, cardíacas e desidratação. O sinal mais condizente com o paciente, uma leve desidratação, visto que o mesmo apresentava turgor cutâneo aumentado.

Silva Júnior *et al.*, (2019) relataram que o TVT apresenta maior incidência em municípios subdesenvolvidos, onde existe grande população de cães

errantes, políticas de controle de natalidade e posse responsável pouco eficientes, fato condizente com a realidade da cidade onde o animal citado foi resgatado.

Salavessa (2009) alegou que, no exame ultrassonográfico, a próstata apresenta padrão homogêneo, contendo áreas suavemente hipocogênicas, sendo sua ecogenicidade discretamente superior à esplênica. No paciente em questão, foi possível observar um parênquima prostático heterogêneo com espaços intraparenquimais preenchidos por líquido, formando imagem hipocogênica. Segundo Lima (2017), esses são achados sugestivos para hiperplasia prostática benigna devido ao parênquima heterogêneo, prostatite pelo aumento prostático e ecotextura heterogênea e por fim, as coleções líquidas intraparenquimais em neoplasias.

De acordo com os estudos de Nunes e Filgueira (2014) a taxa de metástase do TVT canino varia entre 0 a 17%, com maior risco nos animais que abrigam o tumor primário por um período acima de dois meses. Foram citados por Duzanski (2017) relatos de metástase em olho, pele, tecido subcutâneo, linfonodos, tonsilas, cérebro, medula espinhal, músculos, glândula mamária, hipófise, rins, baço, pâncreas, fígado, pulmão, ovários, testículos e também em ossos. Com base no histórico do animal e a presença de metástase do TVT somente na próstata, foi estimado que o tempo de infecção do animal pela neoplasia possa ultrapassar os dois meses.

Zupa, Oliveira, Theodoro e Lucio (2019) disseram que a excisão cirúrgica é dificultada pela localização destes tumores nos órgãos genitais, logo a cirurgia é indicada para lesões isoladas ou metastáticas em determinados casos. No entanto, tem alta taxa de recidiva, pois durante o procedimento pode haver a transplantação de células neoplásicas no local da cirurgia ou em outros sítios, por meio de luvas e instrumentais cirúrgicos.

De acordo com a literatura de Daleck e De Nardi (2016) animais que apresentam leydigocitoma e sertolioma apresentam altos níveis de estrógeno, que por sua vez se apresentou dentro dos parâmetros normais da espécie.

Devido à suspeita da neoplasia testicular e os benefícios que a orquiectomia apresenta, a ablação escrotal foi a técnica de escolha para o tratamento cirúrgico, visando abranger uma maior margem cirúrgica, por se tratar de um possível tumor e para posterior análise histopatológica, além de melhorar a aparência após a castração proporcionando conforto ao animal, retirando o excesso de pele gerado pelo aumento

do testículo, conforme relatou Fossum (2015), além disso, em associação a ablação escrotal foi realizada uma orquiectomia fechada, assim a cavidade abdominal não é exposta ao meio externo, diminuindo as taxas de infecção, conforme citou Sacramento (2008).

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Devido às diferenças apresentadas no Leydigocitoma quando comparado às literaturas mais comuns, se mostra necessário o estudo mais profundo das neoplasias testiculares e minuciosidade ao avaliar pacientes com essa suspeita. O TVT é uma doença com alto poder de disseminação, pode se apresentar de diferentes formas e em diferentes órgãos. Possui um potencial metastático em infecções prolongadas, evidenciando a importância do exame citológico e da biópsia da lesão para a identificação da doença, como observado no presente caso.

## **REFERÊNCIAS**

- ARGENTA, F. F *et al.*, Neoplasmas testiculares em cães no Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 44: p. 1-6, Nov. 2016.
- BERNDT, T. R; ROSA, A. C; KATAOKA, A., Transmissible Venereal Tumor - Literature Review. **Scientific Electronic Archives**, v. 9, n. 5, p. 170-176, Nov. 2016.
- BUDRAS, K. D *et al.*, **Anatomia do Cão. Texto e Atlas**. 5 ed. São Paulo: Editora Manole Ltda, 2012.
- CAMOLESE, L *et al.*, Tumor venéreo transmissível com metástases cutânea e ocular em cão: relato de caso. **Revista Unimar Ciências**, v. 25, n. 1-2, 2017.
- CAMPBELL, L. M *et al.*, Perfil hematológico de cães e gatos destinados à castração no município de Mineiros, GO. **PUBVET**, Belém, v. 14, n. 12, a711, p. 1-7, Dez. 2020.
- CANADAS, A; ROMÃO, P; GÄRTNER, F. Multiple cutaneous metastasis of a malignant Leydig cell tumour in a dog. **Journal of comparative pathology**, v155, n. 2-3: p. 181-184, 2016.
- COLVILLE, T; BASSERT, J.M. **Anatomia e Fisiologia Clínica para Medicina Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2010.
- CRIVELLENTIN, L. Z.; BORIN-CRIVELLETTIN, S. **Casos de rotina em medicina veterinária de pequenos animais**. 2ed. São Paulo, 2015.
- CRUZ, A. S. **Quimiodectoma, colangiocarcinoma, leydigocitoma, adenoma, adrenocortical e adenoma folicular de tireóide concomitantes em um cão**.

Orientador: Ricardo Barbosa de Lucena. 2020. 26 f. Monografia (Graduação) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2020.

DALECK, C. R; DE NARDI, A. B. **Oncologia em cães e gatos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016.

DOMINGOS, T. C. S; SALOMÃO, M. C. Meios de diagnóstico das principais afecções testiculares em cães: revisão de literatura. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** Belo Horizonte, v.35, n.4, p.393-399, out/dez, 2011.

DUZANSKI, A. P. **Interação entre hospedeiro e tumor venéreo transmissível canino: diversidade de células mononucleares e do complexo principal de histocompatibilidade**. Orientador: Noeme Sousa Rocha. 2017. 149 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”, Botucatu, 2017.

DYCE, K. M; SACK, W. O; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2010.

DUSSE, L. M. S *et al.*, Biomarcadores de função renal: do que dispomos atualmente. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. Rio de Janeiro, v. 49, n. 1: p. 41-51, 2016.

FARIA, B. M *et al.*, Sertolioma em um canino associado à criptorquidia, **PUBVET** Belém, v.12, n.1, a16, p.1-4, Jan. 2018.

FERREIRA, M. A. Q. B *et al.*, Aspectos clínicos, hematológicos, bioquímicos e citopatológicos do tumor venéreo transmissível em cães tratados com sulfato de vincristina. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 11, n. 1: p. 8-17, 2017.

FOSSUM, T. W. **Cirurgia de pequenos animais**. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2015.

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

KÖNIG, H. E; LIEBICH, H. G. **Anatomia dos Animais Domésticos-: Texto e Atlas Colorido**. 6 ed. Rio Grande do Sul: Artmed Editora, 2016.

KUDO, T *et al.*, Malignant Leydig cell tumor in dogs: two cases and a review of the literature. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 31, 4: p. 557-561, 2019.

**Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias (LACVET) - Tabela de Referência**. Porto Alegre. Disponível em: [https://www.ufrgs.br/lacvet/tabela\\_referencia.php](https://www.ufrgs.br/lacvet/tabela_referencia.php). Acesso em: 10 Jun. 2021.

LIMA, E. S. C. **Avaliação ultrassonográfica dos órgãos reprodutores de cães (Canis familiaris) em São Luís - MA**. Orientador: Danillo Brenno de Assis Torres. 2017. 55 f. Monografia (Graduação) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2017.

MARQUES, B. A. S *et al.*, Sertolioma em cão associado a criptorquidismo: relato de caso. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. e37990-e37990, 12 dez. 2019.

NASCIMENTO, H. H. L *et al.*, Testicular tumors in 190 dogs: clinical, macroscopic and histopathological aspects. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 7, p. 525-535, Jul. 2020.

NELSON, W. R; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 5 ed. Amsterdam: Elsevier Brasil, 2015.

NUNES, G. D. L; FILGUEIRA, K. D. Disseminação metastática do tumor venéreo transmissível canino. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 12, n. 2, p. 68-69, 28 nov. 2014.

OLIVEIRA, E. M. L. **Tumor testicular misto em cão: relato de caso**. Orientador: Ricardo Barbosa de Lucena. 2019. 49 f. Monografia (Graduação) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2019.

PEROBA, D. E. O *et al.*, Sertolioma benigno em cão sem padrão racial definido e não criptorquida: relato de caso. **A Pesquisa Nos Diferentes Campos da Medicina Veterinária**, Ponta Grossa, v. 1, p. 103-108, 2020.

RASKIN, R. E.; MEYER, D. J. **Atlas de citologia de cães e gatos**. 1.ed. São Paulo: Roca. *In*: HENSON, K. L. Sistema reprodutor. cap.11, 2003.

RIBEIRO, I; ZAPPA, V. Tumor venéreo transmissível em cães. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, São Paulo, v. 1, n 11, Jul. 2008.

RODRIGUES, R. **Enzimas de uso na clínica veterinária**. Seminário apresentado na disciplina de Bioquímica do tecido animal, programa de pós-graduação em ciências veterinárias de UFRGS, 2005. Disponível em: [https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2020/11/enzimas\\_vet.pdf](https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2020/11/enzimas_vet.pdf). Acesso em: 23 de abr. 2021.

SACRAMENTO, T. G. **Emprego da abraçadeira de nylon na orquiectomia em caprinos**. Orientador: João Moreira da Costa Neto. 2008. 43 f. Monografia (Graduação) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2008.

SALAVESSA, C. M. **Ultrassonografia e histopatologia da próstata de cães (*Canis familiaris*)**. Orientador: Leonardo Serafim da Silveira. 2009. 814 f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2009.

SANTOS, I. F. C *et al.*, Estudo retrospectivo de tumor venéreo transmissível em cães (*Canis lupus familiaris*) na região de Garça, São Paulo, Brasil. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 15, n. 1, p. 7-14, Mar. 2021.

SCHIABEL, M. D. **Avaliação das principais lesões testiculares de cães sem raça definida na região de Uberlândia – mg**. Orientador: Marcio de Barros Bandarra.

2018. 47 f. Monografia (Graduação) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal De Uberlândia, Uberlândia, 2018.

SILVA JÚNIOR, A. *et al.*, Aspectos epidemiológicos do tumor venéreo transmissível em cães atendidos no ambulatório clínico, campus sertão, nossa senhora da glória, sergipe. **Anais da Semana de Medicina Veterinária da UFAL-SEMVET**, Alagoas, v. 2, 2019.

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

TOBIAS, K. M; JOHNSTON, S. A. **Veterinary surgery: small animal-E-BOOK: 2-volume set**. 1 ed. Missouri: Elsevier Health Sciences, 2013.

TOGNI, A; RÜTTEN, M; BLEY, C. R; HURTER, K. Metastasized Leydig cell tumor in a dog. **Schweiz Arch Tierheilkd**, v157. 2: p. 111-115, Fev. 2015.

VIANA, F. A. B. **Guia terapêutico veterinário**. 3 ed. Minas Gerais: Editora CEM, 2014.

ZUPA, A. E; OLIVEIRA, A. A; THEODORO, W; LÚCIO, C. F. Tumor venéreo transmissível em cães: revisão de literatura. **Revista Saúde-UNG-Ser**, v. 13, n. 2, p. 109-110, 2019.

# O USO DA ÁGUA DE COCO EM PÓ (ACP-106) COMO DILUENTE NA CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN BOVINO

**Acadêmicos:** Rafael Cortes Pedron Gomes e Talita Aparecida Martins Xavier  
**Orientadora:** Vanessa Lopes Dias Queiroz de Castro

## RESUMO

Fatores importantes como propriedades osmóticas dos gametas, taxa de resfriamento e aquecimento e formação de cristais de gelo intracelular influenciam na sobrevivência espermática após a criopreservação. Desta forma, o diluente e seus componentes exercem uma grande importância pois auxiliam na estabilidade da membrana plasmática da célula espermática. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência da criopreservação do sêmen bovino utilizando um diluidor à base de água de coco em pó (ACP-106®) quando comparado com o citrato gema (controle) por meio da qualidade espermática após descongelamento. Foram submetidos a exame andrológico dois touros nelores adultos. Utilizou-se um ejaculado de cada touro obtido por eletroejaculação que atendeu previamente os padrões mínimos de julgamento e cada ejaculado pós avaliação à fresco foi dividido e acrescido de dois diferentes diluentes constituindo dois tratamentos para cada animal. O tratamento 1 (T1) correspondeu ao diluente à base de citrato-gema e o tratamento 2 (T2) a água de coco em pó, ACP-106®. Após o congelamento/descongelamento foi observada diferença ( $P < 0,01$ ) na motilidade espermática entre os tratamentos. O diluente à base de Citrato -gema (T1) apresentou melhor motilidade em ambos os animais, sendo a média da motilidade para T1 de  $82,8 \pm 1,6\%$  e para o diluente ACP -106® (T2) de  $40,7 \pm 2,6\%$ . O vigor não apresentou diferença estatística entre os tratamentos. A variável quantitativa motilidade espermática foi submetida aos testes de Normalidade (Lilliefors) e Homocedasticidade (Cochran) e posteriormente a análise de variância. As médias foram comparadas utilizando o teste F, adotando-se o nível de 5% de probabilidade. Conclui-se que ambos os diluentes testados atenderam aos parâmetros seminais aceitáveis para pós-descongelamento na espécie bovina. Entretanto, o diluente à base de citrato-gema apresentou estatisticamente motilidade espermática superior.

**PALAVRAS-CHAVE:** Criopreservação, diluente, sêmen, touros

**LINHA DE PESQUISA:** Produção e Reprodução animal

## INTRODUÇÃO

O exame andrológico é um método de avaliação da capacidade reprodutiva de animais previamente à cópula, inseminação artificial e quando se tem o desejo de conservar o material genético, auxiliando na seleção dos reprodutores, diagnóstico de infertilidade e suas causas. Uma das etapas essenciais do exame andrológico é a avaliação do sêmen, sendo um importante meio para prever o potencial reprodutivo de um macho (SANTOS, GOSMES, SIQUEIRA, CARDOSO, 2016).

Dentre as diferentes biotécnicas reprodutivas, a criopreservação de sêmen obtém um melhor aproveitamento de ejaculados provenientes de um mesmo reprodutor, auxiliando na disseminação do mesmo para diversas regiões (SILVA, CARDOSO e SILVA, 2001). A criopreservação exige que amostras de espermatozoides seja submetidas a refrigeração controlada e moderada, com objetivo de manter sua função que é a fecundação do ovócito (SILVA, GUERRA 2011).

Fatores importantes que influenciam na sobrevivência espermática após a criopreservação são: propriedades osmóticas dos gametas, taxa de resfriamento e aquecimento e formação de cristais de gelo intracelular (STANESCU e BIRTOIU, 2012), entretanto o diluidor e seus componentes exercem uma grande importância pois auxilia na menor formação de cristais de gelo e na estabilidade da membrana plasmática da célula espermática. Nos meios de diluição para criopreservação de sêmen faz-se indispensável uso de substâncias crioprotetoras para proteção da célula espermática de perdas geradas ao longo do equilíbrio, congelação e descongelação (SILVA, CARDOSO e SILVA, 2000).

Os constituintes do diluente de criopreservação são classificados em extracelulares ou não penetrantes, sendo caracterizado por macromoléculas com peso molecular elevado, como açúcares complexos (rafinose, trealose), lipoproteínas da gema de ovo, água de coco, proteínas do leite e alguns aminoácidos (SILVA e GUERRA, 2011); e intracelulares ou penetrantes, que agem por meio de efeito osmótico induzindo a saída de água do interior da célula, evitando a formação de cristais de gelo no meio intracelular (SANTOS *et al.*, 2018).

A água de coco tem ganhado mercado, um produto de origem vegetal, aliando atributos que a qualificam como um diluente bom, fornecendo adequados nutrientes, essenciais para a vida e a qualidade dos espermatozoides (SILVA, CARDOSO e SILVA, 2000). Quando adicionada em diferentes meios diluentes, mostrou resultados positivos, elevando a taxa de motilidade, fertilidade e tempo de conservação em diferentes espécies. Observando as qualidades desta, para facilitar o uso da água de coco, a mesma foi convencionada em forma de pó, titulada de ACP, conservando assim suas propriedades favoráveis e facilitando o uso em diversas regiões (BARROS e TONIOLLI, 2011).

A ACP tem mostrado ótimos resultados quando utilizada na biotecnologia da reprodução animal, resultados estes na preservação seminal de diversos animais

domésticos como caprinos (OLIVEIRA *et al.*, 2009), ovinos, (CAVALCANTE *et al.*, 2014), suínos (GUIMARÃES *et al.*, 2018) e canídeos (UCHOA *et al.*, 2012). Após correção de osmolaridade e de pH da água de coco, a mesma demonstrou através de experimentos *in vivo* e *in vitro* bons resultados na manutenção da viabilidade e na competência fecundante dos espermatozoides, auxiliando em processos biotecnológicos, como inseminação artificial (BARROS e TONIOLLI, 2011).

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência da criopreservação do sêmen bovino utilizando um diluidor à base de água de coco em pó (ACP-106®) quando comparado com o citrato gema (controle) por meio da qualidade espermática após descongelação.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

O potencial reprodutivo de touros é dependente de diversos fatores, como: idade, manejo correto nutricional e reprodutivo, condições climáticas e/ou sanidades, podendo implicar na qualidade seminal refletindo de forma positiva ou negativa em sua capacidade reprodutiva (BICUDO, SIQUEIRA; MEIRA, 2007).

A realização do exame andrológico tem como base a avaliação da condição clínica geral e específica dos órgãos genitais. Este exame auxilia na seleção de animais com padrões funcionais normais e fornece diagnóstico para anormalidades reprodutivas e condições de maturidade reprodutiva dos touros (ALFARO, 2011).

Inicialmente realiza-se a identificação do paciente e proprietário, seguido da anamnese, exame físico geral e específico, coleta de sêmen, avaliação da qualidade espermática, realização de exames complementares concluindo com diagnóstico e emissão do laudo (CBRA, 2013).

A avaliação andrológica dos animais apresentam um importante papel na eficiência reprodutiva de um rebanho (ALFARO, 2011). Ele permite a identificação de patologias dos órgãos genitais, tal como dificuldade na cópula, distúrbio na libido, podendo levar a dificuldade ou incapacidade de fertilização e/ou monta (BARBOSA; MACHADO; BERGAMASCHI, 2005).

### **Anamnese**

Neste exame realiza a coleta de todas as informações do touro, tais como: condição de escore corporal, doenças anteriores, imunização e medicamentos utilizados. Detalhes sobre os fármacos administrados são importantes, visando que

algumas drogas interferem no libido e qualidade espermática (SANTOS, GOSMES, SIQUEIRA, CARDOSO, 2016).

### **Exame físico**

Este exame é constituído por duas fases, sendo elas: exame físico geral e exame físico específico. O exame físico geral tem como finalidade a identificação de afecções sistêmicas que interferem de forma negativa na fertilidade do touro e também de doenças genéticas, visto que as mesmas podem tornar o animal inviável para reprodução (SANTOS; GOSMES; SIQUEIRA; CARDOSO, 2016). Já no exame físico específico avalia-se a integridade da pele do escroto e do prepúcio de forma cautelosa, além de observar a presença de lesões e cicatrizes (CBRA, 2013; SANTOS; GOSMES; SIQUEIRA; CARDOSO, 2016).

Os órgãos genitais internos são examinados por palpação retal, já os externos são avaliados por palpação e inspeção, verificando a simetria, a mobilidade, a consistência, e a compatibilidade com a idade, com a raça do animal e o desenvolvimento (BARBOSA; MACHADO; BERGAMASCHI, 2005).

De maneira sequencial, inspeciona-se epidídimos, cordões espermáticos e testículos, em relação a ausência ou presença, dimensão, localização, simetria, consistência, sensibilidade e mobilidade. Nos testículos é de extrema importância verificar a mobilidade entre o mesmo e o escroto e sua consistência (SANTOS; GOSMES; SIQUEIRA; CARDOSO, 2016). O contorno dos testículos é alongado e oval, podendo ser definido anatomicamente e funcionalmente dividido em duas partes: túbulos seminíferos, responsáveis pela espermatogênese e esteroidogênese e tecido intersticial (GALVÃO, 2009). A biometria testicular é avaliada pelo perímetro escrotal (PE) ou circunferência escrotal (CE), medida com auxílio de uma fita métrica, sendo colocada na região central do escroto, para obtenção do diâmetro testicular, como observado na tabela 1. O perímetro escrotal, pode ser alterado por diversos fatores, tais como: nutrição, ambiente, idade, tamanho corporal e peso (TAVARES, 2020).

**Tabela 1** - Tabela de referência para avaliação da circunferência escrotal mínima recomendada para animais *Bos taurus taurus*.

<b>Idade (meses)</b>	<b>Circunferência escrotal (cm)</b>
<15	30
>15 a 18	31
>18 a 21	32
>21 a 24	33
>24	34

Fonte: Beef, 2002

O epidídimo e os testículos, com certa facilidade, é possível diferencia-los na palpação, devido a cauda ser mais consistente. Em situações de dificuldades para diferenciação à palpação, um ou os dois aparentam anormalidades. É importante a identificação de patologias testiculares hereditárias tais como, criptorquidismo, anorquidismo, microrquidismo, unilateral ou bilateral (SANTOS; GOSMES; SIQUEIRA; CARDOSO, 2016).

### **Análise seminal**

A coleta seminal é realizada utilizando eletroejaculador ou vagina artificial. A eletroejaculação proporciona rapidez e facilidade na coleta, podendo ser realizada nos touros a campo, já que a vagina precisa de condicionamento prévio (ALVES, 2014).

A avaliação espermática é realizada após a coleta seminal observando coloração da amostra do sêmen, volume atingido, motilidade, vigor, turbilhonamento, concentração dos espermatozoides e morfologia espermática (ALVES, 2014), de acordo com a tabela 2.

A coloração do ejaculado, dentro dos padrões apresenta-se esbranquiçada, marfim, branca, marrom ou avermelhada. Coloração cinza escuro pode indicar presença de sangue, urina, células epiteliais, sujeira, pus, etc. A aparência é definida como leitosa, serosa, cremosa, aquosa ou opalescente, correlacionando com a concentração espermática. O volume coletado pode ser alterado devido a forma de coleta podendo variar também entre touros e devido ao tempo de excitação (CBRA, 2013).

A avaliação da quantidade de espermatozoides moveis é realizada por meio da motilidade. É realizada por meio de uma gota do ejaculado fresco em uma lâmina aquecida coberta por uma lamínula também aquecida classificada de 0 a 100% (BARBOSA; MACHADO; BERGAMASCHI, 2005).

A força com que o espermatozoide se movimenta é avaliada por meio do vigor, sendo classificada de zero a cinco, onde o zero é o não movimento e deslocamento caudal lateral fraco, sem expressividade. Já o vigor cinco revela um movimento vigoroso e veloz do espermatozoide (CBRA, 2013).

Para avaliação do turbilhonamento coloca-se uma gota de sêmen em uma lamina pré-aquecida sem lamínula e observa-se o movimento em massa na lateral da gota (BARBOSA; MACHADO; BERGAMASCHI, 2005). A maneira de interpretar é subjetiva e a forma de classificar é em uma escala de zero a cinco, sendo zero ausência de turbilhonamento e cinco o valor máximo. Este valor pode alterar devido a forma de coleta, temperatura da amostra e condições de preservação (CBRA, 2013)

A concentração é definida como a quantidade de espermatozoides presentes por unidade de volume ( $\text{mm}^2$  ou  $\text{cm}^3$ ), sendo realizada de diversas formas para a contabilização da mesma, a contagem de células na câmara de Neubauer é a maneira mais utilizada. Esta é feita com um volume de líquido seminal diluído em um meio com solução formol salina tamponada (20 $\mu\text{L}$  de sêmen em 4mL de solução formol salina) realizando a homogeneização, posteriormente colocado na câmara é realizado a avaliação em microscópico óptico. Esta concentração pode ter alteração devido alguns fatores: nutrição do animal, coleta, idade, frequência de cópulas e biometria testicular (BARBOSA; MACHADO; BERGAMASCHI, 2005).

A morfologia tem um papel fundamental pois é a avaliação completa do espermatozoide. Os espermatozoides apresentam uma cabeça onde se localiza o núcleo e o acrossomo e possui uma cauda (flagelo) para motilidade celular. As alterações anatômicas dos espermatozoides são classificadas em duas categorias: defeitos menores e defeitos maiores. Defeitos menores são definidos como alterações de cabeça e cauda – cabeça pequena normal, cabeça delgada, cabeça gigante, cabeça normal destacada, cabeça pequena normal, gota distal, inserção axial, acrossomo destacado, cauda enrolada, cauda dobrada, cauda enrolada na extremidade. Já os defeitos maiores são relacionados com infertilidade e toda anormalidade com condição patológica de epidídimo ou testículo, podendo ser:

estreito na base, decapitado, formas duplas, cabeça pequena anormal, gota proximal, piriforme, diadema, contorno anormal, cabeça destacada anormal e cauda fortemente enrolada ou dobrada (TAVARES, 2020).

**Tabela 2:** Características normais do sêmen fresco de touros

<b>VARIÁVEL</b>	<b>VALORES MÉDIOS</b>
Turbilhonamento	Presente ou $\geq 3$ (monta natural)
Motilidade	$\geq 70\%$
Vigor	$\geq 3$
Concentração espermática	$350 \times 10^6 / \text{mL}$
Espermatozoides normais	$\geq 70\%$

**Fonte:** CBRA, 1998

Diante dos resultados adquiridos no exame andrológico, os animais podem ser classificados como aptos, inaptos ou inaptos temporário, sendo os aptos os que atingem ou ultrapassam o limite recomendado, os inaptos são aqueles que não alcançaram os padrões mínimos e os inaptos temporários são animais que necessitam de uma reavaliação e novos exames (BARBOSA; MACHADO; BERGAMASCHI, 2005).

### **Criopreservação**

O ramo da biologia chamado de criobiologia estuda os resultados de temperaturas muito baixas aplicadas em células, tecidos e organismos. Essa técnica estuda o comportamento dos organismos submetidos a temperaturas abaixo de 0, a partir dos conhecimentos adquiridos foi criado a técnica de criopreservação, que permite que células, embriões e tecidos sejam conservados em temperaturas muito baixas preservando a composição e viabilidade, por período indeterminado (SILVA e GUERRA, 2011).

A técnica de criopreservação pode ser utilizada para a preservação das células espermáticas, por congelamento de forma moderada e controlada, com o intuito de preservar a função do espermatozoide, para que este esteja apto a realizar a fecundação que é a união do pronúcleo masculino com o ovócito (SILVA e GUERRA, 2011).

A realização de um controle na regressão da temperatura, tem por objetivo diminuir possibilidades de danos na viabilidade das células, onde não forma cristais de gelo grandes na região interna das células. Estudos tem demonstrado que espermatozoides de espécies diferentes tem particularidades criobiológicas particulares e sensibilidade que pode variar durante a manipulação, choque térmico, congelação e sua tolerância osmótica (SILVA e GUERRA, 2011).

Neste procedimento são observadas grandes diferenças entre indivíduos da mesma espécie, colheitas de ejaculado sendo possível ocorrer variações dentre do mesmo ejaculado, sobre subpopulações espermáticas (SILVA e GUERRA, 2011). Explicando assim como pode haver variações pós descongelamento de partidas do mesmo indivíduo (PETRUNKINA, 2007).

### **Efeitos da criopreservação**

Alguns benefícios da criopreservação é a possibilidade de poder utilizar material genético de animais por períodos indefinidos, quando congelados, além de diminuir o custo e o risco da obtenção e a condução de patriarcas, favorece também uma propagação de animas geneticamente superiores entre locais distintos (CASTELO, FROTA, SILVA, 2008). Entretanto, a técnica pode causar ao sêmen estresse celular, conferindo as células espermáticas perda de viabilidade (SILVA e GUERRA, 2011).

Um ponto crítico é o 'efeito solução' que possui como característica a desidratação em excesso da célula, altas concentrações de soluto, alteração do pH e como consequência, alterações na membrana da célula espermática (SILVA e GUERRA, 2011). No processo de congelação lenta, o tempo é suficiente para a saída da água do meio interno para o externo, causando um equilíbrio entre soluto e solvente. Assim é de grande importância que o processo de descongelamento seja realizado da mesma forma, de forma lenta para acontecer a restauração do volume interno da célula, sem a ocorrência de ruptura que é o esperado em um descongelamento rápido (SANTOS; GOSMES; SIQUEIRA; CARDOSO, 2016).

A técnica de congelação é benéfica e apresenta bons resultados se realizada de forma correta, ao contrário, se realizada de uma forma rápida e posteriormente, as palhetas forem descongeladas de forma lenta, provocará estragos devido a pequenos cristais de gelo que se formaram, que podem unir-se gerando grandes cristais, que acometem a integridade da membrana (SILVA e GUERRA, 2011).

A curva de congelação é de grande importância, pois uma congelação ideal deve ser realizada de forma lenta para que não ocorra a desidratação das células espermáticas, e logo após rápida para a preservação dos espermatozoides, evitando que fiquem por longos períodos expostos a concentrações elevadas de soluto (SILVA e GUERRA, 2011).

### **Redução das crioinjúrias**

Os chamados crioprotetores são substâncias que possuem por objetivo temporário oferecer proteção a injúrias geradas pela baixa temperatura, mantendo também um ambiente favorável para que a célula sobreviva, além de oferecer energia. Diante disso, substâncias distintas tem sido estudadas e apresentam resultados positivos para reduzir danos causados aos espermatozoides. A utilização dos crioprotetores tem o papel de impedir que se formem grandes cristais de gelo no interior das células, diminuindo o estresse osmótico relacionado com saída celular de macromoléculas e íons reduzindo o ponto de congelação da água, além de ser utilizado como tampão para controlar o pH (SILVA e GUERRA, 2011).

Os crioprotetores são divididos em duas classes: os extracelulares ou não-penetrantes, os quais são representados por macromoléculas que possuem elevado peso molecular, dentre eles os açúcares complexos (trealose, rafinose), a lipoproteína da gema de ovo, proteína do leite e aminoácidos, que agem com a finalidade de auxiliar a integridade da estrutura fosfolipídica da membrana celular e atuam na a proteção das células espermáticas, impedindo efeitos osmóticos ao longo da técnica de congelamento, fazendo que o meio fique hipertônico, esse meio leva a célula a um quadro de desidratação, retirando a água delas para o meio externo, com esse mecanismo ocorre redução da formação de cristais de gelo dentro das células. (SILVA e GUERRA, 2011).

A outra classe dos crioprotetores são os chamados intracelulares ou penetrantes, dentro deles são divididos em dois grupos; os alcoólicos e amidas, (SANTOS *et al.*, 2018). Do grupo dos alcoólicos, os crioprotetores mais utilizados são o glicerol, o DMSO e o etileglicol, no grupo das amidas temos a lactamida, acetamida, dimetilformamida e a dimetilacetamida (SILVA e GUERRA, 2011).

O mecanismo de ação dos crioprotetores penetrantes basicamente se dá pela proteção interna dos espermatozoides. Essa proteção é formada por estruturas que realizam uniões de hidrogênio com corpúsculos de água. Quando essas uniões

são formadas elas atuam de forma a mudar a direção da água nos cristais de gelo, formando assim um ambiente mais adequado para as células espermáticas. (ACIPRESTE, 2006).

O glicerol desde sua descoberta em 1949, tem sido amplamente utilizado por seus benefícios nos espermatozoides, apesar de que se usado em concentrações inadequadas apresenta níveis de toxicidade, mas em concentrações coerentes tem bons resultados. Apresenta ligação com a água e por quase não ser dissociado em sais, atua baixando os níveis osmóticos do meio. Ele atravessa com muita facilidade a membrana mantendo osmolaridade no meio intracelular e extracelular (POLGE, SMITH, PARKERS, 1949).

Outros benefícios do glicerol é a ligação que é realizada entre os fosfolipídios diminuindo a fluidez da membrana, interage com glicoproteínas e proteínas constituindo aglomerações intramembrana e reduz capacidade elétrica. Nos bovinos tem sido de eleição a utilização de 7% de glicerol, onde tem apresentando como excelência para a diluição em meios a base de tris-gema e citrato-gema. (ACIPRESTE, 2006).

### **Água de coco em pó (ACP)**

Este meio foi desenvolvido com a finalidade de utilização da água de coco como diluente. Quando é realizado sua resuspensão proporciona atributos bioquímicos muito parecido com o encontrado *in natura*, os grandes benefícios que a descrevem é o fácil armazenamento e envio para diversas regiões. Na área da Reprodução animal tem sido muito utilizada e alguns trabalhos verificaram resultados satisfatórios em várias espécies (CARDOSO, SILVA, SILVA, 2005).

Devido algumas alterações que podem ocorrer com o fruto *in natura* de região para região, assim como alterações bioquímicas e a falta dele em algumas regiões, além de ser impossível seu armazenamento por períodos longos, criou-se a água de coco em pó (ACP), a qual apresenta a mesma composição do fruto e de maneira padronizada, mostrando maior eficiência, facilitando a comercialização (SILVA, CARDOSO e SILVA, 2006).

Ela é composta de 95,5% de água, 4% carboidratos, 0,1% gordura, 0,02% cálcio, 0,01% fósforo, 0,5% ferro, possui também sais minerais e vitaminas do complexo B e C (BARROS e TONIOLLI, 2011).

A água de coco possui poucos fosfolipídios e é uma solução considerada estéril, pouco ácida, com proteínas, açúcares, fatores de crescimento e vitaminas A. Água extraída do fruto é muito perecível, está relacionada com condições de colheita e armazenamento do fruto. O processo de deterioração pode ser acelerado por danos mecânicos, altas temperaturas e inadequado manuseio, diminuindo sua vida útil (BARROS e TONIOLLI, 2011).

Ela possui um fator de crescimento parecido com as auxinas e citocininas, que regulam o crescimento e provoca divisão celular nos vegetais, fungos e alguns protozoários. Essa auxina estimulou a motilidade e conservou maior número de células espermáticas móveis, quando observado no ejaculado de caprinos e ovinos (BARROS e TONIOLLI, 2011).

Sua utilização que antes era direcionada apenas para o consumo humano, agora é de grande importância na utilização em diferentes áreas de conhecimento. Sua capacidade diurética vem sendo muito apreciada na área médica. Possui poder antioxidante, podendo estar adjunto a presença da vitamina C e com outros compostos ativos. Contudo, essas propriedades são encontradas no fruto em líquido, *in natura*, e com a industrialização diminui seu potencial (BARROS e TONIOLLI, 2011).

Na biotecnologia animal, um diluente que mantenha a viabilidade dos espermatozoides por um período maior é uma importante opção para conservar o material genético durante a inseminação artificial de diversas espécies, prolongando sua vida útil nos órgãos genitais da fêmea. Com isso a água de coco vem demonstrando grande potencial para a conservação dos espermatozoides, em muitas espécies como em suínos, caprinos e ovinos (BARROS e TONIOLLI, 2011).

Hoje no mercado há vários diluentes não importados testados no Brasil, a água de coco é uma grande opção, pois apresenta baixo custo e após corrigir seu pH, tem demonstrado resultados positivos para a manutenção da viabilidade espermática, sendo testada *in vivo* e *in vitro*, sendo assim aceitável sua utilização como diluente em inseminação artificial, diminuindo os custos (BARROS e TONIOLLI, 2011).

### **Citrato-gema**

É reconhecido devido suas propriedades tamponantes melhorarem a solubilidade das frações proteicas da gema do ovo, além de regular o equilíbrio

osmótico do material que está sendo preparado para congelar, impedindo que o glicerol chegue muito rápido em contato com a célula. A gema de ovo é de grande importância para a proteção da célula, protege a membrana contra possíveis choques térmicos, mediada pela lecitina e fornecendo energia mediada pela glicose (ACIPRESTE, 2006).

Foi realizado uma avaliação comparando os meios de citrato-gema com os de base leite, onde os resultados de citrato-gema foram superiores quando comparados a crioproteção, preservando a cromatina do espermatozoide, possuindo uma melhor integridade da membrana celular. (KARABINUS, EVENSON, KAPROTH, 1991)

## **METODOLOGIA**

O experimento foi conduzido utilizando dois touros de uma fazenda localizada em Minas Gerais. Os animais foram mantidos em pastagem de *Brachiaria decumbens* e receberam água e mistura mineral em cocho, disponibilizada “*ad libidum*”.

Foram submetidos a exame andrológico completo dois touros adultos e os parâmetros físicos e morfológicos do ejaculado foram avaliados conforme os padrões de julgamento de sêmen para espécie, de acordo com o manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013).

Imediatamente após a coleta do sêmen, foram realizados exames físicos macroscópicos (odor, volume, cor e aspecto) e microscópicos (turbilhonamento, vigor e motilidade espermática), além da retirada das amostras para a concentração espermática (20 µL de sêmen em 4,0 mL de solução formol-salina tamponada) e para a morfologia espermática (sêmen diluído em 1 mL de formol salina tamponado até turvar).

No laboratório de Reprodução Animal da Univértix foi realizada a contagem em aumento de 400x em microscopia óptica convencional da concentração espermática em câmara de Neubauer e a morfologia espermática foi realizada em lâmina corada, avaliando 200 células espermáticas por amostra, em microscopia óptica sob aumento de 1000x.

Foram utilizados para o experimento um ejaculado de cada touro obtido por eletroejaculação que atendeu previamente os padrões mínimos de julgamento

(Tabela 2) e o ejaculado foi dividido e acrescido de dois diferentes diluentes, constituindo dois tratamentos para cada animal. O tratamento 1 (T1) corresponde ao diluente à base de citrato-gema utilizado tradicionalmente para sêmen bovino (Tabela 3) e o T2 água de coco em pó ACP-106® (ACP Biotecnologia®, Fortaleza-Ceará, Brasil) com 20% de gema de ovo e 6% de glicerol.

A diluição inicial foi realizada com o diluente previamente aquecido em banho maria a 37°C, utilizando uma proporção de 1:1 (sêmen:diluente).

**Tabela 3:** Composição do diluente Citrato-gema utilizado como controle

<b>COMPONENTE</b>	<b>QUANTIDADE</b>
Solução de Citrato de Sódio 2,94%	675 mL
Gema de ovo	25 mL
Glicerol	7,0 mL
Frutose	12,5 g
Gentamicina	20 mg
Água Destilada - qsp (mL)	1.000 mL

Após a diluição do sêmen, o mesmo foi acondicionado em caixa de isopor contendo gelo, adaptada e ajustada de maneira que ocorreu o resfriamento de 37°C para 4°C em duas horas (tempo de resfriamento). Uma fração de diluente também foi acondicionada nesta mesma caixa de isopor, a qual foi utilizada para a diluição final do sêmen. Após o resfriamento, o sêmen diluído foi mantido nesta temperatura por mais quatro horas (tempo de equilíbrio), para posteriormente ser envasado e congelado.

Após o tempo de equilíbrio, foi realizada a diluição final do sêmen, utilizando o diluente também previamente resfriado, de maneira que contenha 30 milhões de espermatozoides vivos por mL.

O envase foi realizado em palhetas de 0,5mL. Após o envase, as palhetas foram vedadas com álcool polivinílico, identificadas e submetidas à congelação em caixa de isopor contendo nitrogênio líquido no fundo. As palhetas foram colocadas em suporte a 5 cm acima do nível de nitrogênio e mantidas por 15 minutos, para posterior congelamento final, mergulhando-as no nitrogênio líquido.

Após o congelamento, as palhetas foram descongeladas em banho-maria a 37°C por 30 segundos e os sêmen submetidos aos exames de motilidade e vigor espermático. Os padrões mínimos adotados para sêmen pós-descongelamento para a espécie bovina é de motilidade espermática:  $\geq 30\%$  e o vigor  $\geq 3$  (CBRA, 2013).

A variável quantitativa motilidade espermática foi submetida aos testes de Normalidade (Lilliefors) e Homocedasticidade (Cochran) e posteriormente a análise de variância. As médias foram comparadas utilizando o teste F, adotando-se o nível de 5% de probabilidade (SAEG, 2007).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os parâmetros seminais após a coleta atenderam às premissas do manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998). Os parâmetros estão descritos na Tabela 4.

**Tabela 4.** Características de sêmen fresco coletado de dois touros.

PARÂMÊTROS SEMINAIS	ANIMAL 1	ANIMAL 2
Volume (mL)	12	9
Motilidade espermática (%)	80	90
Vigor	4	4
Concentração espermática ( $10^6$ spz/mL)	230	310
Defeitos maiores	3	5
Defeitos menores	11	8

Após o congelamento/descongelamento foi observada diferença ( $P < 0,01$ ) na motilidade espermática entre os tratamentos. O diluente à base de Citrato-gema (T1) apresentou melhor motilidade em ambos os animais, sendo a média da motilidade para T1 de  $82,8 \pm 1,6\%$  e para o diluente ACP -106® (T2) de  $40,7 \pm 2,6\%$ . O vigor não apresentou diferença estatística entre os tratamentos.

O estudo realizado por Silva, Cardoso e Silva (2006), em cães utilizando ACP-106® apresentou resultados satisfatórios de vigor e motilidade. De acordo com esses autores o diluente ACP -106® é similar ao TRIS na criopreservação de sêmen de cão, mantendo a qualidade seminal após descongelação. De acordo com os

autores, o diluente à base de água de coco surgiu como uma alternativa para o uso na tecnologia do sêmen, já que foram observados 56,5% e 51,5% de espermatozoides móveis após a descongelação com o uso dos diluidores TRIS e ACP-106®, respectivamente.

No presente estudo, apesar do diluente a base de citrato-gema apresentar melhor motilidade, o ACP-106® atingiu os parâmetros mínimos pós-descongelação, motilidade espermática  $\geq 30\%$  e o vigor  $\geq 3$ . Os resultados do presente estudo corroboram o trabalho de Souza *et al.*, (2020) já que estes autores observaram resultados satisfatórios de motilidade  $42,99 \pm 19,54\%$  e  $23,58 \pm 19,28\%$  utilizando a água de coco e água de coco + *aloe vera* respectivamente, como diluente em caprinos. Em ovinos, Cavalcante *et al* (2014) utilizou a ACP -106® e TRIS e observaram  $39,0 \pm 2,8\%$  e  $63,1 \pm 2,6\%$  respectivamente de motilidade espermática.

Guimaraes *et al.*, (2018) utilizando a água de coco comparando com o diluente *Beltsville Thawing Solution* (BTS), no resfriamento de sêmen de suínos, obtiveram na avaliação de vigor, resultados semelhantes entre os dois diluentes vigor ( $1,5 \pm 0,9$  vs  $1,8 \pm 0,9$ ) e motilidade espermática ( $21,3 \pm 18,3$  vs  $31,4 \pm 22,4\%$ ), respectivamente. Estes achados comprovam que a BTS pode ser substituído pela ACP sem perdas significativas, sendo este último um diluente natural, de fácil obtenção e custo benefício baixo, garantindo a qualidade do sêmen suíno. Da mesma forma, Toniolli, Toniollo, Franceschini e Morato (2014) ressaltaram resultados positivos utilizando ACP-106® em suíno, observando 74% e 67% motilidade e 3,1 de vigor.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ambos os diluentes testados atenderam aos parâmetros seminais aceitáveis para pós-descongelação na espécie bovina. Entretanto, o diluente à base de citrato-gema apresentou estatisticamente motilidade espermática superior.

## REFERÊNCIAS

ALFARO, C. E. P. Importância da avaliação andrológica na seleção de reprodutores a campo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, n.2, p.152-153, 2011.

ACIPRESTE, Amanda Carla. **Criopreservação de sêmen canino, utilizando associações de crioprotetores e dois protocolos de descongelamento**. 2006.

Dissertação (*Magister Scientiae*). Orientador Eduardo paulino da Costa, 2006. – universidade federal de Viçosa. Viçosa, 2006.

ALVES, H. A. G. **Otimização da produtividade económica e reprodutiva de uma exploração de bovinos de carne.** (2014). Dissertação de mestrado em Medicina Veterinária no Curso de Mestrado em Medicina Veterinária, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

BARBOSA, R. T.; MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M. A. C. M. A importância do exame andrológico em bovinos. **Embrapa** – Circular técnica, São Carlos, v.41, 2005.

BARROS, T. B.; TONIOLLI, R. Uso potencial da água de coco na tecnologia de sêmen. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.35, n.4, p.400-407, 2011.

BEEF IMPROVEMENT FEDERATION-BIF. **Guidelines for the bull breeding soundness evaluation.** Athens, Georgia. 2002. p.151- 154.

BICUDO, S. D.; SIQUEIRA, J. B.; MEIRA, C. **Patologias do sistema reprodutor de touros.** Instituto Biológico, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 43-48. 2007.

CARDOSO, R.C.S.; SILVA, A.R.; SILVA, L.D.M. Use of the powdered coconut water (ACP-106) for cryopreservation of canine spermatozoa. **Anim Reprod**, Fortaleza, v.2, p.257-262, 2005.

CASTELO, T.S.; FROTA, T.R.; SILVA, A.R. Considerações sobre a criopreservação do sêmen de caprinos. **Acta Vet Bras**, Mossoró, v.2, p.67-75, 2008.

CAVALCANTE, J.M.M; BRASIL, O; SALGUEIRO, C.C.M; SALMITO-VANDERLEY, C.S.B; NUNES, J.F. Criopreservação do sêmen ovino em meio diluente à base de água de coco em pó (ACP-102c). **Cienc Anim Bras**, Goiânia, v.15, n.3, p.344-353, 2014.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL (CBRA). **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal.** 3ª ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013. 104p

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL (CBRA). **Procedimentos para exame andrológico e avaliação do sêmen animal.** 2ª.ed. Belo Horizonte: CBRA, 1998. 49 p.

GALVÃO, ALEXANDRE. **Reprodutiva de touros da raça nelore com infestação de dermatobia hominis (Linnaeus Jr.) na bolsa escrotal.** Orientador Argemiro Sanavria. 2009. 28f. Dissertação (mestrado em Medicina Veterinária) – universidade federal rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

GUIMARÃES, D.B; BARROS, T.B; CANTANHÊDE, L.F; FEUGANG, J.M.N; SOUZA, L.P; TONIOLLI, R. Qualidade espermática durante a curva de resfriamento do sêmen suíno diluído em água de coco em pó visando sua criopreservação. **Cien Anim Bras**, Goiânia, v.19, p.1-16, 2018.

KARABINUS, D.S., EVENSON, D.P., KAPROTH, M.T. Effects of egg yolk-citrate and milk extenders on chromatin structure and viability of cryopreserved bull sperm. **Journal of Dairy Science**, [s.l.], v.74, p.3836-48, 1991.

OLIVEIRA, R.V; NUNES, J.F; SALGUEIRO, C.C.M; CAVALCANTE, J.M.M; MOURA, A.A.A. Avaliação morfológica de espermatozoides caprinos diluídos e congelados em meio à base de água de coco em pó (ACP-101) ou TRIS, corados por eosina-nigrosina e azul de bromofenol. **Cienc Anim Bras**, Fortaleza, Ceará, v.10, n.3, p. 862-869, 2009.

PETRUNKINA, A.M. Fundamental aspects of gamete cryobiology. **J Reproduktionsmed Endokrinol**, [s.l.], v.4, p.78-91, 2007.

POLGE, C.; SMITH, A. U.; PARKERS, A. S. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. **Nature**, [s.l.], v.164, p.666, 1949.

SAEG. Sistema para Análises Estatísticas, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SANTOS, B.M.B.; BRITO, B.F.; MAIA, L.C.P.; PIRES, R.S.C.; SALGUEIRO, C.C.M.; NUNES, J.F. Congelação do sêmen de pequenos ruminantes sem uso de gema de ovo utilizando bases vegetais em substituição à gema de ovo. **Anais do IX Congresso Norte e Nordeste de Reprodução Animal (CONERA 2018)**. Belém, PA, 10 a 12 de setembro de 2018.

SANTOS, J. F. P, GOSMES, E. T.; SIQUEIRA, A. K. M; CARDOSO, R. C. S. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.40, n.4, p.167-179, out./dez. 2016.

SILVA, A. R.; CARDOSO, R. C. S.; SILVA, L. D. M. Congelação de sêmen canino com diferentes concentrações de gema de ovo e glicerol em diluidores à base de tris e água de coco. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.6, p.1021-1025, 2000.

SILVA, A.R; CARDOSO, R.C.S; SILVA, L.D.M. Criopreservação do sêmen canino: Revisão. **Ciênc Anim**, Ceará, v.11, n.2, p.119-129, 2001.

SILVA, A. R.; CARDOSO, R. C. S.; DA SILVA, L. D. M. Comparação entre a água de coco em pó (ACP®) e o Tris como diluidores na criopreservação do sêmen de cães. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, Fortaleza, v. 43, n. 6, p. 767-774, 2006.

SILVA, S. V.; GUERRA, M. M. P. Efeitos da criopreservação sobre as células e alternativas para redução das crioinjúrias. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.35, n.4, p.370-384, out./dez. 2011.

SOUZA, M. S.; BRITO, B. F.; CABRAL, L. A. R.; NEGREIROS, N. A. B.; PONTES, K. S.; SALGUEIRO, C. C. M.; NUNES, J. F. Criopreservação do sêmen de caprinos em diluidores alternativos e análise da viabilidade. **Braz. J. of Develop.**, Curitiba, v. 6, n. 8, p. 56478-56485 aug. 2020.

STANESCU, M; BIRTOIU, A.I. Freezing of dog's sperm: a review. **Romanian Biotechnological Letters**, Bucareste, Romenia, v. 17, p.7709-7716, 2012.

TAVARES, Arthur Flávio Pardauil Lobato. **Avaliação Andrológica de Touros na região Nordeste do Pará**. Orientador: Sebastião Tavares Rolim Filho. 2020. 61 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Campus Belém, PA, 2020.

TONIOLLI, R.; TONIOLLO, G.H.; FRANCESCHINI, P.H.; MORATO, F.M.A.C.; Uso da água de coco em pó no processo de congelação do sêmen suíno: iii. Avaliação do diluente acp-103® na resuspensão. **Ciência Animal**, Fortaleza, 81-96, 2014.

UCHOA, D.C; SILVA, T.F.P; CARDOSO, J.F.S; MOTA FILHO, A.C; JUCÁ, R.P; SILVA, A.R; SILVA, L.D.M. Favoring the birth of female puppies after artificial insemination using chilled semen diluted with powdered coconut water (ACP-106c). **Theriogenology**, [s.l.], v.77, n.9, p.1959-1963, 2012.

# OCORRÊNCIAS DE CASOS DE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA EM UMA CLÍNICA VETERINÁRIA DO MUNICÍPIO DE MANHUAÇU - MG

**Acadêmicas:** Marcella Furtado de Oliveira Souza e Myrelly Mageste de Carvalho

**Orientador:** Rogério Oliva Carvalho

## RESUMO

Sendo uma doença de grande importância na medicina veterinária e medicina humana, a leishmaniose, que antes era limitada a algumas regiões, hoje, podem ser encontradas em diversas partes do país. Muitas vezes é negligenciada pelos proprietários e possui diversos fatores para isso, dentre eles: a falta de conhecimento sobre a doença e ausência de atitudes preventivas. Por possuir uma alta mortalidade, a doença é considerada uma zoonose de grande importância em saúde pública, visto que cães e outros mamíferos são considerados reservatórios do parasito, possibilitando a transmissão a humanos. Causada por protozoário intracelular obrigatório, a leishmaniose é transmitida por um mosquito do gênero *Lutzomyia*, chamado popularmente de “mosquito palha”, que, durante o repasto sanguíneo, faz a inoculação o parasito. Seus sintomas podem variar de acordo com a espécie, no qual o infectado pode apresentar manifestações cutânea, mucocutânea, cutânea difusa e viscerais. Humanos participam da sua distribuição, uma vez que desmatamentos e urbanização de regiões de mata fizeram os animais se aproximarem mais da população, aumentando o risco de contaminação. O objetivo do presente trabalho foi fazer um levantamento dos casos de Leishmaniose Visceral Canina (LVC) atendidos em uma clínica veterinária do município de Manhuaçu, Minas Gerais, nos anos de 2015 a 2020. No período de abril a maio de 2021, foram coletados, bem como analisados exames e fichas clínicas de cães atendidos na clínica veterinária do estudo. Foi encontrado um resultado positivo para a doença, sessenta negativos e um resultado indeterminado. Após a conclusão dos dados, foram discutidos fatores relacionados a disseminação.

**PALAVRA-CHAVE:** Leishmaniose; cães; parasito; zoonose.

**LINHA DE PESQUISA:** Patologia, Parasitologia e Microbiologia Veterinária.

## INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral canina, uma doença grave, crônica e progressiva, é considerada uma antropozoonose de grande importância devido à elevada taxa de mortalidade humana e animal em regiões endêmicas. O grande número de cães infectados faz com que, em áreas urbanas, ele seja o reservatório mais importante para a transmissão da doença ao homem (SCHIMMING *et al.*, 2012).

Por ser uma doença endêmica e de caráter zoonótico, a leishmaniose visceral canina é cosmopolita, potencialmente fatal, causada por protozoários intracelulares obrigatórios pertencentes à família Trypanosomidae, gênero

*Leishmania*, que está presente principalmente em regiões tropicais e subtropicais de ocorrência, principalmente, em áreas rurais. Porém, nas últimas décadas, houve o surgimento de casos não só em zonas rurais de desmatamentos como também regiões peri-urbana e urbana. Com isso, a doença vem se urbanizando à medida que o vetor tem se adaptado melhor a esses ambientes devido ao desequilíbrio ecológico, refletindo num aumento da incidência de casos (RIBEIRO *et al.*, 2017).

É considerada uma doença negligenciada pelo fato de não dispor de tratamentos eficazes ou adequados e por afetar milhões de pessoas ao redor do mundo. Atualmente, o Brasil é responsável por cerca de 90% dos casos humanos da América, mesmo com grande parte dos casos subnotificados. A falta de conhecimento da doença e de atitudes preventivas são fatores relacionados à persistência da doença no país (YOUSSEF *et al.*, 2019).

O cão ocupa posição de destaque no ciclo da doença, tendo importância epidemiológica na transmissão urbana, por se caracterizar como reservatório doméstico. O Ministério da Saúde recomenda que as ações de vigilância não devem se restringir somente às áreas endêmicas, e o monitoramento deve contemplar as áreas de transmissão esporádicas (ROCHA, 2019).

Para que a doença seja transmitida, é necessário a presença do vetor susceptível e de um reservatório, mamífero, igualmente susceptível. Com isso, as medidas de vigilância e controle da Leishmaniose Visceral são feitas com base no diagnóstico e tratamento dos casos humanos e dos animais, ou seja, na identificação e eliminação dos reservatórios domésticos (cão doméstico) caso necessário, com controle vetorial, educação em saúde e manejo ambiental (ROCHA, 2019).

O objetivo do presente trabalho foi fazer um levantamento dos casos de Leishmaniose Visceral Canina (LVC) atendidos em uma clínica veterinária do município de Manhuaçu, Minas Gerais, nos anos de 2015 a 2020. Trabalhos como este são importantes para oferecer informações e conhecimento sobre a prevalência da doença na região de Manhuaçu.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **Leishmaniose e suas características**

A leishmaniose é uma doença parasitária que muitas vezes é negligenciada e pode ser associada à alta morbidade e mortalidade. No Continente Americano, é possível atribuir a seguinte denominação: leishmaniose tegumentar americana (LTA) e leishmaniose visceral americana (LVA) (PORTELLA, 2018).

Existem diferentes formas da doença que são amplamente distribuídas em todo o mundo, no qual são endêmicas em 88 países e em quatro continentes, fazendo com que seja constituído um importante problema de saúde, devido à sua incidência e alta letalidade (YOUSSEF *et al.*, 2019).

Segundo Blanco *et al.* (2017), a leishmaniose, causada por um protozoário do gênero *Leishmania*, tem como vetor o flebotomíneo, que geralmente é encontrado em áreas tropicais. Sua caracterização é zoonótica; a forma em que a doença é apresentada no paciente depende da complexidade em que o sistema imunológico do hospedeiro vai se relacionar com o protozoário. Ela pode se manifestar de quatro formas: Leishmaniose cutânea, leishmaniose mucoso cutânea, leishmaniose cutânea disseminada e a leishmaniose visceral, dada como mais grave (BLANCO *et al.*, 2017).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que todos os anos, quase dois milhões de novos casos dessa doença são registrados no mundo. Cerca de 90% dos casos da América Latina ocorrem no Brasil, com quase três mil pessoas sendo infectadas por essa zoonose anualmente (ZUBEN *et al.*, 2016).

Segundo Morais (2020), com o conhecimento de ser uma zoonose, é importante a realização de inquérito da vigilância para diagnóstico de cães infectados, previsto nos artigos 3º, b, e 8º, do Decreto nº 51.838, de 14 de março de 1963, editado com fundamento e conformação com o art. 11, Parágrafo único, da Lei nº 6.259, de 30 de outubro de 1975.

Também é direito do proprietário recusar a fazer a coleta de sangue do animal para a realização de exames que possam comprovar a doença, porém essa opção não o isenta de responder por infração administrativa/ética ou punição criminal (art. 268 do Decreto-Lei nº 2.848, de 7 de dezembro de 1940, e inciso IX do art. 10 da Lei 6.437 de 20 de agosto de 1977).

A enzootia canina tem precedido a ocorrência de casos humanos e, com isso, a infecção em cães tem sido mais prevalente que no homem. Sabe-se que, no ambiente, as raposas (*Dusicyon vetulus* e *Cerdocyon thous*) e os marsupiais

(*Didelphis albiventris*) estão sendo incriminados como potenciais reservatórios sem comprovação científica (MORAIS *et al.*, 2020).

### **Ciclo biológico da Leishmaniose**

De todos os animais domésticos, o cão tem um importante papel como reservatório da infecção no ciclo de transmissão da leishmaniose visceral canina, devido ao intenso parasitismo cutâneo que ele pode apresentar após a infecção (YOUSSEF *et al.*, 2019).

Campos (2018) diz que são considerados principais reservatórios, visto que, no ciclo urbano, o convívio do cão é mais constante com o homem, além do fato de servir de repasto para o vetor e de possuir grande número de cães assintomáticos com intenso parasitismo.

O gênero *Leishmania* pode ser subdividido em dois subgêneros: *Leishmania* e *Viannia*. Essa diferença se dá pelo local onde ocorre o desenvolvimento do parasito no mosquito vetor (TEIXEIRA, 2019).

Os protozoários do subgrupo *Leishmania* tendem a se desenvolver no intestino médio do vetor, já os do subgrupo *Viannia* começam a infecção no triângulo pilórico e, posteriormente, passam para o terço final do intestino (TEIXEIRA, 2019).

São descritas no Brasil 10 espécies, no qual sete podem afetar o homem e animais sendo elas: *L. braziliensis*, *L. amazonensis*, *L. guyanensis*, *L. lainsoni*, *L. shawi*, *L. naiffi*, *L. infantum*; e três, apenas em animais, sendo: *L. enriettii*, *L. deanei*, *L. forattini* (BISETT JUNIOR *et al.*, 2015).

Essas espécies são morfologicamente indistinguíveis, mas, através de análises enzimáticas ou dos anticorpos produzidos pelo sistema imunológico, podem ser diferenciadas (BLANCO *et al.*, 2017).

Dentre alguns estudos já publicados, são relatadas evidências de infecção em felinos com a capacidade de transmitirem para o vetor pela *L. infantum* no Brasil, porém, essas evidências ainda são pouco estudadas, o que impede de incriminar a espécie como reservatório (MORAIS *et al.*, 2020). Segundo Morais *et al.* (2020), a Leishmaniose Visceral é transmitida por insetos pertencentes à família Psychodidae e subfamília Phlebotominae. Esses insetos possuem um tamanho aproximado de 3mm, com coloração clara se assemelhando a cor de

palha ou castanho claro, alados, coberto de pelos e possuem de voos curtos e popularmente é conhecido como mosquito-palha.

O seu desenvolvimento se dá com suas larvas em solo úmido e matéria orgânica. Os flebotomíneos possuem uma atividade noturna e costumam repousar durante o dia em lugares sombreados e úmidos com proteção do vento e de outros predadores (MORAIS *et al.*, 2020).

Bisett Junior *et al.* (2015) diz que as características do vetor são semelhantes em ambos os sexos, como a cor castanho-claro ou cor de palha, corpo piloso, cabeça fletida sob o tórax arqueado, olhos grandes pretos e afastados, palpos nos cinco artículos e antenas com 16 artículos.

Campos (2018) relata que a principal espécie transmissora de leishmaniose visceral nas Américas é a *Lutzomia longipalpis*, cumprindo os requisitos principais para ser considerado o inseto vetor da doença: antropofilia, correspondência espacial entre os casos humanos e vetores infectados naturalmente pela mesma espécie de *Leishmania*.

As asas são hialinas e grandes, lanceoladas, pilosas e em posição ereta. Possuem pernas compridas e a diferença entre os sexos se dá na extremidade posterior do abdômen, onde, em machos, é bifurcada e, nas fêmeas, é levemente arredondada (BISETT JUNIOR *et al.*, 2015).

O ciclo começa quando a fêmea se infecta, realizando a hematofagia em um reservatório infectado ao ingerir a forma amastigota; com isso, vira promastigota no intestino e multiplica por divisão binária simples. Após, ocorre a migração para a probóscida, com a inoculação, os parasitos são fagocitados e assumem a forma amastigota, iniciando novos ciclos de multiplicação (BISETT JUNIOR *et al.*, 2015).

A célula infectada se rompe e libera as formas amastigotas, que serão fagocitadas por outros macrófagos, num processo contínuo, provocando, então, a disseminação hematogênica para tecidos ricos em células do sistema mononuclear fagocitário, como medula óssea, linfonodos, baço e fígado (CAMPOS, 2018).

## **Formas de transmissão**

As fêmeas ingerem um protozoário. Após o ciclo no mosquito, formas infectantes do parasito serão inoculadas juntamente com a saliva no hospedeiro vertebrado durante o repasto sanguíneo, infectando o mesmo (CAMPOS, 2018).

Embora a transmissão natural da leishmaniose visceral canina ocorra preferencialmente pela picada de fêmeas de *L. longipalpis* quando se alimentam de um hospedeiro infectado, outros mecanismos podem estar envolvidos na epidemiologia da doença em cães (CAMPOS, 2018).

Segundo Lima *et al.* (2009), esses outros fatores podem ser: baixo nível de vida, promiscuidade, recorrente com grandeza em áreas rurais e periferias de metrópoles, destruição ambiental, migração, condições precárias de saneamento básico, desnutrição do animal.

De acordo com Ministério da Saúde (2006), indicativos que o período maior de transmissão da LV se encontra durante e após a estação chuvosa, quando ocorre uma maior densidade populacional do inseto, que se adapta facilmente em diferentes domicílios e diferentes temperaturas.

## **Patogenia**

De acordo com a OMS (Organização Mundial da Saúde), o cão suspeito com a Leishmaniose Visceral Canina pode apresentar febre regular ou irregular, apatia, emagrecimento, descamação e úlceras na pele, em geral no focinho, orelhas e extremidades, conjuntivite, paresia posterior, fezes sanguinolentas e crescimento exagerado das unhas (MORAES *et al.*, 2020).

A manifestação clínica da leishmaniose ocorre com uma proporção muito grande de sintomas, visto que a forma de apresentação pode depender de vários fatores. Sendo considerada uma doença de alta mortalidade, algumas apresentações podem variar desde infecções de pele, começando com pápulas no local da inoculação, e evoluir para formação de placas ou até mesmo úlceras (BLANCO *et al.*, 2017).

Bisett Junior *et al.* (2016) relatam alguns sintomas associados a sua forma de apresentação em cães, como os assintomáticos: ausência de sinais clínicos sugestivos da infecção. Eles podem apresentar todos ou alguns sinais mais comuns da doença, sinais neuromusculares como: paresia, convulsão, atrofia muscular; adenomegalia nos linfonodos poplíteos, pré escapular e submandibular; sinais oftalmológicos como: blefarite, uveíte, conjuntivite,

ceratite, mucosa: palidez, epistaxe, úlceras e nódulos prurido, alopecia (BISETT JUNIOR *et al.*, 2016).

Morais *et al.* (2020) afirmam que, na manifestação clínica, o período de incubação pode ser variado, tendo uma média de 2 a 3 meses; em pacientes com imunossupressão, esse período pode variar de meses a anos após a infecção. A forma clássica é marcada por sintomatologia hepatoesplênica febril, marcada por uma febre intermitente com associação do aumento de baço e fígado.

Já a forma assintomática, é marcada por ausência de sintomas e sinais clínicos. Existe, também, a forma oligossintomática, descrita pela presença de alguns sinais e sintomas, sendo principalmente diarreia, febre e hepatomegalia ou esplenomegalia (MORAIS *et al.*, 2020).

De acordo com Bisett Junior *et al.* (2015), para o diagnóstico clínico, é necessária a avaliação de lesões da pele (localização única ou múltipla). Se tem úlceras com bordas elevadas em molduras, algum fundo de forma granulosa com exsudação, úlceras indolores, no cordão linfático, pode desenvolver nódulos que ulceram e fazem lembrar de lesões apresentadas como esporotricose, bem como ser observada pápulas na periferia das lesões.

## **Diagnóstico**

A doença pode ser diagnosticada através de um exame laboratorial sanguíneo e um teste sorológico reagente ou um exame parasitológico. Cães assintomáticos e exames positivos são considerados infectados, desempenhando o papel de cão reservatório, dificultando o combate da LVC (MORAIS, *et al.*, 2020).

Rocha (2019) diz que o teste Eliza foi criado no ano de 1971 e em 1976 foi introduzido no diagnóstico de Leishmaniose, tendo uma variabilidade de acordo com o antígeno utilizado ou com alterações que venham sofrer o protocolo. Assim, sensibilidade e especificidade da técnica podem variar entre 90 e 100%, tal como entre 71 e 100%, respectivamente.

Os testes imunocromatográficos, que utilizam como antígeno o rK39, vêm sendo empregados no diagnóstico de LV humana e canina, exames de fácil execução, com resultado rápido, podendo ser realizados em amostras de sangue total, soro, plasma, ou mesmo em eluatos (ROCHA *et al.*, 2015).

Segundo Rocha (2019), existe outra forma de diagnóstico: os moleculares, sendo sensíveis e específicos, capazes de identificar a presença do parasito até mesmo o nível de espécie, obtendo resultados que confirmam a capacidade da técnica de PCR em detectar o kDNA correspondente a um parasita. A partir daí, esta técnica passou a ser utilizada no diagnóstico da LV.

O PCR é uma variação do método molecular que oferece uma análise quantitativa e qualitativa nos resultados, tendo um diagnóstico de alta especificidade para Leishmaniose. A utilização dessa técnica na identificação das leishmanioses demonstra resultados interessantes em estudos epidemiológicos (SILVA *et al.*, 2017).

De acordo com Peixoto *et al.* (2015), o diagnóstico molecular comparado a outras técnicas tem uma maior sensibilidade e especificidade, usando o mesmo material biológico, e pode ser utilizado como padrão. Quando necessário substituir o diagnóstico parasitológico, é capaz de melhorar sua acurácia e permitindo detectar o parasita no início da infecção.

Enquanto o diagnóstico molecular consegue detectar o parasita no início da infecção, a sorologia tem melhor atuação em estágios mais avante da doença. Entretanto, apesar dos métodos com base em PCR se mostrarem bem eficazes no diagnóstico das leishmanioses, ainda não existe um método padronizado (ROCHA, 2019).

Porém, as evidências indicam que o uso de medidas preventivas (vacina, coleiras repelentes ou outra forma de repelente) no cão infectado, assim como em todos os cães de áreas endêmicas, é a peça chave na vigilância da doença (MORAIS *et al.*, 2020).

No diagnóstico epidemiológico, avalia-se o paciente e sua área endêmica, qual foi o local em que o paciente visitou por últimos dias e se o caso é autóctone. O sorológico recomenda-se o Enzyme Linked Immunosorbent Assay (conhecido popularmente como ELISA) (MORAIS *et al.*, 2020).

O teste sorológico serve também para acompanhamento do tratamento, pois, no decorrer, o exame do animal pode testar negativo, indicando uma diminuição na carga parasitária. Isso permite demonstrar de forma geral menor sensibilidade quando o paciente apresenta baixa ou redução na carga parasitária com baixos títulos de anticorpos (MORAIS *et al.*, 2020).

Tendo como exemplo o A RIFI que permite avaliar anticorpos anti-Leishmania, com ponto de corte universal a partir de 40 diluições até a diluição negativa, o ELISA tradicionalmente usado é uma única diluição. Mas ao avaliar a absorvância, seu ponto de corte é estabelecido para cada exame e o resultado reagente é estabelecido quando a leitura da DO supera o valor do ponto de corte (MORAIS *et al.*, 2020).

### **Tratamento e Prevenção**

Segundo Araújo *et al.* (2018), na data de 11 de julho de 2008 foi publicada no Brasil, a portaria interministerial nº 1.426 dos Ministérios da Saúde e da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) proíbe o tratamento de LVC com produtos de uso humano ou não registrados no MAPA em países em que o tratamento pode ser realizado.

Os principais medicamentos utilizados são os antimoniais pentavalentes, como o alopurinol, a aminosidina, a anfotericina B e a miltefosina, empregados de forma isolada ou em associação (ARAÚJO *et al.*, 2018).

De acordo com Nishida *et al.* (2017), para cães com testes diagnósticos positivos, é considerada a eutanásia como medida de controle. Porém, esse ato pode causar um grande impacto social e emocional e ser considerado pouco eficiente para o controle da doença.

Existe novo protocolo que pode ser realizado como tratamento e prevenção, que consiste na utilização de um Leishmanioestático, como o Alopurinol, para cessar a multiplicação do protozoário, junto a um imunomodulador como a Marbofloxacina, para reforçar a imunidade do hospedeiro e a utilização de um Leishmanicida, como a Miltefosina que atua diminuindo a carga parasitária do protozoário (NISHIDA *et al.*, 2017).

Pode ser associado a esse tratamento a coleira com deltametrina a 4%, que serve como repelente do mosquito. Isso, pois, ela possui um mecanismo de ação que libera a substância a partir do atrito da mesma com o pescoço do cão, levando, assim, a liberação contínua do inseticida na pele e fornecendo proteção tanto individual quanto coletiva (NISHIDA *et al.*, 2017).

Segundo Nishida *et al.* (2017), para a realização da vacinação, é necessário iniciar o protocolo quando o animal possuir acima de 4 meses de idade e testar negativo aos testes sorológicos. Após isso, a vacina é aplicada em

3 doses com intervalos de 21 dias entre aplicações, realizando também o reforço anual contando a partir da data da primeira dose.

As estratégias existentes para o controle da doença, preconizadas pelo Ministério da Saúde, estão centradas no inquérito sorológico dos cães, com eutanásia dos animais sororreagentes; diagnóstico precoce e tratamento adequado dos casos humanos; controle do vetor com uso de inseticidas; e conhecimento populacional da doença (LEITE, 2016).

## **METODOLOGIA**

O estudo foi realizado na cidade de Manhuaçu-MG, localizada a 282 quilômetros da capital do estado, e possui cerca de 91.169 habitantes, segundo o último censo demográfico realizado em 2020 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

Trata-se de uma pesquisa retrospectiva quantitativa, na qual foram analisados 1264 (mil duzentos e sessenta e dois) resultados de exames e fichas clínicas de cães que foram atendidos entre os anos de 2015 a 2020. Os exames foram realizados por um laboratório de uso cotidiano da empresa.

A coleta de dados foi feita durante os meses de abril e maio de 2021, tendo, como critério de inclusão para participar da pesquisa, cães que realizaram teste de leishmaniose, cujo enquadramento é a realização do exame de Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) para leishmaniose, conjunto aos sinais clínicos.

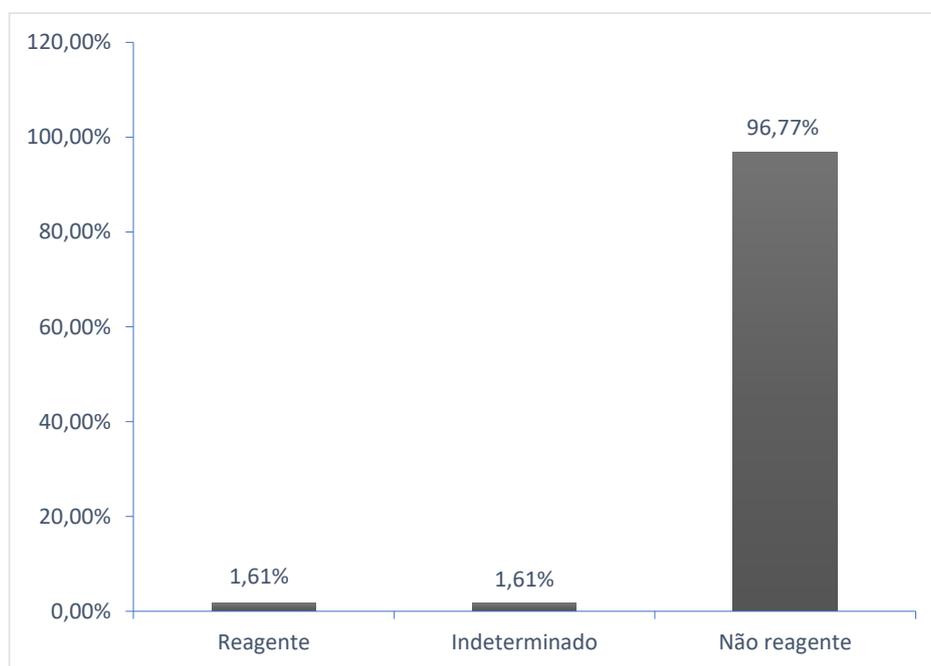
Os dados foram analisados para Leishmaniose IgG, no qual o mesmo determina a quantidade de anticorpos anti-Leishmania em amostras de soro, plasma ou sangue, realizados pelo método ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Nessa clínica, foram utilizadas amostras de sangue dos animais testados.

Os dados foram organizados e analisados no programa *Microsoft Office Excel*®. Este trabalho resultou de um estudo de análises de dados realizado em uma clínica veterinária localizada na cidade de Manhuaçu-MG, com o objetivo de verificar casos de leishmaniose através da realização de exames laboratoriais para doença e das fichas de atendimento clínico.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

### Resultados

Dos 1264 dados analisados, foram encontrados 62 (sessenta e dois) testes para Leishmaniose IgG, onde 1(um) apresentava reagente ao teste representando 1,66% dos dados, que pode ser explicado com o fato de que a região não é de zona endêmica e muitos dos casos ocorrem em zona rural, muitas vezes esses proprietários não tem conhecimento sobre a doença ou não possuem condições financeiras para realizar uma consulta com o médico veterinário o que acaba tendo um baixo número de casos comprovados. O teste também apresentava 1(um) resultado indeterminado que representava 1,61% dos dados e 60(sessenta) exames apresentavam resultados não reagentes, representando 96,77% assim como na figura 1. Após a conclusão desses dados, foram analisadas as fichas clínicas dos animais onde 22(vinte e dois) apresentavam sintomas sugestivos para doença.



**Figura 1:** Dados encontrados em porcentagem a partir de análises de testes para Leishmaniose IgG em uma clínica veterinária do município de Manhuaçu-MG. 2021.

Fonte: Elaborado pelas autoras.

Do caso analisado com resultado indeterminado, houve uma falha laboratorial, o médico veterinário foi informado do acontecido e relatou ao

proprietário, solicitando que o exame fosse repetido. O proprietário não autorizou o novo procedimento e não retornou a clínica.

No caso apresentado como positivo, o animal já tinha sido testado para leishmaniose a algum tempo em outra clínica, não apresentava sintomas sugestivos de uma nova recidiva da doença, porém o mesmo apresentava uma lesão na glândula anal. O tutor quis realizar o exame para leishmaniose no qual foi constatado reagente. Como tratamento, foi receitado para o animal, por via oral: Allopurinol 100 mg em comprimido, para administrar por via oral meio comprimido ao dia; Rilexine 75<sup>®</sup> comprimido, para administrar por via oral meio comprimido de 12/12 horas durante 7 dias; Dipirona Gotas, para administrar por via oral duas gotas de 8/8 horas durante 3 dias. Para uso externo: Rifotrat<sup>®</sup> spray foi receitado para borrifar na ferida 3 vezes ao dia até a cicatrização completa. Foi indicada, também, a limpeza da lesão com soro fisiológico antes de borrifar o medicamento. Usar colar elisabetano durante todo o tratamento. O animal fez o retorno após um mês, no qual apresentou melhora da lesão na glândula anal e o tratamento foi suspenso, mantendo apenas o Allopurinol.

## **Discussões**

Este estudo relata um baixo índice de infecção, sendo semelhante ao estudo feito em Cláudio, macrorregião de Minas Gerais, onde foi estimada em 1,2% a prevalência de casos analisados na área urbana da cidade. (LAMOUNIER *et al.*, 2017).

Da mesma forma, foi relatado, na cidade de Iguatama, Minas Gerais, um novo estudo que também mostra uma baixa infecção de leishmaniose, sendo confirmado o primeiro caso na região. Isso mostra que casos de Leishmaniose estão crescendo em algumas regiões de Minas Gerais, diferente de outras regiões onde a doença aparece com maior relevância (LAMOUNIER *et al.*, 2017).

Lamounier *et al.* (2020) diz que elevadas taxas de soropositividade podem variar em populações caninas de diferentes regiões e a presença de cães infectados é fator de risco para a ocorrência da doença em humanos. Temponi *et al.* (2018) diz que as áreas entre as mesorregiões de Belo Horizonte, Vale do Rio Doce e Norte de Minas são as áreas com maior relevância epidemiológica,

mostrando assim que a região em que se localiza a pesquisa não é uma área com histórico de ocorrência elevada de leishmaniose.

Mesmo que o estudo tenha sido feito em área urbana, a devastação de áreas silvestres para exploração pode trazer a doença para os centros urbanos. Isso faz com que tanto os vetores como os hospedeiros migrem para o peridomicílio humano em busca de alimentos, podendo transmitir a doença (RIBEIRO *et al.*, 2019).

Silva *et al.* (2017) dizem que os levantamentos sorológicos da LVC na zona rural, geralmente, apresentam prevalências mais altas do que na zona urbana, visto que na zona urbana as condições sanitárias e animais promovem uma menor atração e concentração do vetor, bem como o hábito de caça noturna que pode aumentar o risco de infecção.

Lamounier *et al.* (2017) relata uma grande relevância os relatos de novos casos no país que podem revelar que cidades consideradas indenes para a doença ou de pouca incidência são áreas onde o agente está presente.

Portanto, é importante ressaltar a necessidade da realização de inquéritos epidemiológicos, a fim de conhecer a realidade dessa protozoose em área considerada silenciosa pelo Ministério da Saúde (LAMOUNIER *et al.*, 2020).

Assim como no presente estudo, no qual o animal testado para reagente não apresentava sintomas, Silva *et al.* (2017) dizem que cães assintomáticos representam o maior percentual de animais soropositivos, sendo um fato de grande importância no contexto epidemiológico, visto que estes animais assintomáticos podem infectar flebotomíneos, de modo a disseminar a doença.

Rocha (2019) aponta que cães infectados assintomáticos podem apresentar cerca de 20% de parasitismo cutâneo, e a falta de sinais clínicos é uma condição observada na maioria dos cães soropositivos para leishmaniose, o que pode favorecer a infecção do vetor quando faz o seu repasto sanguíneo e manter o ciclo de transmissão.

Segundo Ribeiro *et al.* (2019), a utilização de exames com detecção de anticorpos circulantes anti-Leishmania como o ELISA que foi utilizado na clínica, é de grande importância, devido ao fato que os animais doentes desenvolvem resposta imune humoral e produzem altos títulos de IgG anti-Leishmania.

O teste de Elisa pode apresentar, dependendo também do antígeno empregado, uma sensibilidade que varia entre 80% e 99,5% e uma especificidade entre 81% e 100% (RIBEIRO *et al.* 2019).

Ribeiro *et al.* (2019) apontam que esses testes sorológicos, como o realizado nesse estudo, apresentam limitações importantes, como reações cruzadas, resultados falso-negativos em casos de baixos títulos, como reações duvidosas.

Segundo Rocha (2019), ocorre uma diversidade nos sinais clínicos ou ausência deles, sendo preciso o diagnóstico laboratorial imprescindivelmente para confirmação da doença, mesmo que nenhum dos exames existentes apresente 100% de sensibilidade e especificidade.

Foram obtidos resultados variáveis para a sensibilidade e especificidade do método sorológico ELISA com um grupo de cães investigados, utilizando também o método molecular do PCR-kDNA (RIBOLD *et al.*, 2018).

Carvalho *et al.* (2018) relatou em seu estudo que do grupo de animais sintomáticos, o ELISA apresentou sensibilidade de 95,2%. Já o grupo de cães assintomáticos teve sensibilidade menor, de 65,6%; a especificidade também ocorreu diferenciações: sintomáticos com 55,6% e assintomáticos com 84,1%.

Os testes devem ser interpretados com bastante cautela, visto que não têm o valor de aproximação correta para a detecção dos cães assintomáticos, cães que provém de áreas endêmicas ou cães que obtém uma resposta imune predominantemente celular (GARCIA *et al.*, 2006; RIBOLDI *et al.*, 2018).

É importante a identificação e conhecimento da divisão geográfica dos flebotomíneos, sendo de grande relevância para o entendimento dos fatores relacionados à transmissão de doenças, principalmente as leishmanioses; pois, fatores climáticos e ecológicos interferem nessa distribuição (ROCHA, 2019).

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O desenvolvimento do presente estudo possibilitou uma análise parcial de ocorrências de casos de leishmaniose no município de Manhuaçu MG. De acordo com a pesquisa, observa-se que a doença tem uma maior concentração em determinadas regiões, o que justifica a presença de poucos casos na localidade estudada. Este tipo de trabalho se faz necessário para que

a população tenha mais informação sobre a doença e sobre a importância de sua prevenção, visto que a mesma é uma zoonose, podendo infectar animais e humanos.

## REFERENCIAS

ALMEIDA, Paulo Silva. Distribuição geográfica das espécies de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) na região centro oeste, Brasil. Orientador: Dr. Josué Raizer (Doutorado em Entomologia e conservação da biodiversidade). Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS, 2015.

ARAÚJO, Camila de Melo Costa. Uso da miltefosina como terapia combinada em Leishmaniose Visceral Canina - relato de caso. 2018. 11 f. Trabalho de Conclusão de Residência (Especialização/ Residência Veterinária) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG, 2018.

BISSET JUNIOR, Alceu. Manual técnico de Leishmanioses Caninas. Curitiba-PR. 2015. Disponível em: <https://www.crmv-pr.org.br/uploads/publicacao/arquivos/Manual-tecnico-de-leishmanioses-caninas.pdf> Acesso em: 25 nov. 2020.

BLANCO, Vinícius Redua; NASCIMENTO JUNIOR, Nailton Monteiro. Leishmaniose: Aspectos Gerais Relacionados com a Doença, o Ciclo do Parasita, Fármacos Disponíveis, Novos Protótipos e Vacinas. Araraquara-SP, 2017. Disponível em: <http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/v9n3a04.pdf> Acesso em: 25 nov. 2020.

CAMPOS, Geisa Carla Martins de. Levantamento dos aspectos epidemiológicos da leishmaniose canina em unidade com cães do Exército Brasileiro. Orientador: Cap. Reginaldo Weidmann Ferreira, 2018, 20 f. Especialização (Ciências Militares) – Escola de aperfeiçoamento de oficiais, Escola de formação complementar do Exército, Belo Horizonte –MG, 2018.

GARCIA, Fabiana Augusta Ikeda; MARCONDES, Mary. Métodos de diagnóstico da leishmaniose visceral canina. **Clínica Veterinária**, n. 62, p. 32-38, São Paulo, 2007.

LAMOUNIER *et al.* Análise da leishmaniose visceral canina e humana no município de Cláudio, macrorregional de saúde oeste de Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**. vol.16, p. 220 - 231, 25 set. 2020.

LAMOUNIER *et al.* Leishmaniose visceral canina autóctone em área indene no Centro Oeste de e de Minas Gerais, Brasil. Recife, vol.11, n.3, p.179-184, 2017.

LAURENTI, Márcia Dalastra. Correlação entre o diagnóstico parasitológico e sorológico na leishmaniose visceral americana canina. **BEPA, Bol. epidemiol. paul. (Online)**, São Paulo, v. 6, n. 67, jul. 2009. Disponível em <[http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1806-42722009000700002&lng=pt&nrm=iso](http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-42722009000700002&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em 01 jun. 2021.

LEITE, Bruna Martins Macedo. Avaliação da eficácia de coleiras impregnadas com deltametrina no controle e prevenção da leishmaniose visceral canina em área endêmica. Orientação: Dra. Patrícia Sampaio Tavares Veras, 2016. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa). Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Gonçalo Moniz, Salvador – BA, 2016.

LIMA, Denise Alves de; NOVO, Shênia Patrícia Correa; SANTOS, Fernanda Nunes; MACIEL, Elvira Maria de Seixas Godinho. Aspectos epidemiológicos, sociais e ambientais relacionados a transmissão e ao controle da leishmaniose visceral canina da Ilha de Marambaia, Mangaratiba – Rio de Janeiro. **Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA**, Três Lagoas, vol. 9, n. 3, p. 64-81, 2019.

Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Brasília – DF. EDITORA MS, 2006. ISSN. Versão *online*. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_controle\\_leishmaniose\\_visceral.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral.pdf). Acesso em: 15 jun. 2021.

MORAIS, Nélio Batista de. Leishmaniose visceral canina – Guia de bolso. 1º edição. Brasília – DF, 2020. Disponível em: <https://www.cfmv.gov.br/guia-de-bolso-sobre-leishmaniose-HYPERLINK> "https://www.cfmv.gov.br/guia-de-bolso-sobre-leishmaniose-visceral/comunicacao/publicacoes/2020/11/02/"visceral/comunicacao/publicacoes/2020/11/02/#1" Acesso em: 25 nov. 2020.

NISHIDA, Leonardo Henrique Gomes; DELMASCHIO, Isabela Bellei. Leishmaniose visceral canina – Revisão de literatura. **Revista Científica de Medicina Veterinária – UNORP**, S.J. do Rio Preto – SP, vol.1, n.2, p. 07-15, 2017.

PEIXOTO, [Henry Maia](#), DE OLIVEIRA, Maria Regina Fernandes, ROMERO, Gustavo Adolfo Sierra. Serological diagnosis of canine visceral leishmaniasis in Brazil: systematic review and meta-analysis. **Tropical Medicine & International Health**, vol. 20, nº3, 2015. Disponível em <https://doi.org/10.1111/tmi.12429>. Acesso 01 jun. 2021.

PORTELLA, Monique Ferreira. Diagnóstico diferencial e comparativo através de métodos sorológicos e moleculares da infecção por leishmania spp. em cães residentes da região oceânica de Itaipu, município de Niterói, Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Reginaldo Peçanha Brazil, 2018. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) - Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2018.

RIBEIRO, Cassio Ricardo; GONÇALVES, Carolynne Arruda; CRUZ, Lauricio Monteiro; GALERA, Paula Diniz. Prevalência da leishmaniose visceral canina e coinfeções em região periurbana no distrito federal – BRASIL. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, vol.20, p.1-8, e-49589, 2019.

RIBOLDI, [Emeline](#) *et al.* Método molecular confirma infecção canina por Leishmania detectada por métodos sorológicos em área não endêmica do Brasil. **O jornal coreano de parasitologia**, vol. 56, n ° 1, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3347/kjp.2018.56.1.11>. Acesso em 15 mai. 2021

ROCHA, Ana Maria Sampaio. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina no município de Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil. Orientador: Prof. Dr. George Luiz Lins Machado Coelho, 2019. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). **Revista Acadêmica Ciência Animal – PUCPR**, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto – MG, 2019.

SILVA, José D. *et al.* Leishmaniose visceral em cães de assentamentos rurais. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande. Patos – PB, 2017.

SCHIMMING, Bruno Cesar; PINTO E SILVA, José Ricardo Carvalho. Leishmaniose Visceral Canina – Revisão de Literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. n.19, Garça – SP, 2012.

TEIXEIRA, Ana Izabel Passarella. Cães e tutores: os desafios do diagnóstico e do controle da leishmaniose visceral canina. Orientador: Professor Dr. Gustavo Adolfo Sierra Romero, 2019. Tese (Doutorado em Medicina Tropical, na área de concentração: Biologia das doenças infecciosas de parasitárias). Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2019.

TEMPONI, Andrea Oliveira Dias *et al.* Ocorrência de casos de leishmaniose tegumentar americana: uma análise multivariada dos circuitos espaciais de produção, Minas Gerais, Brasil, 2007 a 2011. **Caderno de Saúde Pública**, vol. 34, n° 2, Belo Horizonte – MG, 2018.

YOUSSEF, Amanda Garcia *et al.*, Conhecimento populacional sobre leishmaniose no município de Marília, São Paulo, Brasil. **Revista Acadêmica Ciência Animal – PUCPR**, Marília, SP, vol. 17. 29 abr. 2019.

ZUBEN, Andrea Paula Bruno von; DONALÍSIO, Maria Rita. Dificuldades na execução das diretrizes do programa de vigilância e controle da Leishmaniose

Visceral em grandes municípios brasileiros. **Caderno de Saúde Pública**, vol. 21, n° 6, Rio de Janeiro – RJ, 2016.

