



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

**TRABALHOS DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**MEDICINA VETERINÁRIA – 2021/02**



**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

TRABALHO
ACUPUNTURA NO TRATAMENTO DE SEQUELAS NEUROLÓGICAS DECORRENTES DA INFECÇÃO POR VÍRUS DA CINMOSE CANINA: RELATO DE CASO
ANÁLISE DE SÓLIDOS NO LEITE DE BÚFALA E DE VACA
AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE EMBRIÕES RECUPERADOS DE VACAS HOLANDESAS SUPEROVULADAS COM FSH CRIADAS EM SISTEMA EXTENSIVO
AVALIAÇÃO DA TAXA DE PREENHEZ DE VACAS PROTOCOLADAS COM SETE E OITO DIAS DE EXPOSIÇÃO A PROGESTERONA
AVALIAÇÃO DO DILUENTE BOTUBOV® E CITRATAO-GEMA NA CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN BOVINO
AVALIAÇÃO ELETROCARDIOGRÁFICA E VHS EM CÃES DA RAÇA LULU DA POMERÂNIA
EFICÁCIA NA UTILIZAÇÃO DA <i>Chenopodium ambrosioides</i> (ERVA DE SANTA MARIA) NO COMBATE À VERMINOSE DE EQUINOS
MACERAÇÃO FETAL EM CONSEQUÊNCIA DE ERLIQUIOSE EM PERÍODO GESTACIONAL – RELATO DE CASO
INCIDÊNCIA DE CASOS DE LEISHMANIOSE EM UMA CLÍNICA DO MUNICÍPIO DE MANHUAÇU - MG
PERCEPÇÃO DOS CLIENTES DO HOSPITAL ESCOLA VETERINÁRIO UNIVÉRTIX SOBRE BEM-ESTAR ANIMAL DE CÃES E GATOS
PESQUISA DE CONTAMINAÇÃO DE MORTADELA POR <i>Listeria monocytogenes</i> EM AMOSTRAS COLETADAS NA REGIÃO DA ZONA DA MATA MINEIRA
PESQUISA DE <i>Listeria monocytogenes</i> EM MUÇARELA COMERCIALIZADA EM MATIPÓ
DOENÇA DO TRATO URINÁRIO INFERIOR DO FELINO ASSOCIADA A FATORES DE ESTRESSE – RELATO DE CASO
USO DE IMUNOESTIMULANTES NO TRATAMENTO DA PAPILOMATOSE BOVINA
USO DE PLASMA RICO EM PLAQUETAS NO TRATAMENTO DE ÉGUAS COM ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS COBERTURA

# **ACUPUNTURA NO TRATAMENTO DE SEQUELAS NEUROLÓGICAS DECORRENTES DA INFECÇÃO POR VÍRUS DA CINOMOSE CANINA: RELATO DE CASO**

**Acadêmico:** Igor Abreu Dias

**Orientadora:** Mayara Cristini Ferreira de Aguiar

## **RESUMO**

A cinomose é uma doença grave, infecciosa, que acomete carnívoros domésticos e selvagens, principalmente os cães. É uma doença multissistêmica com alta morbidade por todo o mundo, podendo desenvolver sinais respiratórios, gastrointestinais e neurológicos. A fase neurológica é a forma mais grave. O diagnóstico é baseado nas manifestações clínicas, exames complementares como hemograma, teste de Elisa, RT-PCR e imunofluorescência indireta. A profilaxia é de suma importância e deve ser orientada, incluindo ingestão de colostro materno, vacinação, controle ambiental com correta higienização e isolamento dos animais infectados. O tratamento é basicamente de suporte, de acordo com os sinais clínicos que o animal apresentar. O uso de tratamento auxiliar como a acupuntura vem sendo cada vez mais recomendado, com o intuito de reduzir as sequelas neurológicas causadas pela doença e trazendo aos cães afetados uma maior qualidade de vida. A acupuntura pode ser recomendada a complementar o tratamento sintomático em casos de animais que manifestam sintomas neurológicos graves, sendo, portanto, uma boa opção de tratamento para doenças que eram consideradas incuráveis. O objetivo deste trabalho foi relatar e tratar as sequelas neurológicas causadas pela cinomose, por meio de acupuntura, associada ao uso de terapias adjuntas a fim de corrigir problemas motores gerados pela patologia.

**PALAVRAS-CHAVES:** Cinomose; acupuntura; neurológicas; Medicina Tradicional Chinesa.

**LINHA DE PESQUISA:** Clínica e Cirurgia Animal.

## **INTRODUÇÃO**

A cinomose é uma doença infecciosa altamente contagiosa, multissistêmica, que costuma afetar o sistema respiratório, o sistema gastrintestinal (GI) e o sistema nervoso central (SNC), tendo a capacidade de contaminar cães de qualquer raça, sexo ou idade. É uma das doenças virais mais importantes em cães, apresenta alta mortalidade em populações não vacinadas em todo o mundo (SHELLY, 2013)

Em animais já livres da infecção viral, podem-se observar sequelas características de lesões da cinomose, como a mioclonia de músculos mastigatórios ou de algum dos membros, inclinação da cabeça, nistagmo, paralisia parcial ou total, caminhar compulsivo, entre outros. Sequelas neurológicas tratadas com acupuntura evidenciam importantes respostas, devido a estímulo de acupontos que ativam

receptores sensoriais dos músculos e da pele, gerando impulso nervoso aos neurônios. Para as doenças ditas incuráveis, a cinomose, por exemplo, geralmente leva a quadros de sequelas e o uso da acupuntura tem sido indicado com sucesso (JERICÓ *et al.*, 2015).

A acupuntura é uma técnica terapêutica da Medicina Tradicional Chinesa que, ao longo dos anos, vem sendo muito usada na Medicina Veterinária (FOGANHOLLI *et al.*, 2007). A acupuntura pode ser definida como uma técnica de tratamento com aplicação de agulhas em pontos pré-selecionados sobre o corpo do animal, para produzir uma reação fisiológica específica com o intuito de buscar a homeostase (FOGANHOLLI *et al.*, 2007). Experimentos trazem resultado de a acupuntura age por meio da ativação de vias do SNC, estimulando a secreção e liberação de endorfina e opioide (STUX; POMERANZ, 2000).

O objetivo deste trabalho é relatar e tratar as sequelas neurológicas causadas pela cinomose, por meio de acupuntura, associada ao uso de terapias adjuntas a fim de corrigir problemas motores gerados pela patologia.

## **CINOMOSE CANINA**

A cinomose é uma doença infectocontagiosa, altamente letal, com distribuição mundial. Sua frequência e ocorrência são variáveis em diferentes regiões do mundo. A doença acomete cães e outros carnívoros, porém é mais comum em caninos. Normalmente, desencadeia sinais gastrointestinais, respiratórios e neurológicos (JERICÓ *et al.*, 2015).

O agente causador é um vírus de RNA, envelopado, de fita única, da família *Paramyxoviridae*, gênero *Morbillivirus* que compartilha muitas características antigênicas e patogênicas com o vírus do sarampo e da peste bovina (JERICÓ *et al.*, 2015).

A infecção é transmitida por aerossóis ou por contato direto entre animais, em um período de incubação de aproximadamente 1 a 4 semanas, podendo, também, contaminar por meio de ambiente infectado. Esta é a forma mais difícil de contaminação, pois o vírus não permanece ativo por um longo tempo, sua cápsula não resiste às condições ambientais (NELSON; COUTO, 2015).

O vírus replica-se nos tecidos linfóides, nervoso e epitelial, sendo eliminado nos exsudatos respiratórios, nas fezes, na saliva, na urina e nos exsudatos conjuntivais por até 60 a 90 dias após a infecção. A afecção generalizada e grave do

tecido linfoide leva à imunossupressão grave, células T e B são afetadas (NELSON; COUTO, 2015).

O aumento da imunossupressão está relacionado à magnitude da resposta humoral do hospedeiro, o que define como a doença se instalará. Essa imunossupressão favorece o surgimento de infecções secundárias por agentes oportunistas, como nos quadros de conjuntivite purulenta, broncopneumonia bacteriana, gastroenterite e dermatite pustular, geralmente encontradas nos casos da doença sistêmica em animais jovens (JERICÓ *et al.*, 2015).

Cães não imunizados são suscetíveis em todas as idades, porém a doença é mais comum em filhotes entre 3 e 6 meses. Cães com boa resposta mediada por células e com bons títulos de anticorpos neutralizantes do vírus devem eliminar o vírus da maioria dos tecidos por volta do 14º dia pós-infecção, sem apresentar qualquer manifestação clínica (NELSON; COUTO, 2015).

### **Sinais clínicos e patogenia**

Os sinais clínicos de cinomose variam dependendo da virulência da cepa viral, das condições ambientais, da idade e da imunidade do hospedeiro. Mais de 50% das infecções pelo vírus são subclínicas. Os sinais incluem inquietação, queda do apetite, febre e infecção do trato respiratório superior. A secreção serosa ocular bilateral pode tornar-se mucopurulenta, com tosse e dispneia. Muitos cães com a infecção leve desenvolvem sinais clínicos semelhante com a “tosse dos canis” (GREENE; VOEUX, 2015).

O vírus inalado alcança o epitélio respiratório superior e, em 24 horas, multiplicam-se nos macrófagos levando a uma infecção inicial das tonsilas palatinas e dos linfonodos bronqueais. A partir do segundo dia após a infecção, macrófagos e linfócitos disseminam o vírus para outros órgãos linfoides como timo, baço, medula óssea, linfonodos retro faríngeos. Após o quarto dia, o vírus replica nos linfonodos mesentéricos, lâmina própria do estômago, intestino delgado e células de Kuppfer no fígado. O início da elevação da temperatura corporal e leucopenia corresponde à disseminação e proliferação do vírus nos órgãos linfoides (GREENE; VOEUX, 2015).

Após o sétimo dia, ocorre a disseminação do vírus para o sistema nervoso central pela via hematogênica. Animais em bom estado imunológico podem controlar a infecção. Por outro lado, animais com um sistema imune fraco, que sofrem algum atraso ou falha na formação de anticorpos, o vírus dissemina com manifestações

multissistêmicas absurdas. O aparecimento dos sintomas, geralmente, tem um período de incubação de 14 a 18 dias após a exposição pelo vírus (ETTINGER; FELDMAN, 2004).

Sinais e sintomas clínicos variam de severo a moderado. Os animais podem apresentar desidratação, descarga nasal, febre, vômito, diarreia, anorexia, pneumonia e bronquite, hiperqueratose de coxins, pústulas abdominais, erupções cutâneas (ETTINGER; FELDMAN, 2004).

Os sinais neurológicos variam de acordo com a área do sistema nervoso central afetada. Rigidez cervical e hiperestesia estão relacionadas à inflamação meningeal. Convulsões, sinais cerebelares e vestibulares, como andar em círculo, mioclonias e espasmos flexores, ataxia sensorial, associados com desmielinização, movimento mastigatório crônico, cegueira e paralisias são características do vírus no sistema nervoso central. Essas são as alterações mais graves da doença e, geralmente, o animal vem a óbito (ETTINGER; FELDMAN, 2004).

## **Diagnóstico**

O diagnóstico da cinomose é baseado no histórico e quadro clínico, achados de hemograma e exames complementares que identificam o código do vírus ou os anticorpos contra ele. Uma combinação de fatores como sintomas respiratórios, secreções nasais, oculares, febre, diarreia, hiperqueratose dos coxins, distúrbios neurológicos, animais não vacinados, são indicativos da doença (NELSON; COUTO, 2015).

Achados hematológicos incluem leucopenia por linfocitopenia e trombocitopenia podem estar presentes no início da fase aguda. Corpúsculos de inclusão citoplasmáticos podem aparecer em linfócitos circulantes. No exame bioquímico, a albumina vai estar diminuída; alfa e gama globulinas elevadas. Nos exames radiológicos, pode-se observar alterações pulmonares e alveolares ao longo do avanço da infecção (NELSON; COUTO, 2015).

O diagnóstico definitivo da cinomose requer a identificação de inclusões virais por exame citológico, visualização de anticorpos corados diretamente por fluorescência em lâminas de citologia ou histopatologia, avaliação histopatológica, isolamento viral ou transcriptase reversa da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) identificando o RNA do vírus da cinomose em amostras de sangue periférico, LCR ou raspado conjuntival (NELSON; COUTO, 2015)

## **Tratamento**

O tratamento é indefinido e de suporte. Não existem medicamentos antivirais específicos. Esse tratamento tem como objetivo melhorar a resistência do animal, estimular seu organismo, ao ponto de evitar possíveis infecções bacterianas secundárias. Fluidoterapia, antibioticoterapia para controle das infecções bacterianas, vitaminas do complexo B, suplementos nutricionais, vitamina c, corticoterapia na fase nervosa, anticonvulsivantes, fisioterapia em casos de paralisia e acupuntura resultam o tratamento convencional (GREENE; VOEUX, 2015).

O prognóstico de casos de infecção pelo vírus da cinomose é sempre de reservado a ruim. A encefalite multifocal progressiva leva a um quadro de tetraplegia, semicomato e incapacitação, ponto em que, geralmente, a eutanásia é recomendada.

Todavia, embora o tratamento seja ineficaz, os cães não devem ser eutanasiados, a menos que os distúrbios sejam progressivos ou incompatíveis com a vida do animal. É de suma importância comunicar ao proprietário de possíveis sequelas neurológicas (GREENE; VOEUX, 2015).

A vacinação é um importante fator de prevenção contra a cinomose. Comumente conhecidas como as vacinas V8 e V10, são constituídas de vírus vivo atenuado (JERICÓ *et al.*, 2015). Filhotes devem ser vacinados a partir de 45 dias de vida. Recomendam-se 3 doses com intervalos de 21 a 30 dias entre si. Não se deve exceder 30 dias. Em algumas raças — como rottweiler, doberman e galgos — são recomendadas 4 doses mais o reforço anual. Não se recomenda a vacinação de animais imunossuprimidos, pois podem desenvolver um quadro de encefalopatia pós-vacinal (JERICÓ *et al.*, 2015).

## **MEDICINA TRADICIONAL CHINESA E ACUPUNTURA**

A acupuntura é uma técnica milenar que resistiu ao tempo, cujo registros são de mais de 5 mil anos. A palavra é derivada do latino *acus* e *pungere*, que sugere agulha e puncionar, respectivamente. A acupuntura visa à terapia e a cura das patologias pela aplicação de estímulos por meio da pele, com a inserção de agulhas e/ou transferência de calor em pontos específicos chamados acupontos (ALTMAN, 1997).

A acupuntura vem sendo usada com finalidades preventiva e terapêutica há vários milênios. De fato, agulhas de pedra e de espinha de peixe foram utilizadas na China durante a Idade da Pedra. As técnicas de acupuntura são variadas e existem diversas técnicas que podem ser implantadas na hora do tratamento (ALTMAN, 1997).

Segundo a Medicina Tradicional Chinesa, todos nós possuímos uma energia primordial que flui continuamente em nosso corpo por meio de canais energéticos chamados de meridianos. Essa energia vital é conhecida como Qi (JACQUES, 2005).

O Qi se manifesta em dois aspectos, o Yin e o Yang. Ambos são opostos um ao outro, mas ao mesmo tempo se complementam e devem fluir de forma equilibrada pelos meridianos para que haja saúde. Quando esse equilíbrio natural se altera, surgem as enfermidades no organismo (MACIOCIA, 2007).

A Medicina Tradicional Chinesa baseia-se na doutrina do equilíbrio entre Yin e Yang, em que todas as estruturas e funções orgânicas — assim com todos os sinais e sintomas que apontam para disfunções orgânicas — podem ser analisados e interpretados pela ótica dos dois princípios (WEN, 2001).

O Termo Yin refere-se ao "lado da montanha que está na sombra" e Yang ao "lado da montanha que está no sol". Na linha Yin estão os fenômenos mais materiais, mais densos, mais profundos, mais frios, mais inertes e mais escuros; na linha Yang os fenômenos mais imateriais, mais voláteis, mais quentes, mais claros e com mais movimentos (JACQUES, 2005).

Nos processos patológicos, o Yin ou Yang aparecem em excesso ou deficiência, expressando o rompimento do equilíbrio. O excesso de um consome o outro. A deficiência faz o outro aparecer em excesso. Desse modo, a estratégia terapêutica da M.T.C. pode ser resumida a tonificar o Yin ou Yang deficientes ou a dispersar o Yin ou Yang em excesso (MACIOCIA, 2007).

Além do conceito Yin e Yang, a M.T.C. baseia-se também na teoria dos cinco elementos, em que eles se relacionam entre si e estabelecem um processo de transformação contínua dos fenômenos. Se o equilíbrio entre os elementos for respeitado, a saúde do organismo será mantida. Se houver ruptura ou descontinuidade nos mecanismos que mantêm o sistema em equilíbrio, ocorrerá à doença (JACQUES, 2005).



Figura 1: ciclo de geração e controle



Fonte: MTC balance, 2015.

Cada elemento associa-se a um órgão (Zang), uma víscera (Fu) e um par de meridianos (Jing) ou vasos (Jing-mo). Os meridianos e vasos conectados entre si fazem parte de uma rede de meridianos (Jing-luo) por meio dos quais substâncias vitais fluem sem cessar. As funções do órgão e da víscera e de seus respectivos canais devem coexistir em equilíbrio dinâmico. O desequilíbrio numa das funções repercutirá em todo o sistema, uma vez que existe a interdependência entre eles (ROSS, 1994).

Tabela 1: elementos - seus órgãos e vísceras

<b>Elemento</b>	<b>Órgão</b>	<b>Víscera</b>
Madeira	Fígado	Vesícula biliar
Fogo	Coração	Intestino delgado
Terra	Baço	Estômago
Metal	Pulmão	Intestino grosso
Água	Rim	Bexiga

Fonte: ROSS, 1994

### **CINOMOSE SEGUNDO A MEDICINA TRADICIONAL CHINESA**

A MTC estabelece que condições climáticas alteram o corpo. Portanto, fatores patogênicos externos causados pelo ambiente são considerados como formas de diagnóstico. Ou seja, esses elementos exteriores podem agredir o corpo causando fatores semelhantes aos que ocorrem no ambiente externo. Esses fatores são vento, umidade, secura, calor de verão e frio (WEN, 2001).

O vento produzido penetra nos músculos e tendões e, conseqüentemente, em ossos dos indivíduos acometidos. Podendo, também, afetar o sistema imune. Existe um sistema imune circulante conhecido na MTC por Wei Qi que está localizado abaixo da superfície da pele. O mesmo vento que penetra na musculatura pode se aprofundar e adentrar no sistema nervoso central (SCHWARTZ, 2008).

A umidade é considerada fator ambiental Yin, porém ela é pesada e afunda. Da mesma forma que os tecidos tendem a encharcar com a água, a circulação pode sofrer lentidão e o indivíduo passar a ser pesado e com dificuldade de se locomover. O sistema digestivo também é acometido pela umidade. O baço/pâncreas denominado no elemento terra é predisposto à umidade e tem como função converter os alimentos que ingerimos em energia (SCHWARTZ, 2008).

A secura é um fator ambiental causador de doença, ou seja, totalmente contrário a umidade. O elemento metal presente em pulmões e intestino grosso é susceptível à secura e o estômago e fígado também podem ser acometidos quando ocorre excesso (SCHWARTZ, 2008).

O calor de verão é conhecido como fator Yang e acontece na estação verão. Esse calor ocorre pelo excesso de energia gasta pelo organismo e lesiona estruturas do corpo. Está relacionado ao vento e à umidade e pode causar vômito, diarreia, sangramento nasal ou retal e insolação (SCHWARTZ, 2008).

O calor de fogo é um fator ambiental e, quando em excesso, causa doença. Divide-se em excesso e deficiência (WEN, 2001)

Na medicina Tradicional Chinesa (MTC), a cinomose canina é vista e sugere-se estabelecer uma relação com o vento e o calor. A estação que possui a energia vento é a primavera, a qual corresponde ao elemento madeira, que contém (Zang) representando o fígado, (Gan) a víscera e (Fu) a vesícula biliar (MATTHIESEN, 2004).

A cinomose por ser uma doença provocada por um vírus e está relacionada com o calor externo que penetra no organismo. O Calor afeta o Yin causando predominância de Yang, provocando uma maior concentração de sintomas na parte superior do corpo, no chamando aquecedor superior. O calor atinge o coração (conhecido como Xin na MTC), sendo considerado a morada do Shen (mente). Dessa forma, as doenças que envolvem calor podem se agravar com sintomas relacionados à Shen (MACIOCIA, 1996). Segundo a M.T.C o vento designa movimento rápido e instável. O vento, por ter a característica de leveza e se alterar, é considerado um movimento Yang. Geralmente os sintomas surgem na fase aguda e tendem a manifestar-se com maior duração na parte alta do corpo, normalmente na cabeça. Dentre os sintomas do vento do fígado (Gan) podem ser observados tremores, tonturas, convulsões, mioclonias, parestesias e paralisias (MACIOCIA, 1996).

Na cinomose ocorrem três fases sintomáticas: intestinal, respiratória e neurológica. Para estipular o tratamento em um animal com essa doença, devem ser considerados os sinais clínicos e associar com o método da MTC de acordo com a acupuntura. É importante observar os principais sinais que cada quadro apresenta em um cão portador da cinomose e a patogenia da doença para direcionar o tratamento baseado na MTC. Na fase intestinal, podem ser observados vômito e diarreia (ETTINGER & FELDMAN, 2004). A diarreia, com presença de muco e rastros de sangue, é formada pela penetração de umidade calor no estômago e intestino (WEN, 1985). Na fase respiratória da doença, ocorre broncopneumonia bacteriana secundária, com tosse, descarga nasal e ocular (ETTINGER & FELDMAN, 2004). De acordo com a MTC, a tosse é causada pela mudança da passagem de Qi normal dos pulmões. A tosse é observada quando ocorre queda do Qi. O vento vindo do exterior é causa principal da tosse. Ou seja, o vento adentra na pele e no Qi regulado pelos pulmões, causando a descida desse Qi, formando a

tosse (MACIOCIA, 1996). Já na fase neurológica, é possível observar quadros de convulsões, mioclonias, tremores, incoordenação, paralisia e outros sinais quando há comprometimento do SNC (ETTINGER & FELDMAN, 2004). O vento interior impossibilita o fígado de umidificar os tendões, levando a rigidez do pescoço e o opstótono. Em casos mais graves, o calor e o vento podem levar ao coma. O objetivo do tratamento é retirar o calor e conter o vento (MACIOCIA, 1996).

A acupuntura é uma técnica utilizada para estimular diversos pontos cutâneos escolhidos por meio da indicação terapêutica. Assim, o intuito é obter uma ação analgésica, efeito antiespasmódico, descongestionante e causar um crescimento da capacidade de resistência que o organismo manifesta frente a diversas agressões às quais está sujeito (RUBIN, 1983).

Na acupuntura, existem duas técnicas distintas: a estimulação de áreas por meio da disposição de agulhas na pele e a outra, por transferência de calor para finalidade terapêutica. Esse método de tratamento pretende reconstituir o equilíbrio do organismo em função contrária, tratando doenças funcionais que podem reaparecer e possibilitando uma melhora em caso de doenças graves (DRAEHMPAEHL e ZOHMANN, 1997).

No tratamento da cinomose, deve ser estipulado um protocolo de tratamento individual para cada animal. Em cada protocolo estabelecido, são utilizados pontos de AP que estimulam o paciente. Baseado em cada caso, para cada ponto de acupuntura há uma função exata e distinta, baseado na resposta fisiológica. O protocolo é feito por meio da escolha do ponto e a estimulação a partir do efeito que se espera em cada ponto (SCOGNOMILLO-SZABÓ; BECHARA, 2001).

## **RELATO DE CASO**

Uma cadela da raça *Pit Bull*, com aproximadamente 1,5 anos de idade, foi encaminhada ao hospital veterinário da Faculdade Univértix, em Matipó, no dia 22/06/2021, apresentando quadro característico de sequela de cinomose. Na anamnese, constatou-se que o animal havia sido diagnosticado positivo anteriormente e tratado com amoxicilina e clavulanato de potássio, na dose de 15mg/kg, por via oral (VO), a cada 8 horas (TID); sulfadiazina e trimetropim, 15mg/kg, VO, TID, timomodulina, 80mg/animal, VO, a cada 24 horas (SID) e vitaminas do complexo B (Citoneurin®), VO, 1 comprimido a cada 24 horas.

Durante o tratamento, foi observada boa evolução clínica. Entretanto, após um mês de tratamento, começaram a surgir as sequelas neurológicas.

Nessa fase, ao exame clínico, observou-se ataxia e incoordenação de membros torácicos e paralisia flácida dos membros pélvicos, com atrofia muscular, mioclonia na região facial e membros, tremores generalizados. A pele apresentava-se seca e descamativa.

Foi indicada a terapia com acupuntura, realizada duas vezes na semana, com agulhamento a seco, até a reversão total da paralisia, em um total de 8 sessões. Os determinados pontos usados foram: ponto extra Yintang, VG 20 – Baihui, VG 16 – Fengfu, VB 20 – Fengchi, VB 29 – Juliao, IG 4 – Hegu, IG 11 – Quchi, R 1- Yongquan, R 7 – Fuliu, B 47-Hunmen, F 3 – Taichong e BP 6 – Sanyinjiao.

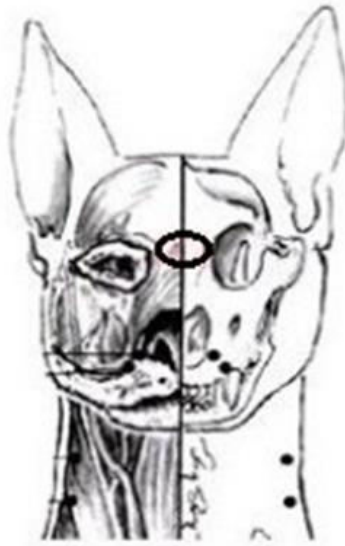
No dia 22/06/2021, foi realizada a primeira sessão de acupuntura no Hospital Veterinário da faculdade Univértix, em Matipó - MG, e as demais sessões foram realizadas na residência do proprietário.

No dia 29/06/2021, na terceira sessão, junto a uma dieta atenciosa e equilibrada, observaram-se melhoras no pelame, pele e tremores. O animal já se alimentava melhor e se apresentava mais ativo. No dia 12/07/2021, quando completava a quinta sessão, foi notada a nítida evolução do quadro, sem sinais de mioclonia e tremores e o animal já conseguia se locomover normalmente, permanecendo ainda uma certa dificuldade em subir e descer as escadas.

No dia 02/08/2021, na oitava e última sessão, o animal já havia retomado completamente com suas atividades físicas, subindo e descendo escadas normalmente, recebendo então alta clínica.

A seguir, estão listados a localização de cada ponto, sua função energética e sua indicação.

**Ponto extra Yintang** (Hall da Foca): tem como funções eliminar o Vento, interromper convulsões, acalmar a mente e alivia a ansiedade. Localiza-se na linha medial da face. Meio entre as sobrancelhas. Indicado para cefaleia, vertigens, rinite e obstrução nasal, insônia, agitação psíquica, perturbação mental (ROSS, 1994) – ver figura 2.



Draehmpaehl & Zohmann. 1997

Figura 2: ponto extra Yintang

Fonte: DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997

**VG 20 - Baihui** (Cem Encontros): tem como funções eliminar Vento Interno, acalmar o Fígado, o Yang e a mente. É um ponto de encontro de todos os Meridianos Yang. (ROSS, 1994). Localiza-se partindo perpendicularmente à pele para cima da base posterior da concha acústica para a linha central da abóbada do crânio. Indicado para epilepsia, inquietude geral e medo, afasia, paralisia, ataques de forma epilética (DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997) – ver figura 3.

**VG 16 - Fengfu** (Palácio do Vento): tem como funções eliminar o Vento, desobstruir a mente, beneficiar o cérebro. (ROSS, 1994). Localiza-se abaixo da profundidade occipital externa, na altura de VB 20, forame atlantooccipital. Indicado para pescoço duro, síndrome cervical (DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997– ver figura 3.

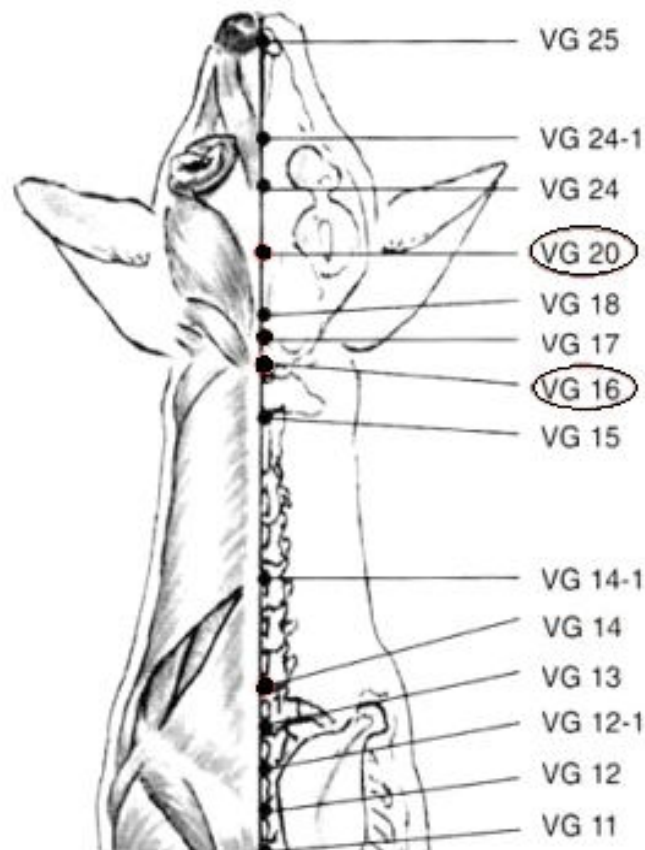


Figura 3: pontos VG 20 - Baihui e VG 16 – Fengfu

Fonte: DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997

**VB 20 – Fengchi** (Poça de Vento): tem como funções dispersar o vento, pacificar o Yang, o Fogo e o Vento do Fígado e acalmar a mente. (ROSS, 1994). Localiza-se na parte rostral dorsal do pescoço, posteriormente ao osso occipital, na depressão existente entre os músculos cleidocervical e esternooccipital. Indicado para convulsões, dor e rigidez cervical, afecções febris, AVC, vertigem e tonteira. (DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997) - Ver figura 4.

**VB 29 - Juliao**: tem funções remover a estagnação de Qi e Sangue, tonificar o Qi do Sangue, dispersar Vento Calor, remover o Vento Exterior. (ROSS, 1994). Localiza-se cranial ao trocânter maior, em um aprofundamento diante da articulação do quadril. Indicado para doenças da articulação do quadril, dores e paralisias na extremidade posterior. (DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997) - Ver figura 4.

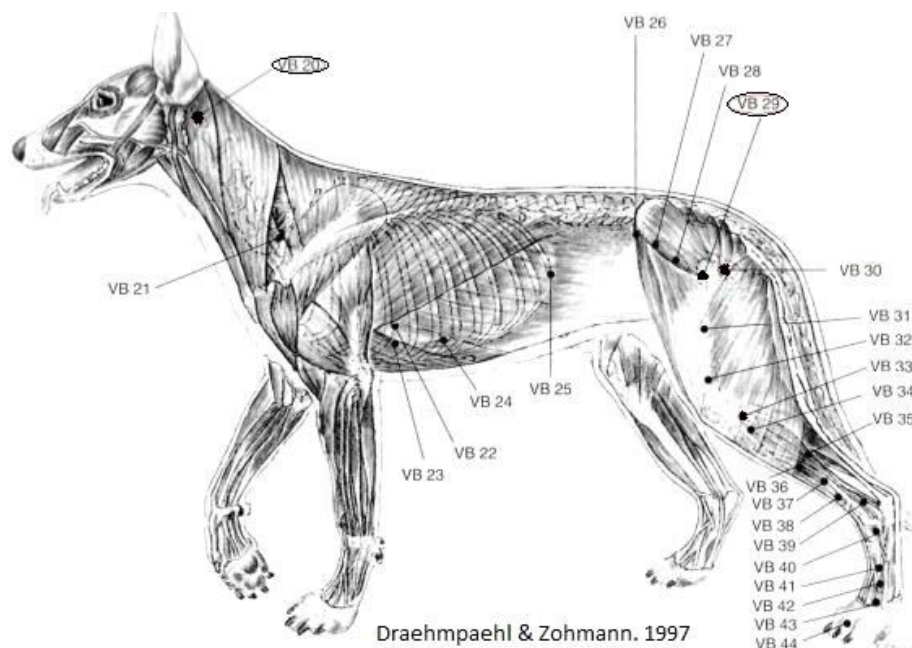


Figura 4: pontos VB 29 - Juliao e VB 20 – Fengchi

Fonte: DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997

**IG 4 - Hegu** (Vale da Junção): tem como funções dispersar o Vento, harmonizar a ascendência do Yang e descendência do Yin, limpar o Coração (Xin), apresenta forte influência sobre a mente e pode ser usado para reduzir a ansiedade. Localiza-se na extremidade medial da articulação metacarpofalângeana II, na cabeça do osso metacarpo II. (DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997). Indicado para expelir o Vento-Calor, possui grande ação calmante e antiespasmódica. (ROSS, 1994) - Ver figura 5.

**IG 11 - Quchi** (Pequeno Lago Tortuoso): tem como funções eliminar o Calor, expelle Vento Externo, esfria o Sangue (Xue). Pode ser usado nos padrões de Calor Interno, sendo muito utilizado no padrão de Fogo do Fígado. (ROSS, 1994). Localiza-se no cotovelo levemente dobrado, no meio, entre o final da dobra do cotovelo e o epicôndilo lateral do úmero. Indicado para dores do ombro, cotovelo e antebraço, paralisia, ponto importante para diminuir febre, imunestimulante. (DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997) - Ver figura 5.



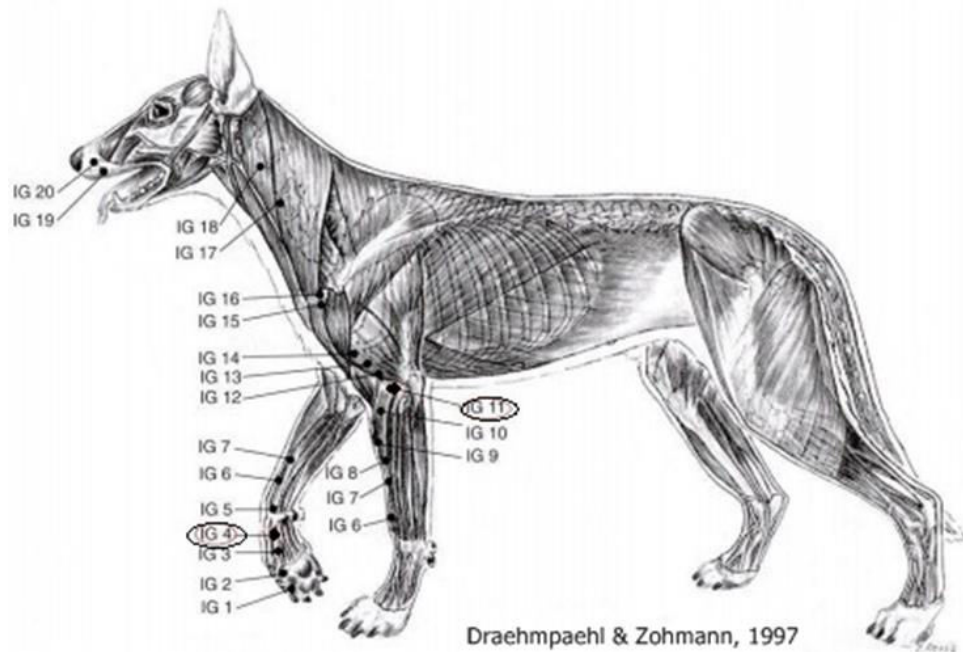


Figura 5: pontos IG 4 – Hegu e IG 11 – Quchi

Fonte: DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997

**R 1-Yongquan** (Fonte Borbulhante): tem como funções dominar o Vento, limpar o cérebro, restaurar a consciência, acalmar a mente, reduzir a ansiedade, diminuir a rebelião do Qi ascendente, principalmente o Yang ou Vento do Fígado. (ROSS, 1994). Localiza-se entre a terceira e quarta articulação metacarpofalangeana, no terço superior plantar dos ossos metatársicos. Indicado para problemas de micção, faringite, choques, paralisia dos membros posteriores. (DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997) - Ver figura 6.

**R 7 – Fuliu** (O Refluxo): tem como funções auxiliar em problemas de micção, edemas na coxa inferior, dores na extremidade posterior, fraqueza em geral, diarreia, fezes sanguinolentas. Localiza-se na extremidade anterior do tendão de Aquiles, diretamente na altura da passagem do tendão muscular. (DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997) - Ver figura 6.

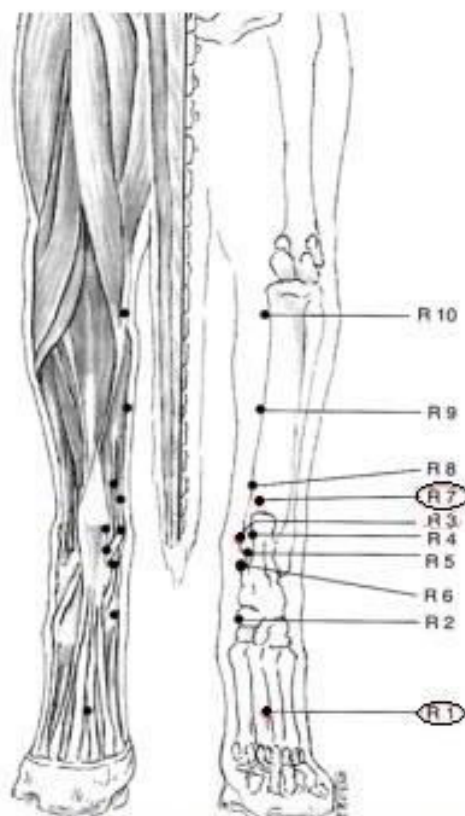


Figura 6: pontos R 1-Yongquan e R 7 – Fuliu  
Fonte: DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997

**B 47-Hunmen** (Porta da Alma Etérea): tem como funções regularizar o Qi do Fígado, tratar alterações emocionais relacionadas ao Fígado, eliminar a estagnação do Qi do Fígado quando em combinação com o B18. (ROSS, 1994). Localiza-se lateral à extremidade inferior do processo espinhoso da décima vértebra torácica, em uma linha na margem caudal escapular à tuberosidade coxal do mesmo lado, no nono espaço intercostal. (DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997) - Ver figura 7.

Draehmpaehl & Zohmann. 1997

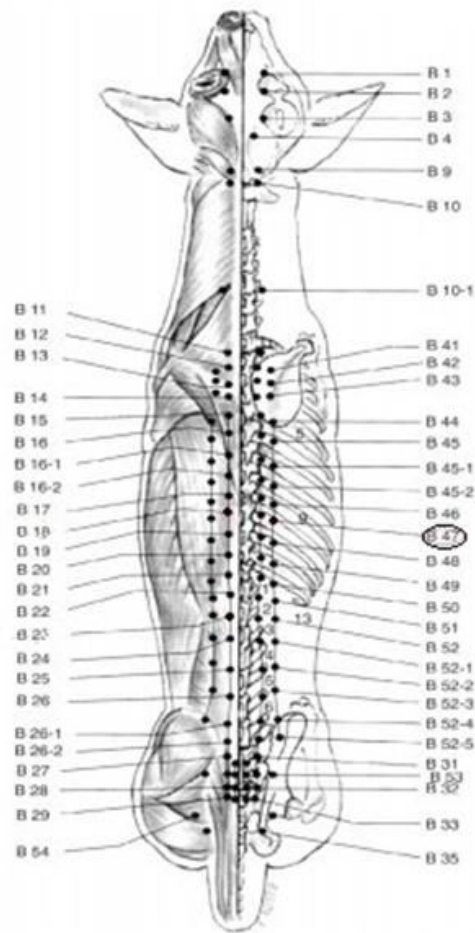


Figura 7: ponto B 47-Hunmen

Fonte: DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997

**F 3 - Taichong** (Precipitação Maior): tem como funções acalmar o Yang, o Fogo e o Vento do Fígado, tem forte efeito calmante sobre a mente, acalma os espasmos e promove fluxo suave de Qi do Fígado. (ROSS, 1994). Localiza-se medialmente na extremidade superior do osso metatársico II. (DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997) - Ver figura 8.

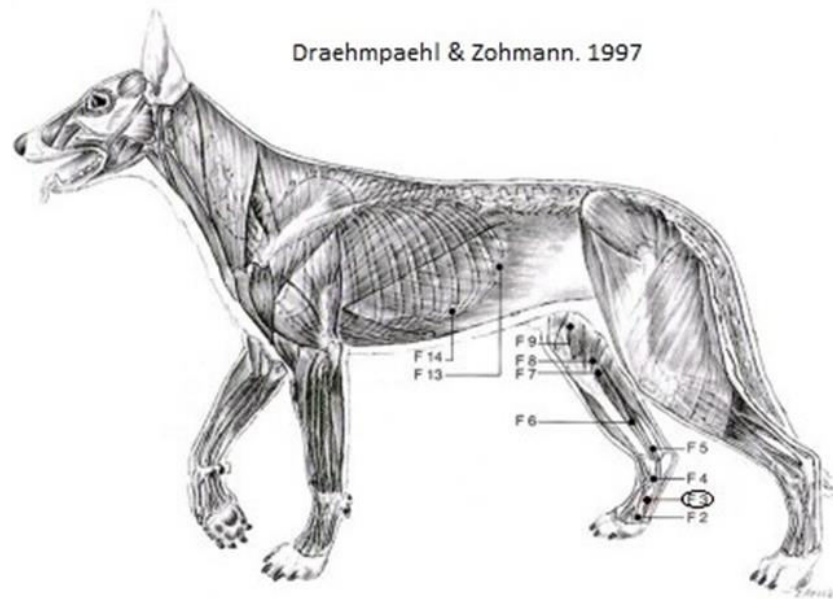


Figura 8: ponto F 3 – Taichong

Fonte: DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997

**BP 6 - Sanyinjiao** (Três Encontros Yin): tem como funções agir sobre os Meridianos do Fígado, do Rim e do Baço/Pâncreas. Normaliza, o Fígado e suaviza o fluxo de Qi do Fígado. Acalma a mente e alivia a irritabilidade. Tonifica o Rim (Shen), e em particular o Yin do Rim. Remove a estase do Sangue (Xue) e tonifica o Baço (Pi), nutrindo o Sangue (Xue). (ROSS, 1994). Localiza-se atrás da extremidade medial da tíbia. (DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997) - Ver Figura 9.

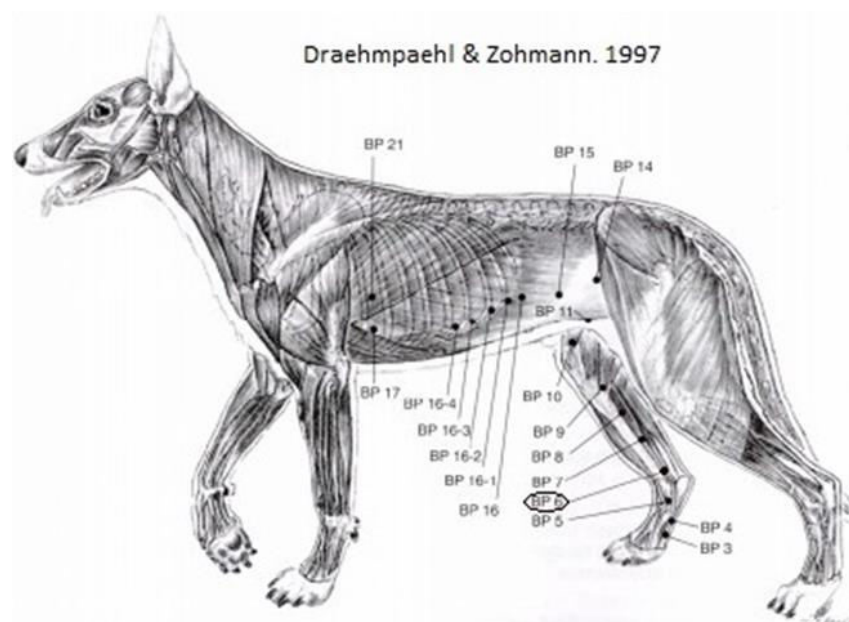


Figura 9: ponto BP 6 – Sanyinjiao

Fonte: DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997

## DISCUSSÕES

As manifestações clínicas da cinomose observadas na paciente relatada são compatíveis com as relatadas por diversos autores. Entretanto, os sinais dermatológicos mais comuns, a hiperqueratose de coxins e narinas, não estiveram presentes no caso relatado (GREENE & VANDEVELDE, 2015). A alteração de pele observada tinha aspecto descamativo e seco, o que, segundo a medicina tradicional chinesa, são sinais de secura, de falta de Xue e ao elemento metal, associado ao pulmão (CAMPIGLIA, 2004).

Os sinais neurológicos apresentados como sequela da infecção viral são relatados frequentemente, tanto por tutores quanto na literatura. Os animais acometidos podem apresentar encefalomielite não supurativa aguda e, como no presente caso, após esta fase, fica estabelecido um processo de desmielinização, gerando danos que são comumente classificados como irreversíveis. A sintomatologia nervosa pode apresentar-se de maneiras diversas, a depender da área acometida. Assim, os sinais de paralisia parcial, mioclonia, tremores e ataxia podem estar associados a este mecanismo (JERICÓ *et al.*, 2015)

O histórico medicamentoso do paciente mostrou a prática comum de associar protocolos visando ao suporte imunológico, controle de infecções secundárias e medicações neuroprotetoras. Dornelles *et al.*, (2015) relataram que, ao avaliar protocolos terapêuticos da região do Alto Uruguai e oeste catarinense, os resultados obtidos foram variados; considerando que não há tratamento com potencial antiviral efetivo comprovado, sendo recomendada a terapia de suporte de acordo com o quadro clínico apresentado. No mesmo trabalho, observou-se que 13,3% das prescrições continham amoxicilina, e 6,66% a associação de amoxicilina e clavulanato de potássio, ao passo que 33,33% clínicas consultadas prescreveram sulfametoxazol + trimetripina.

A recomendação do uso de complexos vitamínicos foi embasada na ação catalisadora ou reguladora do metabolismo (NISHIOKA & ARIAS, 2005).

As vitaminas do complexo B, assim como a C e E, foram indicadas por Ettinger & Feldman (2004) e Nishioka & Arias (2005), por atuar na terapia auxiliar em doenças neurológicas como a cinomose. As vitaminas do complexo B são consideradas regeneradores nervosos, úteis para mielopoiese e orexigenas, justificando seu uso na paciente em questão (ETTINGER & FELDMAN, 2004).

Para o estabelecimento do protocolo de acupuntura a ser utilizado, os sinais clínicos demonstrados foram classificados de acordo com a teoria dos cinco elementos e a teoria Zhang Fu. Tratamentos complementares, como o aplicado no caso em estudo, vêm sendo aplicados para reabilitação e melhora da qualidade de vida de animais que foram acometidos por sequelas de cinomose. Apesar de frequentemente classificadas como incuráveis, as consequências da infecção viral têm sido tratadas com acupuntura e a fisioterapia atualmente, e apresentam resultados positivos (AZEVEDO, 2013).

Diversos protocolos são relatados no tratamento das sequelas de cinomose, como relatado por Nakagawa (2009) usou VB30 a 34; B18 a 23; B40; B60; R3; VG3; VG14; E36; Bafeng; Baxie por 16 semanas. Assim, a escolha dos acupontos não foi padronizada e sim realizada de modo a atender de forma criteriosa e individual a demanda do paciente, seu tipo e grau da sequela.

Quanto ao número total de sessões, observaram-se resultados favoráveis em vários quesitos como retorno à deambulação, controle das mioclonias, melhoras significativas nas atividades associadas à “independência” em 8 sessões. Mello (2015) relatou que o saldo entre os scores da admissão e da alta da reabilitação mostrou uma recuperação média de 68,14% em um período que variou de 06 a 22 sessões, corroborando o período relatado no presente caso.

Obteve-se uma ótima evolução clínica e resolução da mioclonia, reversão da paralisia e atrofia muscular, melhora do quadro dermatológico, permanecendo uma discreta alteração nos membros pélvicos. Logo será estabelecido outro protocolo específico para aquela região associado a fisioterapia.

## **CONCLUSÃO**

O tratamento de cães com cinomose ainda é um desafio para a clínica médica veterinária, por ser uma doença infectocontagiosa e multissistêmica. Tem abrangência cosmopolita e elevado índice de mortalidade. Esse cenário torna complexa a implementação de protocolos efetivos para sua cura e remissão das sequelas neurológicas decorrente do vírus da cinomose. Portanto, a utilização da técnica de terapia convencional com acupuntura demonstrou ser uma ótima alternativa de tratamento para cães com sequelas neurológicas da cinomose, possibilitando a reabilitação neurofuncional e o equilíbrio homeostático do

organismo, conferindo qualidade de vida e bem-estar aos animais, evitando eutanásias indesejáveis.

## REFERÊNCIAS

ALTMAN, S. **Acupuncture therapy in small animal practice. The compendium in continuing education for Practicing Veterinarian (USA)**. Vol.19, n.11, p.1233- 45, 1997.

ALTMAN, S. **Acupuncture as an emergency treatment**. California veterinarian, v.15, n.1, p.6-8, 1979

AZEVEDO, E.P. **Abordagem ao paciente acometido por cinomose canina**. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2013. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/119391/000970075.pdf?sequence=1>

BANNERMAN, R.H. Acupuntura: a opinião da OMS. **Revista Saúde do Mundo (OMS)**, dezembro, p.23-28, 1979.

CAMPIGLIA, H. (2004). **Psique e medicina tradicional chinesa**. São Paulo: Roca.

CHAVES, Fernanda; FERREIRA, Luana; VOMMARO, Natália. Yin-Yang: a busca pelo equilíbrio entre os opostos. **P&B Eclética**, p. 33-37, 2018. Disponível em: <https://pt.scribd.com/document/388921160/9-yin-yang-a-busca-pelo-equilibrio-entre-opostos-pdf>. Acessado em: 28 ago. 2021.

DRAEHMPAEHL, D.; ZOHMANN, A. **Acupuntura no cão e no gato: princípios básicos e prática científica**. São Paulo: Roca, 1997.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária: moléstias do cão e do gato**. São Paulo: Guanabara Koogan, 2004.

FARIA, Artur Bento de; SCOGNAMILLO-SZABÓ, M. V. R. Acupuntura veterinária: conceitos e técnicas-revisão. **Ars Veterinária**, v. 24, n. 2, p. 083-091, 2008.

FOGANHOLLI, Josiane Nobre; RODRIGUES, Rodrigo vieira; PROCÓPIO, Vanessa Armelini; FILADELPHO, André Luís. A utilização da acupuntura no tratamento de patologias da medicina veterinária. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano. 5, n. 9, 2007.

GREENE, C. E.; VANDEVELDE, M. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2015.

GREENE, C. E.; VOEUX, P. L. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

JACQUES, Lilian Moreira. **As Bases Científicas da Medicina Tradicional Chinesa**. 1. ed. São Paulo: Annablume, p. 170, 2005.

JERICÓ, M. M.; KOGIKA, M. M.; ANDRADE NETO, J. P. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. Rio de Janeiro: Roca, 2015.

KISTEMACHER, Bruna Genz. **Tratamento Fisioterápico na Reabilitação de Cães com Afecções em Coluna Vertebral: Revisão de Literatura**. 2017. 50. Trabalho de Conclusão

Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

LESNAU, Fernanda Correa. **Fisioterapia Veterinária**. 2006. 79. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Tuiuti do Paraná. Curitiba, 2006.

MACIOCIA, G. **Os fundamentos da medicina chinesa: um texto abrangente para acupunturistas e fisioterapeutas**. São Paulo: Roca, p.1000, 2007

MATTHIESEN, A.D. **Acupuntura no tratamento da cinomose canina**. 2004. 40 f. Monografia (Especialização em Acupuntura Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2004.

MACIOCIA, G. **Os Fundamentos da medicina chinesa**. São Paulo: Roca, p. 658, 1996  
NELSON, R. W.; COUTO, C. **Medicina Interna De Pequenos Animais**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

MELLO, A. J. **Uso da estimulação de acupontos pela medicina tradicional chinesa (MTC) aliada a fisioterapia na reabilitação de cães portadores de sequelas neurológicas debilitantes da cinomose** [dissertação]. Cuiabá (MT): Universidade de Cuiabá; 2015.

NISHIOKA, C. M.; ARIAS, M. V. B. **Uso de vitaminas no tratamento de doenças neurológicas de cães e gatos**. Clínica Veterinária, São Paulo, v. 10, n. 55, p. 62-72, 2005.

NAKAGAWA, A.H.C. **Cinomose canina e acupuntura: Relato de caso**. 2009. 31p. Monografia. Curso de Pós-graduação em acupuntura veterinária. Instituto Jacqueline Pecker. Belo Horizonte. 2009.

ROSS, J. **Zang Fu: Sistemas de órgãos e vísceras da medicina tradicional chinesa**. São Paulo: Roca, 1994.

RUBIN, M. **Manual de Acupuntura Veterinária**. São Paulo, p. 159, 1983.

SANTOS, Bianca Paiva Costa Rodrigues dos. **Efeito da acupuntura no tratamento de animais com sequelas neurológicas decorrentes de cinomose**. 2013. 107. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Animal) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2013.

SCHWARTZ, Cheryl. **Quatro patas, cinco direções: um guia de medicina chinesa para cães e gatos**. São Paulo: Ícone, 2008. 470 p.

SCOGNAMILLO-SZABÓ, M. V. R.; BECHARA, G. H. **Acupuntura: bases científicas e aplicações**. Ciência Rural, Santa Maria, v. 31, n. 6, p. 1091-1099, 2001.

SHELLY L. Vaden. **Exames laboratoriais e procedimentos diagnósticos em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2013.

SILVA, Denise Theodoro; ALVES, Gislaine Caetano; FILADELPHO, André Luís. Fisioterapia aplicada à Medicina Veterinária–Revisão. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Ano VI, n. 11, 2008.

STUX, Gabriel; POMERANZ, Bruce. **Acupuncture: Textbook and Atlas**. Chicago: Springer, 1987.



WEN, T.S **Acupuntura clássica chinesa**. 8 ed. São Paulo: Pensamento Cultrix, p. 226, 2001.

ZACHARY, J. F., MCGAVIN, D. & MCGAVIN, M. D. **Bases da patologia em veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2012)

## ANÁLISE DE SÓLIDOS NO LEITE DE BÚFALA E DE VACA

**Acadêmicos:** Lucas Wendell Teixeira Jerimias e Erick Vinicius Silva

**Orientador:** Ítalo Stoupa Vieira

### RESUMO

O leite é um alimento rico e de grande importância na nutrição de diferentes espécies. O leite beneficiado de vacas e búfalas proporciona às indústrias ganhos significativos no Brasil e no mundo. Embora o leite de búfala seja rico em gordura e outros sólidos, que são importantes para o beneficiamento do leite nos laticínios, não existem muita informação e dados para exemplificar a riqueza do leite de búfalas. Assim, para trazer mais informações para os produtores e indústrias, foi feita essa pesquisa, em que foram coletadas amostras de leite (ordenha) de 9 vacas girolando e 9 búfalas Murrah, amostras essas que foram levadas em frascos estéreis em caixa térmica com gelo, para o laboratório de Tecnologia de Alimentos da Faculdade Univértix, Matipó – MG. No referido local, foram feitas análises dessas amostras de leite, avaliando os sólidos do leite e densidade. Os resultados desse estudo indicaram que há uma significativa diferença entre os percentuais de gordura, proteína, lactose, sais e densidade entre o leite de búfalas e vacas.

**PALAVRAS- CHAVE:** Leite; búfalas; sólidos; composição; vacas.

### INTRODUÇÃO

O leite possui elevada importância na alimentação humana. É considerado produto de alto valor biológico por apresentar em sua composição alto teor de proteínas, vitaminas, gorduras, sais minerais, além de ser importante fonte de cálcio (TAMANINI *et al.*, 2007).

As estatísticas disponibilizadas pela FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação) sobre a produção mundial de leite referem-se a 2017. Período esse que a produção total brasileira apresentou queda de 0,5% em relação a 2016. No mundo, porém, ela subiu de 801,2 para 827,9 bilhões de litros, avanço de 3,3% de um ano para o outro (EMBRAPA, 2019).

O Brasil, 5º maior produtor mundial em 2016, aumentou a sua produção a um ritmo de 2,7% ao ano no período 2012 – 2015 (CONAB, 2017). Segundo a EMBRAPA (2018), no Brasil, foram captados 24,12 bilhões de litros de leite em 2017; 4,1% a mais que em 2016. Já em 2018, foram captados 24,46 bilhões de litros de leite (EMBRAPA, 2019).

O Brasil, apesar de ser um grande importador de lácteos, abriga um dos maiores rebanhos leiteiros produtivos comerciais do mundo, com 23 milhões de cabeças, ficando atrás somente da Índia. No período de 2000 a 2015, a produção cresceu 72,3%; o rebanho aumentou 28,7% e a produtividade, 33,8%. Todavia, ainda é baixa, 1.525 litros/vaca/ano, um dos menores índices produtivos entre os principais países produtores de leite. Os sistemas típicos variam de 23 vacas até 320 animais em lactação (EMBRAPA, 2017). É um setor importante no agronegócio brasileiro e emprega mais de 2 milhões de pessoas (IBGE, 2017).

O leite está entre os seis produtos mais importantes da agropecuária brasileira. O agronegócio do leite e seus derivados desempenha um papel relevante no suprimento de alimentos e na geração de emprego e renda para a população brasileira (IBGE, 2014).

A bubalinocultura de leite é um mercado de grande ascensão no Brasil e no mundo, tendo como fatores responsáveis por esse crescimento a grande resistência desses animais a diversos climas e parasitas. Vale, também, destacar sua sobrevivência a vários tipos de dietas ou com alimentos de baixo teor nutritivo que são transformados em proteínas nobres. Outras vantagens da criação destes é a possibilidade de criá-los em pequenos espaços e, mesmo assim, obter ganhos (CASTRO, 2005; BERNARDES, 2007).

De acordo com Rodrigues (2007), o rebanho bubalino brasileiro apresentava, em 2004, um total de 1.200.700 cabeças. Após 10 anos, os valores apresentados pelo MAPA (2014) indicam que o Brasil passa a ter 1.470.404 animais, assumindo uma taxa de 22,46% de aumento no rebanho. A região Norte possui 746.388 cabeças, a Nordeste 418.367, a Sudeste 149.444, a Sul 99.132 e a Centro-Oeste com 57.073 cabeças de búfalos.

Outras importantes características que fazem a bubalinocultura de leite ter importância econômica são a longevidade, docilidade, por serem bons reprodutores, por apresentarem precocidade reprodutiva e por terem aptidão para leite, carne e trabalho (NASCIMENTO & MOURA CARVALHO, 1993).

A maioria dos búfalos é criada em pastos nativos, produzindo leite de alto valor nutricional, garantindo produtividade e viabilidade econômica para os criadores (BASTIANETTO; BARBOSA, 2015).

Dessa forma, justifica-se a análise dos sólidos do leite de búfalas da raça Murrah e de vacas girolando, com o objetivo de fazer um comparativo e descrever as diferenças do leite de cada espécie.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **Histórico**

No Brasil, a introdução dos búfalos ocorreu em 1895, na ilha de Marajó, no estado do Pará, com animais da raça Mediterrâneo, vindos da Itália, com ajuda do criador Vicente Chermont de Miranda. A partir de 1962, outros fazendeiros importaram búfalos da Itália e da Índia: os chamados “búfalos pretos” (raças: Mediterrâneo, Jafarabadi e Murrah) e os chamados “búfalos rosilhos” (raça: Carabao) (ZAVA, 1984).

A raça Murrah é originária do sul do Punjab, Índia, é a mais difundida no que diz respeito à produção de leite, sendo sua principal característica, diferenciadora em relação às demais raças, a forma da cabeça e dos chifres que são enrolados na forma de caracol. Na língua Hindu, Murrah significa “caracol ou espiral”. A pelagem é preta e uniforme (SIQUEIRA *et al.*, 2014).

Mesmo que esses animais não necessitem de uma alimentação exigente, um manejo alimentar adequado é importante para manter os animais nutricionalmente saudáveis e produtivos, sendo a base de toda criação animal. Animais bem nutridos, apresentam boa resistência orgânica, dificilmente adoecem, são fecundos e produtivos. Além disso, em boas condições nutricionais, os animais podem expressar o seu potencial genético (VALE 1994).

No Brasil, as búfalas que produzem em média 7 litros de leite por dia são consideradas excelentes, mas vale mencionar que o potencial leiteiro da espécie pode alcançar melhores produções, como o exemplo da búfala “Limeira”, animal de propriedade da Embrapa que, em média, produzia, diariamente, cerca de 13 litros, chegando a 20 litros no pico de sua lactação, atingindo 4.645 kg, no período de 1

ano. Se aumentarem os programas de seleção dos animais e realizarem o manejo adequado da espécie, poderá haver avanços significativos de produção, podendo atingir individualmente 4 a 6 mil litros em 300 dias de lactação (SILVA *et al.*, 2003; RODRIGUES, 2007).

A partir dos anos 90, a expansão de indústrias de derivados de leite de búfalas passou a ser mais relevante e notória, já que os laticínios haviam percebido um maior rendimento industrial na produção de produtos derivados e maior valor agregado, sendo possível pagar melhor pela matéria prima ao produtor. O preço do leite de búfalas pode ser até duas vezes maior que o preço pago pela matéria prima bovina, além de manter a constância no valor pago durante o ano inteiro, motivando as fazendas produtoras a expandir a bubalinocultura de leite e fidelizando esses produtores (MACEDO, 2001; BERNADES, 2007; BRUNA, 2011).

### **Componentes do leite de búfalas e vacas**

Legalmente, entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda (BRASIL, 2017).

De acordo com a *Food of Agriculture Organization*, o leite de búfala possui uma grande diferença visual do leite bovino, essa diferença está na coloração, sendo que o leite de búfala possui coloração branca, assim como seus derivados (queijo e manteiga) (FAO, 1991). Amaral *et al.* (2005) apontaram no leite de búfalo peculiaridades comparadas ao leite bovino, sendo elas o sabor adocicado e a coloração branca opaca. Também é referida por Marcedo *et al.* (2001), a ausência de betacaroteno no leite bubalino.

A qualidade e quantidade de sólidos do leite de búfala fazem com que os seus produtos lácteos tenham maior qualidade e valor de mercado, como é o caso da muçarela, que pode atingir até quatro vezes o valor do produto feito com leite bovino, pois o leite bubalino é mais concentrado, apresentando maior teor de gordura, proteínas e minerais, superando, assim, o rendimento industrial do leite bovino em mais de 40% (DAMÉ, 2000).

Pesquisas realizadas por Hühn *et al.* (1982), na Amazônia, mostraram que o leite de búfala é superior em qualidade, tratando-se da química desse leite, em relação ao leite bovino. Em se tratando especificamente do leite de búfala, o fluido apresenta características peculiares, em que os teores de sólidos superam consideravelmente os do leite da fêmea bovina, por exemplo. Para indústria de lácteos, seu aproveitamento é superior, chegando comparativamente a sobrepujar o rendimento do leite bovino em mais de 40% (ANDRADE *et al.*, 2011).

O leite de búfala apresenta rendimento industrial na elaboração de laticínios 40% superior ao do leite de vaca bovina. O leite possui ainda 33% menos colesterol, 48% a mais de proteína, 59% de cálcio e 47% de fósforo. Por conter teor de gordura maior, são necessários apenas 14 litros de leite de búfala para produzir 1 kg de manteiga. Por outro lado, usando-se o leite de vaca bovina são utilizados mais de 20 litros. Assim, com apenas 5,0 litros de leite de búfala pode-se obter 1 kg de queijo muçarela de alta qualidade (NASCIMENTO & MOURA CARVALHO, 1993; DE FRANCISCIS & DI PABLO, 1994; MARQUES, 1998).

A gordura do leite de búfala é o sólido de maior valor econômico e confere o sabor característico e textura diferenciada do leite e derivados. Também apresenta níveis de ácidos graxos e, em proporções satisfatórias, de saturados e polinsaturados, essenciais ao organismo humano (MAGALHÃES, 2005).

O teor de gordura do leite tende a aumentar no transcorrer do período de lactação. O rendimento de sólidos totais é importante, pois proporciona alto rendimento de derivados (TONHATI *et al.*, 2008).

Em relação à porção proteica do leite de búfala, cerca de 77–79% são constituídas por caseína e de 21-23 % de soroproteínas. A caseína está presente, principalmente, na forma de micelas, maiores do que as encontradas no leite de demais animais, fazendo com que a coalhada elaborada com leite de búfalas retenha menos água do que a do leite de vacas, durante a ação do coalho (SIMÕES, 2014).

O leite de búfala varia em composição e produtividade de acordo com os parâmetros: tempo de lactação, idade, raça, manejo, sanidade, condições climáticas e tipo de alimentação (HUHN *et al.*, 1982, HUHN *et al.*, 1986; MACEDO *et al.*, 2001).

A FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação) apontou que a produção mundial de leite, em 2016, foi de 798 milhões de toneladas. Desse volume, 83% foram de leite de vaca, 14% de búfala, 2% de cabra, 1% de ovelha e de camela menos de 1% do total. Nesses cálculos foram considerados 199 países com leite de vaca, enquanto em 25 deles a produção veio também de búfalas (EMBRAPA 2018).

O IFCN (Aliança Internacional de Checagem de Fatos), uma rede de pesquisadores que estudam a produção de leite no mundo, considerou que o volume proveniente de vaca e de búfala somam 97% do total e que as outras espécies, como cabra, ovelha e camela, produziram 3% (EMBRAPA 2018).

A atividade leiteira no Brasil segue a mesma tendência mundial, que é de crescimento da produção e da produtividade, com redução do número de fazendas produtoras e aumento do número de animais em produção por sistema (EMBRAPA 2018).

Altos teores de sólidos, elevados índices de gordura e de proteína, composição diferenciada em termos de cálcio, fósforo e outros elementos, menos colesterol e maior rendimento industrial. Atributos não faltam para o leite de búfala ser atraente à indústria de laticínios e também aos consumidores. Até por isso, os produtos são diferenciados e valorizados, como é o caso da muçarela de búfala (EMBRAPA 2018).

Fomentar o aumento da produção e diferenciar o leite de búfala puro está entre as prioridades da Associação Brasileira de Criadores de Búfalos (ABCB), entidade criada em 1960 e credenciada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o registro genealógico da espécie (EMBRAPA 2018).

Segundo dados da ABCB, em 2016, o valor da produção de produtos lácteos de búfala no varejo atingiu R\$ 666 milhões. A receita atual está perto de R\$ 1 bilhão, estima Mariana de Almeida Prado, coordenadora executiva do Programa de Certificação da ABCB (EMBRAPA 2018).

O conhecimento da composição do leite é essencial para a determinação de sua qualidade, pois sua composição é que vai determinar a que esse leite será destinado e sua qualificação. Os parâmetros de qualidade são cada vez mais

utilizados para detecção de falhas nas práticas de manejo, servindo de referência na valorização da matéria-prima (DÜRR, 2004).

A gordura e as proteínas são os que estão mais diretamente relacionados ao rendimento industrial do leite, sendo utilizados como os critérios para a determinação do valor do leite em muitos países (DÜRR, 2004).

A composição do leite, em termos de gordura e proteína, depende basicamente do potencial genético das vacas para a produção destes sólidos e do tipo e quantidade de alimento que o animal ingere. Portanto, pode ser alterada pelo manejo nutricional ou por meio da exploração da variação genética existente entre os animais (DÜRR, 2004).

### **Principais tipos de manejos de vacas leiteiras e búfalas**

O manejo nutricional de búfalas ainda não é muito bem esclarecido, as exigências nutricionais da espécie — principalmente das que são criadas a pasto — e os estudos existentes se referem à produção na Itália onde os animais geralmente são mantidos confinados e consomem alimentos de alto teor nutricional. Outros estudos realizados na Ásia afirmam que, normalmente, a alimentação é composta de subprodutos agrícolas, diferentemente do Brasil. As búfalas conseguem ingerir quantidade menor de MS — tanto em percentual de peso vivo, quanto em relação ao peso metabólico — já que transformam alimentos fibrosos, de baixo teor proteico, de forma mais eficiente que as vacas. Isso ocorre mesmo diante de um leite com elevado teor de sólidos, o qual deveria exigir-lhes alta demanda de energia na dieta.

No estudo realizado por Zicarelli (2001), as búfalas produziram um leite menos proteico, se comparado ao bovino, recomendando que elas necessitem de dietas com menor teor proteico para uma quantidade similar ao leite bovino, o qual, padronizado, possui 4% de gordura. Porém, com uma dieta de PB similar, as búfalas produziram um leite mais energético que o bovino, com mais de 14%, porém com conteúdo similar.

A necessidade de nutrientes para a categoria lactante é variável, pois depende da quantidade de leite produzido e de seu conteúdo de nutrientes, variando também de acordo com a raça, características individuais, qualidade e o tipo de dieta fornecida (KIRCHNER, 2006).



Mesmo com sua facilidade de adaptação a climas tropicais e de umidade elevada, a espécie necessita de condições favoráveis para expressar seu potencial, dispondo, portanto, de condições básicas como sombra e água, a fim de amenizar os efeitos causados por altas temperaturas. Essa mesma observação se aplica às baixas temperaturas, visto que a energia gasta para produção de leite seria convertida à termoregulação (BERNANRDES, 2004).

O local em que a búfala fica também determina, não somente condições de conforto para a produção animal, mas também as condições de higiene para o momento de ordenha, o que pode interferir diretamente na obtenção higiênica do leite. Na condução das búfalas à ordenha, deve-se ter cuidado, pois são mais vagarosas, e conduzi-las de maneira a não causar estresse, assegurando o bem estar animal (BERNANRDES, 2004; COUTO, 2006).

Há distinções anatômicas das glândulas mamárias de bubalinos e bovinos, o que pode interferir no manejo durante a ordenha. Os tetos das búfalas são mais longos e possuem também um canal mais longo que o de vacas, caprinos e ovinos. (BERNARDES, 2007; THOMAS, 2008).

No desejo de manter a demanda de derivados relativamente constante o ano inteiro ou diminuir o custo de produção leiteira fazendo com que os partos ocorram em períodos de maior disponibilidade de forragens, é necessário alterar o comportamento normal dos partos, adiantando ou programando com protocolos os nascimentos. Para que isso seja possível, existem, atualmente, vários programas que favorecem a desestacionalização reprodutiva da espécie, como: monta controlada de novilhas (sendo esta categoria menos estacional); adoção de certo limite de estação de monta nas pluríparas, devendo ser cobertas entre outubro e janeiro no sudeste (período em que entram em anestro funcional); melhoria na oferta nutricional que resulta em períodos maiores de lactação; indução de cio e/ ou inseminação artificial em épocas desfavoráveis (BERNARDES, 2013).

### **Principais derivados lácteos de leite de vacas e búfalas**

Os principais derivados lácteos do leite, tanto de búfala como de vaca, são queijos, de diversos tipos que vão ser mais ou menos fabricados, a depender da região ou cultura do lugar. Um exemplo é o queijo do tipo frescal, em Minas Gerais,

amplamente consumido e marca a região. Também se destaca a produção de ricota, requeijão, doce de leite cremoso, iogurte, bebidas lácteas e etc.

Outros derivados lácteos também podem ser produzidos tendo como matéria-prima o leite de búfala, como manteiga e alguns queijos finos. Esse leite possibilita a formação de texturas mais firmes e cremosas, sem a necessidade da utilização de espessantes como o leite em pó, devido ao seu alto teor de gorduras, proteínas e à elevada retenção de água dessas últimas. É o caso da fabricação, por exemplo, de iogurtes e creme de leite (BENEVIDES, 1998; CUNHA NETO, 2003).

Os produtos cuja matéria-prima é leite de búfala têm apresentado ótima qualidade sensorial e nutricional, devido ao seu maior teor de cálcio e vitamina A, principalmente queijos. Assim, o consumidor tem procurado os produtos de leite de búfala devido à sua maciez e paladar suave. Além disso, os proprietários de laticínios oferecem um preço diferenciado ao leite da búfala, em função do excelente rendimento no seu processamento. Logo, tanto o mercado interno quanto o externo encontram-se em expansão, e o Brasil apresenta condições propícias para a criação de búfalas leiteiras.

### **Fatores que interferem na produção de sólidos no leite de vacas e búfalas**

São escassos os padrões de controle de qualidade de leite bubalino, havendo necessidade de aumento no número de pesquisas regionais para promover o conhecimento das reais características deste produto (RODRIGUES, 2007).

Apesar de pouca incidência, a mastite na espécie é um fator de interferência na qualidade do leite, principalmente por redução dos teores de cálcio, lactose, gordura e caseína. Com isso, há aumento das proteínas do soro, cloretos, sódio e ácidos graxos livres. Isso leva a um ligeiro aumento do pH, enquanto há um aumento também nos teores de albumina e imunoglobulinas, e as proteínas totais permanecem relativamente estáveis. (BRITO e DIAS, 1998; ROCHA, 2008)

A lactose é o principal carboidrato encontrado no leite, sendo essencial para a produção de derivados lácteos fermentados. O teor encontrado no leite pode sofrer variações de acordo com a raça, fatores individuais, infecções no úbere e pelo estágio de lactação em que o animal se encontra (GRADELLA, 2008).

Apesar de seu sabor adocicado, o leite não possui maiores teores de lactose ao se comparar ao bovino, com valores entre 4,83 e 5,48% (RICCI E DOMINGUES, 2012).

A presença de mastite subclínica (CCS alta) reduz a síntese de lactose e, conseqüentemente, haverá produção de leite com menor teor de lactose do que o leite normal (GRADELLA, 2008).

## **METODOLOGIA**

O presente experimento foi conduzido em uma fazenda, com criação de vacas e búfalas, localizada no interior de Minas Gerais, Região Sudeste do país. A pesquisa é de caráter exploratório, a fim de analisar sólidos e densidade do leite de búfalas em comparativo com o de vacas.

Foi feita coleta do leite em frascos esterilizados, de 9 búfalas da raça Murrah, com média de produção de leite de 7 litros/búfala/dia e 9 vacas girolando com média de 10 litros/vaca/dia, animais com o mesmo manejo, vivendo em piquete no regime de semiconfinamento (pasto e ração). Foram escolhidas búfalas da raça Murrah devido ao melhor desempenho na produção leiteira na comparação a outras raças de búfalas. Após a coleta, as amostras de leite foram armazenadas em caixa térmica com gelo para transporte até o laboratório de Tecnologia de Alimentos da Univértix, em Matipó (MG).

Após a coleta do leite, foram analisadas e avaliadas, no laboratório de Tecnologia de Alimentos da Univértix, em Matipó (MG), gordura, proteína, lactose, sais e densidade do leite de cada espécie fazendo, assim, um comparativo entre ambas.

A análise foi automática, utilizando o Analisador de Leite Master Complete da AKSO (ultrassom) FIGURA 1.



**Figura 1:** Analisador de leite AKSO.

As médias dos valores de densidade, gordura, proteína, lactose e sais do leite de vacas e do leite de búfalas foram comparados pelo teste t de *Student*, ao nível de significância de 5%.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Em 1994, foi feita uma pesquisa em que se realizaram análises químicas bromatológicas nos leites, de acordo com a metodologia descrita pela *Association Of Official Analytical Chemists* (1990) para gordura, proteína bruta, cinzas e umidade, medida do extrato seco total. Foi utilizada a metodologia descrita por Furtado (1975), análise quanto ao teor de minerais, Ca, P, K, Mg, Fe, Mn, Zn em extratos obtidos mediante a digestão nitroperclórica e leitura em espectrofotômetro de absorção atômica, conforme método descrito por Sarruge & Haag (1979). A gordura dos leites foi submetida a análises do índice de iodo e saponificação, utilizando metodologia descrita por Moretto & Alves (1986). Assim, concluiu-se que o leite de búfala apresentou níveis maiores de gordura, sólidos totais, calorias, vitamina A e cálcio em relação ao leite de vaca (SALGADO; VERRUMA 1994).

Em junho de 2012, foi feito um experimento nos Laboratórios de Processamento de Leite e Derivados e Centro de Análises Cromatográficas da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), campus de Itapetinga – BA. No estudo, foi coletado leite bubalino em uma fazenda localizada no município de Maiquinique – BA, sob sistema de ordenha manual de fêmeas bubalinas mestiças Jafarabadi x Murrah e o leite bovino no tanque de resfriamento do Setor de Bovinocultura de Leite da UESB, por meio de ordenha mecânica de vacas mestiça Holandês x Zebu. As análises foram realizadas no Laboratório de Processamento de Leite e Derivados, em triplicata, análises de pH, acidez titulável (°D), densidade (g/mL), percentuais de gordura pelo método Gerber, nitrogênio total (NT) pelo método Kjeldahl com fator de conversão de 6,38 para o cálculo da proteína, lactose, sólidos totais (ST), extrato seco desengordurado (ESD) e teor de umidade (BRASIL, 2006). Os lipídios foram extraídos, em duplicata, de acordo com metodologia descrita por Folch *et al.* (1957). Os resultados obtidos revelaram que o leite de búfala apresentou composição e características distintas do leite de vaca, com destaque para os teores de gordura e proteína.

Assim como nas duas pesquisas anteriores, em que os percentuais de gordura obtidos nas amostras de leite das búfalas eram significativamente maiores que os das amostras de leite de vacas, também se observou, nesta pesquisa, diferença significativa nos percentuais de gordura de ambas.

Os percentuais de gordura, proteína, lactose, sais e densidade obtidos nas amostras individuais de leite coletado das vacas e búfalas desta pesquisa encontram-se na Tabela 1 e Tabela 2.

**Tabela 1:** Análise do teor de sólidos e densidade (g/mL) no leite de vacas em fazenda no interior de Minas Gerais em agosto de 2021.

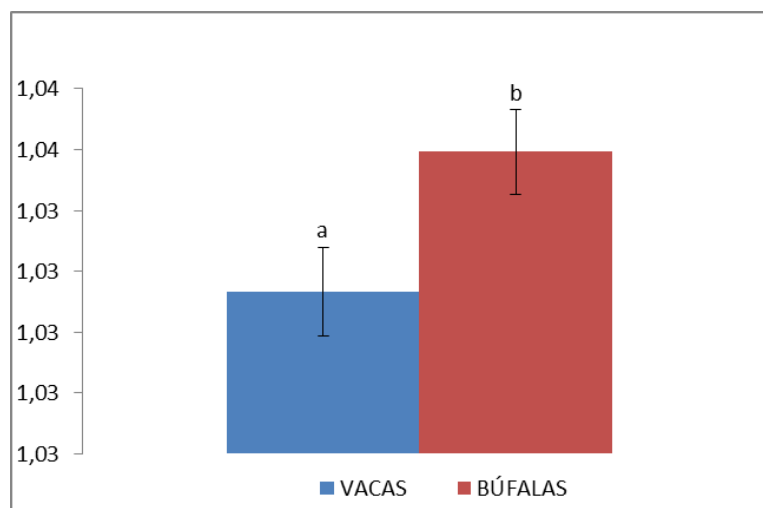
VACAS	DENSIDADE	GORDURA (%)	PROTEÍNA (%)	LACTOSE (%)	SAIS (%)
VACA 1	1,026	3,200	2,700	4,100	0,600
VACA 2	1,034	5,700	3,600	5,400	0,800
VACA 3	1,030	3,800	3,100	4,700	0,600
VACA 4	1,032	3,700	3,300	4,900	0,700
VACA 5	1,030	4,300	3,100	4,700	0,600
VACA 6	1,032	4,400	3,300	5,000	0,700
VACA 7	1,033	2,300	3,200	4,800	0,700
VACA 8	1,033	3,200	3,300	5,000	0,700
VACA 9	1,032	3,900	3,200	4,900	0,700

Fonte: Elaborado pelos autores

**Tabela 2:** Análise do teor de sólidos e densidade (g/mL) no leite de búfalas em fazenda no interior de Minas Gerais em agosto de 2021.

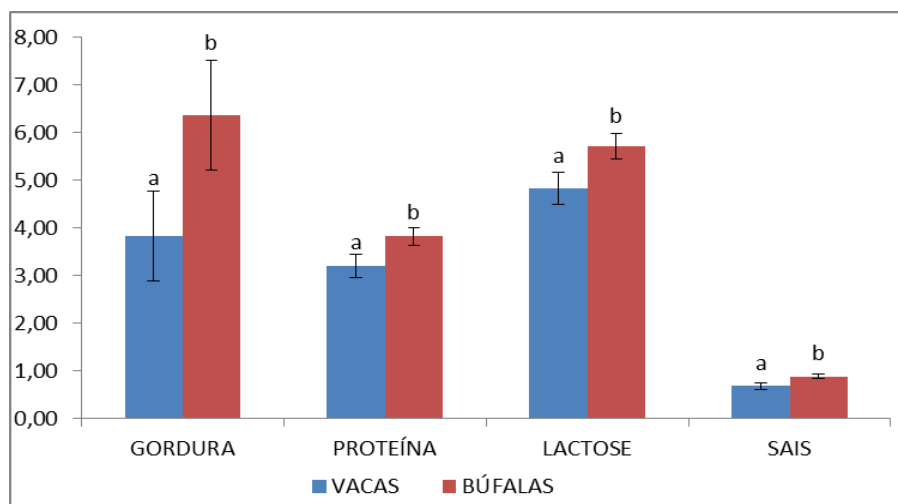
BÚFALAS	DENSIDADE	GORDURA (%)	PROTEÍNA (%)	LACTOSE (%)	SAIS (%)
BÚFALA 1	1,034	6,270	3,650	5,450	0,850
BÚFALA 2	1,037	6,320	3,920	5,850	0,900
BÚFALA 3	1,037	6,680	3,930	5,860	0,910
BÚFALA 4	1,035	5,990	3,760	5,620	0,870
BÚFALA 5	1,038	8,800	4,200	6,260	1,000
BÚFALA 6	1,034	4,990	3,570	5,340	0,810
BÚFALA 7	1,035	5,540	3,730	5,580	0,850
BÚFALA 8	1,036	5,390	3,760	5,630	0,860
BÚFALA 9	1,036	7,330	3,910	5,840	0,920

Fonte: Elaborado pelos autores



**Figura 2:** Densidade média (g/mL) e desvio padrão do leite de vacas e búfalas coletadas em fazenda no interior de Minas Gerais em agosto de 2021.

Fonte: Elaborado pelos autores.



**Figura 3:** Média e desvio padrão dos teores de gordura, proteína e sais do leite de vacas e búfalas, coletadas em fazenda no interior de Minas Gerais em agosto de 2021.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Com o teste t de *Student*, ao nível de significância de 5%, podemos afirmar que a densidade, gordura, proteína, lactose e sais do leite de búfalas são significativamente maiores, sendo  $p < 0,05$ , sendo demonstrado na Figura 2 e 3.

Segundo Rocha (2008), foram encontrados, no Brasil, valores médios de gordura entre 5,5 a 10,4%, valores semelhantes aos encontrados em outros países por Bovera *et al.* (2001) entre 6,6 e 8.4%.

Assim como descrito na literatura e também em outras pesquisas citadas neste trabalho, foi possível observar, aqui, a diferença percentual significativa onde o leite de búfala tem valores superiores de gordura, proteínas, lactose, sais e densidade.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Assim como em pesquisas anteriores, os percentuais de gordura obtidos nas amostras de leite das búfalas eram significativamente maiores que os das amostras de leite de vacas. Nesta pesquisa, também foi observada a diferença significativamente maior nos percentuais de gordura, proteínas, lactose, sais e densidade do leite das búfalas.

## REFERÊNCIAS

AMARAL, F. R. **Fatores que interferem na contagem de células somáticas e constituintes do leite de búfalas.** SILVA, N. 2005. 46p. Dissertação de Mestrado. Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

ANDRADE, K. D.; RANGEL, A. N.; ARAÚJO, V. M; LIMA JÚNIOR, D. M; OLIVEIRA, N. A. (2011). **Efeito da estação do ano na qualidade do leite.** Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil) v.6, n.3, p. 33 – 37 ago. de 2021

BASTIANETTO, E.; BARBOSA, J. D. **Diferenças fisiológicas entre bubalinos e bovinos: interferência na produção.** Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/download/7664/5437>>. Acesso em: 01/04/2021.

Cunha Neto O.C. **Avaliação do iogurte natural produzido com leite de búfala contendo diferentes níveis de gordura.** OLIVEIRA, C. A.F. 2003. 71f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2003.

BERNARDES, O. Bubalinocultura no Brasil: situação e importância econômica. **Revista brasileira de reprodução animal**, Belo Horizonte, v.31,n3,p.293-298, 2007.

BERNARDES, O. **Manejo de búfalas leiteiras 2007.** Disponível em: <[http://www.ingai.agr.br/artigos/manejo\\_buf\\_leite.pdf](http://www.ingai.agr.br/artigos/manejo_buf_leite.pdf)>. Acesso em 27/10/2021.

BERNARDES, O. SIMPÓSIO NACIONAL DE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 4., 2013, Alambari. **PRODUÇÃO DE BÚFALAS LEITEIRAS.** Viçosa - Mg: Simleite, 2013. 38 p. Disponível em: <http://www.simleite.com/home/anais/IV/17.pdf>. Acesso em: 10/10/2021.

BRASIL. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)**, Decreto n. 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei n. 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. Diário Oficial da União, Brasília, 30 mar. 2017, Seção 1, p. 3-27.

BRITO, J.R.F.; DIAS, J.C. **A qualidade do leite.** Juiz de Fora: EMBRAPA/São Paulo: Tortuga, P.88, 1998.

BRUNA, C. V. O selo de Pureza da associação Brasileira de Criadores de Búfalos. In: II Simpósio da Cadeia Produtiva da Bubalinocultura, 2011. Botucatu. **Anais...** Botucatu, 2011. CD-room.

BOVERA, F.; CUTRIGNELLI, M. I.; CALABRÒ, S.; MARCHIELLO, M.; PICCOLO, V. **Influence of diet characteristics and productions levels on blood and milk urea**



**concentrations in buffalo.** In: World Buffalo Congress, 6, Venezuela, 2001. Proceedings. Maracaibo: Zulia University Tech Park, 2001, p.506-511.

CASTRO, A.C. **Avaliação de sistema silvipastoril através do desempenho produtivo de búfalos manejados nas condições climáticas de Belém, Pará.** JÚNIOR, L. B. J. 2005. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Pará.

CARVALHO, M. P. **Manipulando a composição do leite: gordura.** I Curso on-line sobre qualidade do leite. Milkpoint. 2000. 15p.

CONAB. **CONJUNTURA MENSAL ESPECIAL – Leite e derivados.** Disponível em [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17\\_05\\_15\\_14\\_13\\_38\\_leite\\_abril\\_2017.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_05_15_14_13_38_leite_abril_2017.pdf). Acessado em: 27/09/2021.

COSTA, P., et al. **ESTUDO COMPARATIVO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ÁCIDOS GRAXOS E COLESTEROL DE LEITES DE BÚFALA E VACA.** Revista Caatinga, vol. 27, núm. 4, out.- dez., 2014, pp. 226-233

COUTO, A. de G. **Influência do sistema de manejo sobre a produção de leite, comportamento e características de ordenha de búfala murrh.** BEELEN, P. M. G. 2012. 59 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Zootecnia, Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo - Al, 2012.

DAMÉ, M.C.F. **Seleção, manejo e produtividade dos bubalinos da EMBRAPA: Clima Temperado: Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2000.**

DE FRANCISCIS, G.; DI PABLO, R. **Buffalo Milk Production.** In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4., 1994. São Paulo, SP. Proceedings. São Paulo: 1994. v. I. p. 137- 146.

DURR, J.W. **Programa nacional de melhoria da qualidade do leite: uma oportunidade única.** In: DURR, J.W., CARVALHO, M.P., SANTOS, M.V. **O Compromisso com a Qualidade do Leite.** Passo Fundo: Editora UPF, 2004, v.1, p. 38-55.

EMBRAPA. **Sistema Compost Barn: caracterização dos parâmetros de qualidade do leite e mastite, reprodutivos, bem estar animal, do composto e econômicos em condições tropicais.** 2017. EMBRAPA GADO DE LEITE. Disponível em <https://www.embrapa.br/gado-de-leite/busca-deprojetos/-/projeto/209863/sistema-compost-barn-caracterizacao-dosparametros-de-qualidade-do-leite-e-mastite-reprodutivos-bem-estar-animal-docomposto-e-economicos-em-condicoes-tropicais>. Acessado em: 10/10/2021.

EMBRAPA. **Anuário leite 2018. Indicadores, tendências e oportunidades para quem vive no setor leiteiro.** 2018. Edição digital em [embrapa.br/gado-de-leite](http://embrapa.br/gado-de-leite). Texto Assessoria. 114 páginas.

EMBRAPA. **Anuário leite 2019. Sua excelência, o consumidor.** 2019 Edição digital em [embrapa.br/gado-de-leite](http://embrapa.br/gado-de-leite). 104 p.

**FAO 2000 – Water buffalo:** Regional office for Asia and the Pacific. Bangkok, Thailand. Acesso em: 03 maio 2021.

GHECKI, T. A. et al. **Técnicas analíticas para controle de qualidade de leites e derivados/Belém: EDUEPA, 2018. 165 p.** Disponível em: <<https://paginas.uepa.br/eduepa/wp-content/uploads/2019/06/TECNICAS-DE-ANALISE-02-03-2018.pdf>>. Acesso em: 05/05/2021.

GRADELLA, A. N. **Aspectos nutricionais e de qualidade do leite.** HOFSTATTER, E. A. 2008. 36 f. Monografia (Especialização) - Curso de Especialização em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal, Universidade Castelo Branco, São Carlos - SP, 2008.

HÜHN, S. *et al.* **Estudo comparativo da composição química de leite de zebuínos e bubalinos.** Belém: EMBRAPA – CPATU, (Documento, 36), 15p. 1982.

HÜHN, S. *et al.* LOURENÇO JUNIOR, J.B., MOURA CARVALHO, L.O.D., NASCIMENTO, C.N.B., VIEIRA, L.C. **Aproveitamento do leite de búfala em produtos derivados.** In: **SIMPÓSIO DO TRÓPICO ÚMIDO**, 1, 1984, Belém. Anais. Belém: EMBRAPA - PATU, 1986. v.5. p.265-269

IBGE. **IBGE: produção de leite cresceu 2,7% em 2014; Sul tornou-se a maior região produtora.** 2014. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/cadeiado-leite/giro-lacteo/ibge-producao-de-leite-cresceu-27-em-2014-sul-tornouse-amaior-regiao-produtora-97326n.aspx>>. Acessado em: 31/10/2021.

IBGE. **Bovinocultura Leite e Corte.** 2017. Disponível em: <[http://www.agricultura.mg.gov.br/images/Arq\\_Relatorios/Pecuaria/2017/Mar/bovinocultura\\_leite\\_corte\\_mar\\_2017.pdf](http://www.agricultura.mg.gov.br/images/Arq_Relatorios/Pecuaria/2017/Mar/bovinocultura_leite_corte_mar_2017.pdf)>. Acessado em: 20/11/2021.

KIRCHNER, Bruna Lobo. **Relatório de estágio curricular.** 2006. 73 f. TCC (Graduação) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, 2006.

NASCIMENTO, C.N.B.; MOURA CARVALHO, L.O.D. **Criação de búfalos: alimentação, manejo, melhoramento e instalações.** EMBRAPA-CPATU. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1993. 403p

MACEDO, M.P., WECHSLER, F.S., RAMOS, A.A., AMARAL, J.B, SOUZA, J.C., RESENDE, F.D., OLIVEIRA, J.V. Composição físico-química e produção do leite de búfalas da raça Mediterrâneo no Oeste do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia.** Viçosa. v.30, n.3. supl. 1, maio, 2001.

MAGALHÃES, R.L. **Leite e Qualidade de vida.** Artigos acadêmicos e científicos. Viçosa. Disponível em: 29 jan. 2005.

MARQUES, J.R.F. **Criação de búfalos.** Brasília: Embrapa-SPI; Belém: Embrapa-CPATU, 1998. 141 p. (Coleção Criar, 5).

NASCIMENTO, C.M.C, L.O. **Criação de búfalos: alimentação, manejo, melhoramento e instalações.**

RICCI, G. D.; DOMINGUES, P. F. **O Leite de Búfala: The Buffalo milk,** São Paulo, v. 10, n. 1, p.14-19, ago. 2012.

ROCHA, L. A. C. **Qualidade do leite de búfala e desenvolvimento de bebida láctea com diferentes níveis de iogurte e soro de queijo.** FERRÃO, S. P. B 2008. 82 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2008

RODRIGUES, A. E. **Estimação de Parâmetros Genéticos para características Produtivas em Búfalos (*Bubalus bubalis*) na Amazônia Oriental.** MARQUES, J. R. F. 2007. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Ciência Animal, Área de Concentração: Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2007.

SALGADO, J.M., VERRUMA, M.R. **Análise química do leite de búfala em comparação ao leite de vaca.** *Tecnologia Agroindustrial*, Sci. Agric.; Piracicaba, 51(1): 131-137, jan./abr.; 1994. Disponível em: < <http://www.revistas.usp.br/sa/article/viewFile/20174/22291>>. Acesso em 08/10/2021.

SIQUEIRA, J. B. et al. **Dinâmica folicular ovariana na espécie bubalina.** *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 33, p. 139-148, 2014.

SIMÕES, M. G. (2014). **Efeitos de variações sazonais e da proporção leite de vaca: leite de búfala sobre características físico-químicas e microbiológicas de queijos artesanais do Marajó.** FERREIRA, C. L. L. F. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SILVA, M. S. T.; LOURENÇO JR, J. B.; MIRANDA, H. Á.; ERCHESEN, R.; FONSECA, R. F. S. R, MELO, J. Á.; COSTA, J. M. **Programa de incentivo a criação de búfalos por pequenos produtores – PRONAF.** Pará, agosto de 2003. Disponível em: [www.cpatu.br/bufalo](http://www.cpatu.br/bufalo). Acesso em 10/10/2021.

THOMAS, C. S.; SVENNERSTEN-SJAUNJA, K.; BHOSREKAR, M. R.; BRUCKMAIER, R. M. **Mammary cisternal size, cisternal milk and milk ejection in Murrah buffaloes.** *Journal of Dairy Research*, Cambridge, v. 71, n. 2, p. 162- 168, 2004.

TAMANINI, R. et al. **Avaliação da qualidade microbiológica e dos parâmetros enzimáticos da pasteurização de leite tipo “C” produzido na região norte do Paraná.** Ciências Agrárias, Londrina, v. 28, n. 3, p. 449-454, 2007.

ZAVA, M.A.R.A. **Produção de búfalos.** Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1984.

ZENEBON, O. et al. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos - 4ª Edição** 1ª Edição Digital. Disponível em: <[http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016\\_3\\_19/analisedealimentosia\\_l\\_2008.pdf](http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosia_l_2008.pdf)>. Acesso em: 05/05/2021.

ZICARELLI, L. **Alimentação da búfala leiteira.** II Simpósio Paulista de Bubalinocultura – Pirassununga –SP – Brasil, 2001.

# **AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE EMBRIÕES RECUPERADOS DE VACAS HOLANDESAS SUPEROVULADAS COM FSH CRIADAS EM SISTEMA EXTENSIVO**

**Acadêmicos:** Felipe Meneses Dos Santos e Igor Santos Lacerda

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

## **RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade dos embriões recuperados de vacas holandesas oriundos de protocolo de superovulação com FSH, a fim de determinar a taxa de embriões viáveis a ser utilizado em programa de transferência de embriões. O experimento foi conduzido em uma fazenda situada em Ponte Nova - MG. Foram utilizadas duas vacas holandesas como doadoras, as quais foram submetidas ao protocolo de superovulação com doses diárias decrescentes de FSH e as receptoras foram submetidas ao protocolo de transferência de embrião em tempo fixo. Observou-se 60,0% de embriões viáveis, 35% de degenerados e 5% constituía-se de ovócitos não fertilizados. Os embriões viáveis foram classificados de acordo com o estágio de desenvolvimento sendo quatro no estágio de blastocisto inicial e duas mórulas compactas. De acordo com a qualidade morfológica apresentaram-se com qualidade excelente e boa (grau I e II). As receptoras sincronizadas apresentaram corpo lúteo e foram inovuladas. Após 28 dias realizou-se o diagnóstico de gestação por meio da palpação transretal aliada a ultrassonografia modo B e foi observado 66,6% de taxa de prenhez. Conclui-se que o protocolo de superovulação utilizado foi eficiente, dando origem a uma percentagem satisfatória de embriões viáveis e de taxa de prenhez nas receptoras.

**PALAVRAS-CHAVE:** doadoras, embriões, FSH, superovulação, vacas

**LINHA DE PESQUISA:** Produção e reprodução animal - Biotécnicas da Reprodução Animal.

## **INTRODUÇÃO**

Atualmente, o Brasil vem mostrando ser uma das maiores potências quando o assunto é bovinocultura possuindo o maior rebanho do mundo, com 215 milhões de bovinos. Ocupa a segunda posição em produção de carne estando somente atrás do Estados Unidos, e em relação a produção de leite ocupa a terceira posição mundial, perdendo somente para os Estados Unidos e Índia (VIEIRA, 2013; ROCHA, CARVALHO E RESENDE, 2020).

Dessa forma, o gado de corte em 2018 rendeu R\$ 597,22 bilhões, o que representou 8,7% do PIB total brasileiro, em decorrência da grande produção brasileira de carne bovina que foi de 10,96 milhões de toneladas (MALAFAIA, *et al.*, 2020). No leite, o valor bruto da produção atingiu quase R\$ 35 bilhões em 2019.

Brasil ocupa uma das primeiras posições no ranking mundial de produção e de rebanho de vacas ordenhadas e mesmo assim, sua produtividade deixa a desejar, o que o posiciona no 84° do mundo em produtividade, sendo sua produção cinco vezes inferior aos dois primeiros colocados (ROCHA, CARVALHO E RESENDE, 2020).

Apesar de possuir o maior rebanho mundial, o Brasil ainda se mostra um país em ascensão na área por demonstrar grande potencial de crescimento, e isso está diretamente relacionado aos avanços tecnológicos que vem sendo cada vez mais incorporados nos sistemas de produção, visando melhorias significativas na reprodução e produção de rebanhos bovinos (VIEIRA, 2013).

Muitas são as novas biotecnologias já inseridas no dia a dia dos produtores rurais, dentre elas podemos citar: inseminação artificial (IA), inseminação artificial a tempo fixo (IATF), superovulação e produção in vitro de embriões (SOV), aspiração e produção in vitro de embriões (PIVE), transferência de embriões (TE), e a transferência de embriões em tempo fixo (TETF), sendo a TE uma das mais utilizadas (VIEIRA, 2013).

A utilização de novas formas para coleta, fertilização, cultivo e transferência de embrião acrescenta grandes vantagens, já que o uso dessas biotecnologias visa aumentar a capacidade reprodutiva dos animais, melhorando a qualidade genética dos rebanhos e aumentando o número de concepções. Essa iniciativa objetiva reduzir o tempo de um parto a outro, por meio da utilização de protocolos que visam, tanto a indução quanto o controle dos ciclos ovulatórios dos animais (MARTINI, 2015).

Os protocolos de superovulação se baseiam no fornecimento exógeno de gonadotrofinas o que possibilita a indução do crescimento de mais de um folículo dominante, e conseqüentemente, a ovulação de dois ou mais folículos ovulatórios. Contudo, há variabilidade na resposta aos protocolos de superovulação em vacas. Dentre as principais causas encontram-se o estresse térmico, a categoria animal, a idade da doadora e número de inseminações realizadas (LEE *et al.*, 2012).

Dessa forma, este estudo teve como objetivo avaliar a qualidade dos embriões recuperados do útero de vacas holandesas oriundos do protocolo de superovulação, a fim de determinar a taxa de embriões viáveis a ser utilizada em programas de transferência de embriões.

## FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### Ciclo estral

A vida reprodutiva de fêmeas bovinas é marcada por alterações, comportamentais, anatômicas e fisiológicas que irão acontecer em determinados períodos caracterizando o ciclo estral. A reprodução desses animais é totalmente dependente da sincronia entre a ovulação e a cobertura da fêmea, para que ocorra a gestação (DA SILVA, 2020).

Os bovinos possuem um ciclo a cada 21 dias, podendo ter uma média de 17-24 dias, o que o define como um animal poliéstrico (COLAZO & MAPLETOFT, 2014). O dia zero do ciclo estral é denominado cio ou estro, tem a duração de cerca de 12 horas e é a fase em que a fêmea expressa comportamento de receptividade sexual. Nessa espécie a ovulação ocorre após o cio, em média de 12-16 horas, na fase de metaestro do ciclo estral (VALLE, 1991).

O ciclo estral dos bovinos possui quatro estágios: proestro, estro, metaestro e diestro, sendo eles divididos entre fase luteal e fase folicular. A fase folicular envolve o proestro e estro e apresenta maior influência do estrógeno. Já na fase luteal, a progesterona está em altas concentrações e compreende os estágios metaestro e diestro (SOARES & JUNQUEIRA, 2019). As duas fases são definidas por hormônios ovarianos. A primeira caracterizada pelo desenvolvimento folicular e consequente liberação do ovócito e a segunda após a ruptura do folículo que ovulou com o desenvolvimento do corpo lúteo, que produz progesterona, hormônio que realiza prepara o útero para uma possível gestação (VALLE, 1991).

Se houver fecundação, o concepto, entre os dias 14 e 17, libera interferon para que não haja a luteólise, e a progesterona continuará a ser secretada para manter a gestação. Caso não haja fecundação ou a produção de interferon pelo embrião, a PGF2 $\alpha$  será liberada pelo endométrio, levando a luteólise, consequentemente a queda dos níveis plasmáticos de progesterona proporcionará condições favoráveis para um novo crescimento folicular e ovulação (FERREIRA, 2010).

No estro, a primeira etapa do ciclo, o animal demonstrará comportamentos sexuais específicos, como a receptividade sexual e aceitação da monta de touros ou outras vacas. Esse estágio dura em média de 12 a 18 horas sendo variável, e

acarretara altos níveis de estrógeno, hormônio predominante nessa fase do ciclo. Já o metaestro acontece cerca de 12 horas após o estro e pode durar de 2-3 dias, sendo o período em que acontece a ovulação, e conseqüentemente formação do corpo lúteo. O terceiro estágio é o diestro, o mais longo do ciclo estral, e tem como característica as altas concentrações de progesterona que é secretada pelo corpo lúteo. O proestro possui duração de 2-3 dias, e é caracterizado por baixas concentrações de progesterona, já que o corpo lúteo sofreu luteólise e aumento sérico de estradiol secretado pelo folículo dominante (SOARES & JUNQUEIRA, 2019).

Os bovinos possuem um ciclo composto por 2 ou 3 ondas foliculares, que podem variar de um animal para outro sendo possíveis ciclos com até 4 ondas. Esses ciclos são controlados por hormônios que através de sistemas de feedback positivo e negativo regulam cada processo envolvido nas fases de crescimento folicular. No hipotálamo ocorre a produção do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) na adenohipófise das gonadotrofinas: hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH). Nos ovários ocorre a secreção da progesterona (P4), estradiol (E2) e inibinas. O útero secreta a prostaglandina 2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) (COLAZO & MAPLETOFT, 2014).

A dinâmica das ondas é caracterizada por uma sequência de processos que envolvem o crescimento e a regressão de folículos, que resultam ou não em folículos ovulatórios, alguns deles serão recrutados e selecionados, mas apenas um se torna dominante e será ovulado. As ondas de crescimento folicular são classificadas em quatro fases: emergência ou recrutamento, seleção, dominância e por final atresia ou ovulação do folículo dominante (FURTADO, TOZZETTI, AVANZA, DIAS, 2011).

O recrutamento de folículos não antrais com média 3 mm de diâmetro e o aumento das concentrações de FSH no sangue, ocasionam o início de uma nova onda, e por influência desse processo o início do aqui crescimento dos folículos recrutados (SOARES & JUNQUEIRA, 2019). Com o aqui pico da concentração de FSH, o folículo chegará a medir por volta de 4 a 5 mm de diâmetro e dará início à fase de seleção. A produção e secreção de estradiol e inibina pelos folículos resulta em um decréscimo nos níveis séricos de FSH, selecionando um único folículo que consegue se desenvolver mesmo em baixos níveis desse hormônio. Quando atinge



cerca de 8 mm de diâmetro, os receptores de LH surgem permitindo que o folículo se torne dominante, pelo fato de passar a possuir maior ação das gonadotrofinas que estimulam o crescimento e a diferenciação dos folículos (MARTINI, 2015).

O folículo que atingir a dominância irá sintetizar inibina e estrógeno, o que reduz os níveis de FSH resulta na divergência e acarretará a atresia dos folículos subordinados permanecendo assim, apenas o dominante por que irá maturar, ovular e luteinizar pela influência do pico de LH, ou entrar em atresia por que resultara no início de uma nova onda, caso haja baixas concentrações de LH devido aos altos níveis de progesterona (FURTADO, TOZZETTI, AVANZA, DIAS, 2011).

### **Hormônios envolvidos na reprodução**

Os hormônios reprodutivos são classificados como esteroides, peptídeos ou proteínas e aminas. Os hormônios esteroides são decorrentes do colesterol, os proteicos ou peptídeos são sintetizados a partir de aminoácidos e as aminas são derivados da tirosina. A maior parte deles é de origem peptídica ou proteica como o GnRH, FSH, LH, hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), ocitocina, melatonina, prolactina e leptina. Os hormônios aminados são as catecolaminas (epinefrina, norepinefrina e dopamina) e os hormônios tireoidianos (MADELLA-OLIVEIRA, QUIRINO, PACHECO, 2014).

Os hormônios hipotalâmicos são produzidos pelos neurônios no hipotálamo e são liberadores de gonadotrofina. Os hormônios da hipófise dos lobos anteriores e posteriores são liberados no interior dos vasos sanguíneos. Os hormônios primários da reprodução liberados do lobo anterior da hipófise são: FSH, LH e a prolactina. A ocitocina é produzida pelo hipotálamo e armazenada e liberada pelo lobo posterior da hipófise. Nas fêmeas, o ovário produz estrógenos, progesterona, inibina, testosterona, ocitocina luteal e relaxina. Hormônios também são produzidos no útero e na placenta. Os hormônios da placenta incluem a progesterona, estrógenos, gonadotrofina coriônica equina (eCG) e gonadotrofina coriônica humana (hCG) (MADELLA-OLIVEIRA, QUIRINO, PACHECO, 2014).

O GnRH é um decapeptídeo produzido e armazenado no hipotálamo basal médio e tem como função a interação entre os sistemas endócrino e nervoso. Por decorrência do estímulo nervoso libera-se ondas de GnRH que promovem a

liberação de LH e FSH na adenohipófise (D'AVILA, MORAES, JUNIOR, GAZPERIN, 2019).

O FSH apresenta característica glicoproteica que atua diretamente no crescimento folicular. Com a diminuição dos níveis séricos de FSH, o crescimento folicular fica restringido, ocasionando atresia na maioria dos folículos já recrutados. O folículo pré-ovulatório é mais dependente do LH, visto que as células da granulosa expressam receptores próximo ao momento de seleção (WEBB *et al.*, 2003).

O LH é uma glicoproteína responsável pela maturação final do ovócito e ruptura da parede celular do folículo dominante resultando na ovulação. Além disso, o LH é responsável pela luteinização das células da teca e da granulosa dando origem ao corpo lúteo, o qual irá produzir progesterona (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

O estradiol é um estrógeno produzido pelo ovário com função de controle no processo de liberação do FSH e LH. Produzidos pelas células da granulosa dos folículos ovarianos e carregados por proteínas por meio da circulação sanguínea, são responsáveis pelas características femininas secundárias (GONZÁLEZ, 2002).

O estradiol, forma biologicamente ativa, quando em altas concentrações, é responsável pelo comportamento do estro nas fêmeas. Além disso, é capaz de realizar uma retroalimentação positiva no centro pré-ovulatório do hipotálamo que, por conseguinte, libera grandes concentrações de GnRH, o qual atuará na adenohipófise liberando grandes concentrações de gonadotrofinas, FSH e LH. Suas ações também têm efeito sobre o desenvolvimento das glândulas e ductos mamários e atuam no útero, otimizando os efeitos da ocitocina e de PGF2 $\alpha$  (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

A progesterona é um hormônio esteroide ovariano que é, principalmente, produzida no corpo lúteo. Após a ruptura e ovulação, as células da teca e granulosa que constituem a parede do folículo sofrem hipertrofia, hiperplasia e luteinização ocorrendo assim o preenchimento da cavidade antes ocupada pelo líquido folicular e ovócito, formando o corpo lúteo, capaz de secretar progesterona. Esse hormônio age no útero promovendo quiescência e auxiliando na implantação do embrião e manutenção da gestação (MARTINEZ *et al.*, 2004).

Caso não haja prenhez, o corpo lúteo sofre luteólise pela PGF2 $\alpha$  e a concentração de progesterona cai abruptamente, possibilitando outro cio. Em casos

de gestação, o corpo lúteo permanece secretando progesterona para que, sob o efeito desse hormônio, seja possível a manutenção da prenhez (DA SILVA, 2020a).

A prostaglandina é um hormônio reprodutivo com função de causar a regressão do corpo lúteo. Dessa forma, é amplamente utilizada na sincronização do ciclo estral devido a sua ação luteolítica. Trata-se de um hormônio secretado pelas epiteliais do endométrio. Nos protocolos, é largamente utilizado para reduzir a fase luteal ou mesmo para reduzir o intervalo entre ciclos. Assim, não deve ser utilizado em animais gestantes, pois induz o abortamento devido à queda da P4 (FERREIRA, 2010).

### **Superovulação**

Durante o ciclo estral há o desenvolvimento de um grupo de folículos antrais em que apenas um se torna dominante e possuirá a capacidade ovulatória. Com o passar do tempo com avanços na área reprodutiva e de conhecimento sobre manipulações hormonais do ciclo estral desenvolveu-se uma técnica capaz de fazer com que essa fêmea apresente vários folículos dominantes, por meio da suplementação de gonadotrofinas exógenas, que causa o crescimento de vários folículos. Essa técnica foi nomeada como superovulação (SOV) (VIERA, 2013).

O FSH é o mais utilizado na SOV e tem como função principal o desenvolvimento dos folículos. A utilização de FSH exógeno para induzir a superovulação é em decorrência de sua função fisiológica no processo de desenvolvimento dos folículos, já que há presença de folículos em vários estágios de desenvolvimento nos ovários em qualquer etapa reprodutiva. O FSH faz a estimulação e o crescimento dos folículos pequenos, revertendo a atresia de folículos acima de 1,7 mm. O LH faz a estimulação e produção de andrógenos na teca interna e esses andrógenos tecais tem a função de atuar como precursores na produção de estrógenos pelas células da granulosa que foram estimuladas pelo FSH (PRADO, 2005).

Outro hormônio importante na superovulação é a gonadotrofina coriônica equina (eCG) que tem a capacidade de causar uma resposta ovulatória com apenas uma dose, entre os dias 8 e 12 do ciclo estral. Com meia vida de, aproximadamente, 45 horas a eCG é produzida nos cálices endometriais de éguas prenhes entre o 40º e 130º dia da gestação, ela é capaz de se ligar aos receptores de LH e FSH,

promovendo um crescimento do folículo e uma maturação folicular seguida de uma ovulação (BARUSELLI *et al.*, 2003).

A utilização dos hormônios FSH ou eCG são amplamente usados em programas de SOV. As aplicações são intramusculares e fazem o estímulo do crescimento de folículos adicionais e ovulação espontaneamente sem a dependência de LH ou hCG exógeno (WALTERO, 2009).

Vale ressaltar que o conhecimento das diferenças fisiológicas entre raças, impulsiona para um aumento da criação bovina na implantação de qualquer biotecnologia. Embora sejam do mesmo gênero, as fêmeas zebuínas (*bos taurus indicus*) e bovinas taurinas (*bos taurus taurus*), demonstram alguns aspectos que são diferentes na dinâmica folicular. Raças zebuínas, normalmente, apresentam três ondas foliculares por ciclo estral. Já as vacas taurinas, duas ondas. Ademais, os diâmetros foliculares de *bos taurus indicus* são inferiores aos de *bos taurus taurus*, como também o diâmetro do corpo lúteo (VIEIRA, 2013).

### **Aspiração folicular guiada por ultrassom e produção *in vitro* de embriões**

No Brasil a produção comercial de embriões bovinos *in vitro* iniciou-se em 1998 e o aprimoramento desse processo se deu a partir de estudos que possibilitaram a recuperação de ovócitos do ovário de vacas abatidas (BUENO & BELTRAN, 2008).

A aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU) tem sido fulcral na exploração maximizada do potencial reprodutivo dos rebanhos bovinos, pois viabiliza tanto a utilização de animais muito jovens de alto valor genético como também animais mais velhos, que por alguma circunstância não conseguem dar continuidade a uma gestação convencional. Essa biotecnologia possibilita o nascimento de vários bezerros de uma só doadora/aspiração e permite selecionar matrizes de alto potencial, levando à produção de novilhas de reposição apenas de animais geneticamente superiores, o que contribui para a otimização do melhoramento genético tanto em qualidade quanto também em quantidade de fêmeas. Além disso, essa técnica não influencia na fisiologia do animal podendo ser realizada mensalmente ou a cada 15 dias, não sendo necessário realizar estimulação hormonal (DE SOUZA & ABADE, 2018).

Existem várias técnicas para a coleta de ovócitos, que serão utilizados para a produção *in vitro* de embriões, algumas delas são: Post mortem, onde se realiza a punção de folículo de ovários obtidos em abatedouros, também podem ser coletados por laparotomia ou laparoscopia via flanco ou vaginal, e pelo método de aspiração folicular guiado por ultrassom, que já vem sendo utilizada a algum tempo como a melhor técnica para obtenção de ovócitos realizada *in vivo* (MELLO *et al.*, 2016).

A OPU é realizada com a utilização de um transdutor micro convexo acoplado a uma guia de aspiração e um tubo ligado a um sistema onde há a agulha que transpassa o fórnix vaginal. Com um sistema de bomba a vácuo, aspira tanto ovócitos quanto líquido folicular encaminhados para um tubo coletor contendo anticoagulante. Após a coleta serão selecionados os ovócitos viáveis e enviados ao laboratório para realização do processo de produção *in vitro* de embriões (PIVE) (DE SOUZA & ABADE, 2018).

A produção *in vitro* de embriões pode ser dividida em etapas. A maturação *in vitro* (MIV) é a primeira etapa que acontece após a seleção dos ovócitos coletados da fêmea e tem como objetivo a preparação deles para serem fecundados *in vitro*. Consiste na passagem do estado de diplóteno da prófase (meiose I), para a metáfase (meiose II) (MELLO *et al.*, 2016).

Vários são os métodos utilizados para a técnica de MIV. O meio é suplementado com soro fetal bovino e gonadotrofinas associado a uma atmosfera gasosa e temperatura ideal que são promovidos pelo uso de uma estufa, por tempo determinado, com controle de CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> e osmolaridade. A extrusão do primeiro corpúsculo polar indica que os ovócitos estão maturados e aptos à fecundação (BUENO & BELTRAN, 2008).

A FIV é a etapa em que o ovócito entra em contato com o espermatozoide. Na fêmea *in vivo*, a fecundação acontece na ampola da tuba uterina e o caminho percorrido pelo espermatozoide permite que essa célula sofra a capacitação espermática, responsável pelas alterações bioquímicas e estruturais em sua membrana tornando-o apto para a fecundação. Na FIV, são usados agentes químicos que auxiliam o espermatozoide na sua capacitação espermática e ainda mantêm o metabolismo dos ovócitos. O meio que contém esses agentes, como por exemplo, a heparina, albumina, piruvato, tyrode, epinefrina e hipotaurina recebe o

nome de Fert-TALP. O processo de FIV tem duração de 18 a 22 horas em temperatura de 39°C (MELLO *et al*, 2016).

Após o processo de FIV, os embriões entram no período de cultivo *in vitro* (CIV), em que acontecem as primeiras clivagens e a ativação do genoma embrionário, sendo a etapa mais delicada. Essa etapa tem duração de sete dias, quando se espera que os embriões atinjam o estágio de blastocisto para que então possam ser transferidos para uma receptora apta a continuar seu crescimento até o parto (BARUSSELI, 2003).

Os embriões viáveis são classificados de acordo com sua morfologia que é dividida em diferentes categorias que são: mórula, blastocisto inicial, blastocisto, blastocisto expandido, blastocisto em eclosão e blastocisto eclodido. Para sua qualidade são avaliados: viabilidade, cor, formato, integridade da zona pelúcida e aspecto morfológico. Todos esses critérios são definidos pela Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (DE SOUZA & ABADE, 2018).

## **METODOLOGIA**

O experimento foi conduzido em uma fazenda situada em Ponte Nova - MG. Foram utilizadas duas vacas holandesas como doadoras e oito vacas mestiças como receptoras. Todas foram mantidas em pastagem de *Brachiaria brizantha* e água “*ad libidum*”.

As vacas doadoras foram submetidas ao seguinte protocolo de superovulação: No primeiro dia do protocolo, D (0) pela manhã foi colocado o implante intravaginal de progesterona (PRIMER®, Tecnopec) e administrado 2 mL de benzoato de estradiol (BE, Ric-be®, Tecnopec). No D (4) foi administrado 4 mL de FSH (Folltropin- V®, Vetoquinol) na parte da manhã e da tarde. No D (5) repetiu-se o procedimento mas com 3 mL. No sexto dia, D (6) na parte da manhã além de 2 mL de FSH aplicou-se também 2 mL de PGF2  $\alpha$  (Sincrocio®, Ourofino) e a tarde apenas o FSH na mesma dosagem. No D(7) pela manhã: 1mL de FSH e 2 mL de PGF2 $\alpha$  e a tarde mais 1 mL de FSH além de ter retirado o implante de progesterona. No D (8) administrou-se 5 mL de GnRH (Sincroforte®, Ourofino). A tarde no D (8) realizou-se a primeira inseminação artificial (IA). No dia nove, a segunda IA e no décimo quinto dia a coleta dos embriões.

Os embriões recuperados foram colocados em placas de cultura de células contendo solução de manutenção e avaliadas em estereoscópio. Apenas os embriões viáveis foram classificados de acordo com o estágio de desenvolvimento (mórula, blastocisto, blastocisto inicial e blastocisto expandido) e sua qualidade (Grau I: massa celular esférica, simétrica, homogênea e com pelo menos 85% da massa intacta; Grau II: massa celular com moderadas irregularidades de conformação e cor e com pelo menos 50% da massa intacta e Grau III: massa celular com consideráveis irregularidades de conformação e cor e com pelo menos 25% da massa intacta) o que está de acordo com o Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (ROBERTSON, NELSON, 1998).

As receptoras de embriões foram submetidas ao seguinte protocolo de transferência de embriões em tempo fixo (TETF): No primeiro dia D (0) todas receberam um dispositivo intravaginal de progesterona (PRIMER®, Tecnopec) e 2 mg de benzoato de estradiol (Ric-be®, Tecnopec). Após oitos dias, D (8) os dispositivos intravaginais foram retirados e todas as vacas receberam 2 mL PGF2 $\alpha$  (Prolise®, Tecnopec); 1 mL de benzoato de estradiol (Ric-be®, Tecnopec) e 1 mL de eCG (Folligon®, MSD). A inovulação dos embriões recuperados ocorreu no D (16) em seis vacas que apresentaram um corpo lúteo. A estatística foi descritiva.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O protocolo de superovulação foi eficiente, uma vez que as doadoras responderam à aplicação hormonal com a presença de vários corpos lúteos no momento da coleta dos embriões.

Observou-se 60,0% de embriões viáveis, 35% de degenerados e 5% constituía-se de ovócitos não fertilizados. Os embriões viáveis foram classificados de acordo com o estágio de desenvolvimento sendo quatro no estágio de blastocisto inicial e duas mórulas compactas. De acordo com a qualidade morfológica, apresentaram-se com qualidade excelente e boa (grau I e II).

As receptoras sincronizadas apresentaram corpo lúteo e foram inovuladas. Após 28 dias realizou-se o diagnóstico de gestação por meio da palpação transretal aliada à ultrassonografia modo B e foi observado 66,6% de taxa de prenhez.

Silva (2002) enfatizou que a porcentagem de embriões excelentes e bons podem atestar a eficiência do protocolo de superovulação, e expõe fatores como,

idade, topografia, clima, manejo e alimentação, assim como o hormônio aliado à dosagens utilizadas exercem influência nos resultados

Conforme estudo com 57 vacas Gir leiteiro PO realizado na Fazenda São José, localizada no município de Bauru, na região centro-oeste do estado de São Paulo, Prado (2006) mencionou que utilizando diferentes concentrações de FSH, 300 UI, 400 UI e 500 UI a de 400 UI apresentou os melhores resultados da superovulação, mesma concentração utilizada neste estudo.

Vieira (2013) observou que 88,7% doadoras submetidas ao protocolo de superovulação responderam com dois ou mais corpos lúteos e de todas as estruturas recuperadas, 64,4% tratavam-se de estruturas fertilizadas, semelhante ao presente estudo.

Assim faz-se necessária aplicações diárias em dias consecutivos para induzir a superovulação em fêmeas bovinas, já que o FSH possui meia vida curta. Ele é responsável pelo crescimento folicular. A divergência folicular é o momento em que o folículo se torna dominante expressando receptores para o LH enquanto os outros chamados de subordinados não expressam. Ademais, o folículo dominante secreta altas concentrações de estrógeno e inibina diminuindo a concentração sérica de FSH interrompendo o crescimento dos folículos subordinados, os quais são FSH dependentes. No protocolo de superovulação o suporte exógeno de FSH promove o crescimento de vários folículos dominantes e, conseqüentemente, múltiplas ovulações (GINTHER *et al.*, 2001)

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O protocolo de superovulação utilizado foi eficiente, dando origem a uma porcentagem satisfatória de embriões viáveis e de taxa de prenhez.

## REFERÊNCIAS

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

BUENO, A. P.; BELTRAN, M. P. Produção in vitro de embriões bovinos. **revista científica eletrônica de Medicina Veterinária**. Garça-SP, Periódico semestral v. 6, n. 11, p. 1-7, 2008.

COLAZO, M. G.; MAPLETOFT, R. Fisiología del ciclo estral bovino. **Revista**



**Ciências Veterinárias**, ISSN 1515-1883. Argentina. Vol. 16, N° 2, p.31 a 46. 2014.

D'AVILA, C.A.; DE MORAIS, F. P.; LUCIA JUNIOR, T.; GASPERIN, B. G. Hormônios utilizados na indução da ovulação em bovinos—Artigo de revisão. **Rev. Bras. Reprod. Anim**, v. 43, n. 4, p. 797-802, 2019.

DA ROCHA, D. T.; CARVALHO, G. R.; DE RESENDE, J. C. Cadeia produtiva do leite no Brasil: produção primária. **Embrapa Gado de Leite-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2020. ISSN 1678-037X

DA SILVA, E. I. C. **REPRODUÇÃO ANIMAL: O ciclo estral de bovinos leiteiros – desenvolvimento folicular, corpo lúteo e etapas do estro**. 2020. 15 f. Universidade Federal Rural de Pernambuco Departamento de Zootecnia–UFRPE. Belo Jardim, Pernambuco. 2020.

DA SILVA, J. C. C. **Fatores que influenciam a produção de embriões de vacas Nelore (Bos taurus indicus) superovuladas**. Orientador: Prof. Dr. Rafael Herrera Alvarez. 2002. 56 f. Dissertação (Mestrado Concentração em Reprodução Animal.) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Campus de Jaboticabal – UNESP, Jaboticabal – São Paulo, 2002.

DE SOUZA, N. S.; ABADE, C. C. **Produção in vitro de embriões bovinos: etapas de produção e histórico no Brasil**. Ciência Veterinária UniFil, Londrina – Paraná. v. 1, n. 3, p. 95-108, 2018.

DO VALLE, E.R. **O ciclo estral de bovinos e métodos de controle**. EMBRAPA-CNPGC, 1991. ISSN 0100-9443.

FERREIRA, A. M. **Reprodução da fêmea bovina, fisiologia aplicada e problemas mais comuns**. 1. ed. Juiz de fora, p. 420, 2010.

FURTADO, D. A.; TOZZETTI, D. S.; AVANZA, M. F. B.; DIAS, L. G. G. G. Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, Garça - São Paulo, Janeiro de 2011. v. 16 n., p. 1-25, 011. – ISSN: 1679-7353.

GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R.; BEG, M. A.; KOT, K. Follicle selection in cattle: role of luteinizing hormone. **Biology of Reproduction**, v. 64, p. 197-205, 2001.

GONZÁLEZ, F. H. D. Introdução à endocrinologia reprodutiva veterinária. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre- Rio Grande do Sul, 2002. 87 p.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Ciclos reprodutivos: **Reprodução Animal**. 7 ed. São Paulo. Manole, p. 55- 67. 2004.

LEE, Wonyou et al. Influence of Factors During Superovulation on Embryo Production in Korean Holstein Cattle. **The Journal of veterinary medical science**, v. 74, n. 2, p. 167-174, 2012.

MADELLA-OLIVEIRA, A.F.; QUIRINO, C.R.; PACHECO, A. Principais hormônios que controlam o comportamento reprodutivo e social das fêmeas ruminantes – Revisão. **PUBVET**, Londrina,2014, V. 8, N. 3, Ed. 252, Art. 1668, Fevereiro, 2014.

MALAFAIA, G.C., *et al.* **Série desafios do agronegócio brasileiro (NT4). Produto: Carne bovina.** Relatório técnico. Centro de Inteligência da Carne Bovina. Embrapa Gado de Corte. Campo Grande, 2020.

MARTÍNEZ, M. F.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. The use of estradiol and/or GnRH in a two-dose PGF protocol for breeding management of beef heifers. **Theriogenology**, Los Altos, v. 62, p. 363-372, 2004

MARTINI, A.P. **Resposta superovulatória de vacas em lactação tratadas com diferentes concentrações de progesterona.** Orientadora: Maria Iolanda Batistella Rubin. 2015. 44 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade e Reprodução Animal ) - Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2015.

MELLO, *et al.* Produção in vitro (PIV) de embriões em bovinos. **Revista Brasil Reprodução Animal**, Belo Horizonte,2016, v.40, n.2, p.58-64, abr./jun. 2016

PRADO, F.R.A. **Técnicas de superovulação, colheita e transferência de embriões em bovinos.** 2005. 27f. Tese de Doutorado. Dissertação (mestrado)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus de Botucatu, Poços de Caldas , 2005.

ROBERTSON, I. Certification and identification of the embryo. **Manual of the International Embryo Transfer Society**, 1998, p. 103-134, 1998.

SOARES, P.H.A; JUNQUEIRA, F.S. Particularidades reprodutivas da fêmea bovina: Revisão. **PUBVET**, Formiga, v. 13, p. 148, 2018.

VIEIRA, L.M.V. **Fatores Associados à produção e a sobrevivência embrionárias em programas de superovulação e transferência de embriões em fêmeas da raça holandesa em clima tropical.** Orientador Prof. Dr.Pietro Sampaio Baruselli, 2013, 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) Área de concentração: Reprodução animal - Universidade de São Paulo, São Paulo 2013.

WALTERO, E.M.M. **Superovulação de fêmeas bovinas utilizando hormônio foliculo estimulante veiculado em uma matriz polimérica biodegradável de liberação controlada.** Professor Doutor Reginaldo da Silva Fontes, 2009. (61f.). Dissertação de mestrado, (título de Mestre em Ciência Animal na área de concentração de Melhoramento Genético e Biotecnologia da Reprodução.) – Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense. Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, 2009.

WEBB, R. N. B.; *et al.* Mechanism regulating follicular development and selection of the dominant follicle. **Reproduction Supplement**, Columbia, n.61, p.71-90, 2003.



# **AVALIAÇÃO DA TAXA DE PRENHEZ DE VACAS PROTOCOLADAS COM SETE E OITO DIAS DE EXPOSIÇÃO À PROGESTERONA**

**ACADÊMICOS:** Guilherme Duarte Pinho e Letícia Araújo Lima Feliciano  
**ORIENTADORA:** Vanessa Lopes Dias Queiroz de Castro

## **RESUMO**

O objetivo do presente estudo foi comparar o uso de dois protocolos de IATF variando a quantidade de dias de exposição ao progestágeno. O experimento ocorreu na fazenda Paciência, localizada em Açucena (MG). Foram utilizadas 20 vacas divididas, aleatoriamente, em dois grupos, sendo o experimental (n=10), submetido ao protocolo com menos dias de exposição ao progestágeno: no D (0) foram administrados 2 mL de benzoato de estradiol e colocado o implante intravaginal de progesterona. No D (7) o implante foi retirado e foram administrados 2 mL PGF2 $\alpha$ ; 1 mL de eCG e 0,5 mL de cipionato de estradiol. Já o grupo controle (n=10) foi submetido ao mesmo protocolo exceto que o implante foi retirado no D (8) e neste dia as fêmeas receberam os mesmos hormônios administrados no D (7) do grupo experimental. A inseminação artificial de doses do mesmo touro foi realizada no D (9) para o grupo experimental e no D (10) para o controle. As variáveis qualitativas (prenhe ou não prenhe) foram comparadas em tabelas de contingência e analisadas pelo teste de qui-quadrado a 5% de probabilidade. Não houve diferença estatística na taxa de prenhez entre os grupos. Dessa forma, o uso por sete dias otimiza o tempo do protocolo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Hormônios; IATF; Progesterona; Vaca.

**LINHA DE PESQUISA:** Produção e Reprodução Animal.

## **INTRODUÇÃO**

O Brasil contém cerca de 215,2 milhões de cabeças de gado, da raça zebuína, por apresentar uma melhor resistência a ambientes tropicais, em criação extensiva (DUARTE, 2018). Ainda segundo o autor, a tendência da pecuária é a expansão, com intuito de suprir as necessidades da população consumidora por meio da intensificação no setor, a fim de melhorar a produtividade promovendo melhorias na mão-de-obra, novas biotecnologias, melhor qualidade das forragens, melhoramento genético, vacinações, descarte de animais inférteis, exame andrológico em touros etc.

A inseminação artificial vem sendo um importante instrumento utilizado pelos pecuaristas para a obtenção de melhores valores zootécnicos, por meio de uso de sêmen de animais geneticamente melhorados e com o avanço das biotecnologias surgiu a Inseminação Artificial em Tempo Fixo - IATF (GOTTSCHELL; DA SILVA, 2014). Essa biotecnologia vem se destacando, principalmente, por não necessitar da

observação do cio. Dessa forma, concentra inseminações em um dia pré-determinado e, conseqüentemente, os nascimentos, melhorando a dinâmica e o manejo dos bezerros (FURTADO; TOZZETTI; AVANZA; DIAS, 2011).

O Brasil tornou-se referência mundial quando se trata dessa biotecnologia no rebanho de corte, com isso obteve-se um aumento na comercialização de sêmen das raças zebuínas e taurinas. No período de 2002 a 2012, cerca de 8 milhões de protocolos foram realizados (ALVAREZ, 2016).

A IATF intervém no ciclo estral objetivando induzir a emergência de uma nova onda e a duração do crescimento folicular, até o estágio pré-ovulatório, sincronizando a inserção e a retirada da fonte de progesterona exógena (implante auricular ou dispositivo intravaginal) e a lise da fonte endógena (prostaglandina F2 $\alpha$ ) induzindo a ovulação sincronizada em todos os animais (BARUSELLI *et al.*, 2004).

Estudos recentes demonstraram que os índices de concepção variam de 40 a 60%. Animais com déficit energético pré e pós-parto, vacas com condição corporal baixa e primíparas são indicadas o uso de fármacos que estimulam o crescimento folicular (RODRIGUES *et al.*, 2020).

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo comparar o uso de dois protocolos de IATF variando a quantidade de dias de exposição ao progestágenos em vacas submetidas ao mesmo manejo.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

O conhecimento da anatomia do sistema reprodutor da fêmea bovina é indispensável e se divide em ovários, tuba uterina (ovidutos), útero, cérvix, vagina, vestibulo da vagina e vulva (SOARES; JUNQUEIRA, 2019).

Os ovários se apresentam em pares com função endócrina: produção de hormônios esteroideogênicos (estradiol e progesterona) e proteicos (relaxina, inibina, ativina e folistatina) e exócrina responsável pela produção dos ovócitos (gametogênica) (PANSANI; BELTRAN, 2009).

O ovário é dividido, histologicamente em córtex e medula sendo a região cortical a que abriga os folículos enquanto a medular agrega vasos sanguíneos, linfáticos e nervos (SOARES; JUNQUEIRA, 2019). Situado cranialmente ao púbis e caudalmente aos rins, no terço ventral da cavidade abdominal, o seu tamanho pode variar de 1,5 a 5 cm de comprimento e de 1 a 3 cm de largura. O peso varia de 15 a 20 gramas de acordo com a fase do ciclo estral em que a fêmea se encontra

(SOARES; JUNQUEIRA, 2019). São fixados pelo ligamento mesovário em formato de amêndoa e após a puberdade apresentam folículos, corpos hemorrágicos, corpos lúteos e corpo *albicans* em sua superfície (DA SILVA, 2019).

Os folículos se desenvolvem na região cortical em que o início da foliculogênese se dá na vida intrauterina e só continua após a puberdade dependente e regulada por hormônios esteroides, gonadotrofinas e fatores de crescimento. É importante ressaltar que os folículos formados no período fetal, chamados de folículos primordiais, possuem um número pré-determinado e que, após a puberdade, vai ocorrer atresia folicular da maior parte, sendo apenas um folículo em cada ciclo estral chegando à ovulação (LIMA-VERDE; ROSSETTO; FIGUEIREDO, 2011).

Os folículos podem ser classificados em pré-antrais (primordiais, primário unilaminar, primário multilaminar) e antrais (secundários e terciários). Os folículos primordiais possuem forma oval circundado por células da granulosa (epitélio simples pavimentoso), ocorrendo uma justaposição de células da granulosa com o ovócito e o núcleo ocupa a porção central da célula (LIMA-VERDE; ROSSETTO; FIGUEIREDO, 2011). Com o desenvolvimento folicular, o epitélio, que era pavimentoso, passa a ser cuboide se tornando um folículo primário unilaminar. Já o folículo primário multilaminar possui mais de uma camada de células e os folículos secundários são caracterizados pela presença do antro. O antro é uma cavidade repleta de líquido, que aumenta de acordo com o tamanho do fornecimento vascular e permeabilidade (LIMA-VERDE; ROSSETTO; FIGUEIREDO, 2011). O folículo terciário devido ao antro já estabelecido divide as células da granulosa em duas populações distintas, as células do *cumulus* e as células murais (CURSINO, 2011).

A tuba uterina ou oviduto que conecta os ovários aos cornos uterinos sendo dividida em três segmentos: infundíbulo o qual se encontra mais próximo ao ovário, composto pelas fímbrias responsáveis por capturar o ovócito ovulado; a ampola é o maior segmento e se localiza no terço médio da tuba uterina e, por fim, o istmo que se conecta ao corno uterino pela junção istmo tubárica. A tuba uterina é sustentada pelo ligamento mesosalpinge advindo da ramificação do ligamento largo (SOARES; JUNQUEIRA, 2019; DA SILVA, 2020).

Dentre as funções da tuba uterina está a captação do ovócito e é o local de fertilização e também de armazenamento dos espermatozoides para a capacitação

espermática. A parede da tuba uterina é composta por uma mucosa, uma túnica muscular e uma serosa. O diâmetro tubárico é de 2-3 mm e seu comprimento varia de 20 a 30 cm cada (SOARES; JUNQUEIRA, 2019).

O útero dos ruminantes é constituído de dois cornos, um corpo e uma cérvix, onde os cornos uterinos são separados pelo septo intercornual. A parede uterina é composta por endométrio, miométrio e perimétrio e possuem anastomoses em que a artéria uterina auxilia no suprimento sanguíneo do ovário ipsilateral e a artéria ovariana ajuda no aporte nutricional uterino (GONZALEZ, 2002). O mesométrio fixa o útero e é irrigado pela artéria uterina média. O útero terá tamanho variado devido à idade da fêmea e à quantidade de partos (SOARES; JUNQUEIRA, 2019).

O útero gestante possui projeções não glandulares denominadas de carúnculas, muito vascularizadas e nos bovinos podem ser encontradas de 70 a 120 projeções de 15 mm podendo alcançar até 10 cm de largura, em fases adiantadas de gestação. O córion apresentam vilosidades chamadas de cotilédones que unidas as carúnculas chama-se placentoma (GONZALEZ, 2002).

A cérvix é o órgão que limita o útero da vagina atuando, assim, como a primeira proteção com o meio externo, com exceção do parto e do momento do estro no qual encontramos o lúmen cervical aberto. A cérvix contém uma camada de musculo circular, sendo bem desenvolvida, além de possuir fibras elásticas. A mucosa forma pregas internas e as células epiteliais produzem muco constituído por glicoproteínas. Dentre suas funções, está a seleção e barreira aos espermatozoides por meio das criptas cervicais devido aos seus anéis. O muco cervical auxilia no transporte espermático assim como na lubrificação no momento da expulsão do feto (SILVA, 2020).

A vagina é o órgão copulatório situada caudalmente a cérvix e se prolonga até atingir óstio uretral externo (GONZALEZ, 2002). Sua parede é dividida em mucosa, tendo um epitélio estratificado que se espessa dependendo da fase do ciclo estral da fêmea (DA SILVA, 2019). Esse órgão é o canal do parto e, na espécie bovina, o local que ocorre a ejaculação. Possui um pH ácido devido ao armazenamento de glicogênio pelas células epiteliais gerando ácido láctico o que promove um ambiente inóspito para a proliferação de microrganismos (GONZALEZ, 2002).

Caudalmente na vagina, temos o vestíbulo da vagina, que se inicia a partir do hímen ou do óstio uretral externo, com presença de glândulas vestibulares maiores

também chamadas de glândulas de Bartholin que excretam secreções viscosas (GONZALEZ, 2002). Na porção final do sistema reprodutor da fêmea bovina, encontra-se a vulva constituída pelo lábio vulvar esquerdo e direito e pelas comissuras vulvares dorsal e ventral. Na comissura vulvar ventral, encontra-se o clitóris que é um órgão análogo rudimentar ao pênis (DA SILVA, 2019).

## **ENDOCRINOLOGIA**

### **Hormônio liberador de gonadotrofinas**

O hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) é secretado pelo hipotálamo, onde é estimulado pela noradrenalina, dopamina entre outros. Por sua vez este hormônio interage com os receptores dos gonadotrófos e estes são estimulados a secretarem o hormônio luteinizante (LH) e o hormônio folículo estimulante (FSH) por meio do influxo de cálcio intracelular que leva à contração de microfilamentos levando a liberação nos vasos sanguíneos. O GnRH é secretado de duas formas, pelo centro tônico e pelo centro pré-ovulatório e é controlado pelas próprias gonadotrofinas FSH e LH (feedback de alça curta) e pela progesterona e estradiol (feedback de alça longa) (GONZALEZ, 2002).

### **Hormônio folículo estimulante**

Trata-se de um hormônio glicoproteico produzido na adenohipofise pelos gonadotrofos e tem intensa participação no desenvolvimento folicular, diferenciação gonadal, esteroidogênese e gametogênese, com isso regulando o ciclo estral das fêmeas bovinas (SARAIVA *et al.*, 2010).

Ainda que as gonadotrofinas sejam produzidas pelo mesmo tipo celular, elas são liberadas de forma diferente, em que o FSH é liberado de forma gradativa, embora uma parte seja armazenada para ser liberada em resposta ao GnRH, por outro lado o LH é liberado de forma pulsátil. De acordo com Saraiva *et al.* (2010), o FSH estimula a multiplicação e diferenciação das células da granulosa e formação do antro. Os receptores de FSH se encontram no citoplasma das células da granulosa de folículos pre-antrais, já que estes são hormônios proteicos.

### **Hormônio luteinizante**

Trata-se de um hormônio glicoproteico produzido na adenohipófise pelos gonadotrófos e atua nos folículos pré-ovulatórios estimulando a ovulação e agindo nas células da granulosa e da teca realizando a luteogênese: diferenciando após a



ovulação em células lúteas produzindo assim a progesterona (P4). A administração de LH de forma exógena torna possível o controle da ovulação ocorrendo em um período de 24 a 36 horas após sua administração. Em novilhas em que se utilizou o LH como forma de indução a puberdade verificou-se uma taxa de ovulação elevada em relação ao uso de GnRH (D'AVILA *et al.*, 2019).

### **Prostaglandina 2 $\alpha$**

É um hormônio proveniente do ácido araquidônico produzido pelas células endometriais desempenhando papel luteolítico, comumente utilizada em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (FRIZZO, 2002).

Existem dois análogos da PGF 2 $\alpha$ : o dinoprost trometamina com meia vida curta e o cloprostenol sódico com meia vida mais longa e mais potente (FRIZZO, 2002). Para acontecer lise do corpo lúteo a PGF 2 $\alpha$  é liberada de forma pulsátil, nesta fase do ciclo estral os folículos liberam E2, que estimulam o aumento do aparecimento dos receptores para ocitocina. Além disso, é secretado a ocitocina luteal que irá estimular a secreção de PGF 2 $\alpha$  pelo endométrio. Dessa maneira acontecerá lise de corpo lúteo que caracterizará uma queda da progesterona sendo essencial para o início de um novo ciclo. Esse hormônio luteolítico é capturado pelas veias uterinas e por um mecanismo contracorrente é direcionado para artéria ovariana para que não seja metabolizado de forma sistêmica sendo considerado um mecanismo local (FRIZZO, 2002).

### **Progesterona**

A progesterona (P4) é de suma importância durante a gestação sendo produzida pelo corpo lúteo (células luteais grandes e pequenas) e promove quiescência uterina, essencial para estabelecer um ambiente adequado para receber o embrião e manter o desenvolvimento fetal (PAZ *et al.*, 2007).

Na sincronização do estro desenvolve papel importante juntamente com o estradiol devido à sincronização de uma nova onda folicular quando são juntamente administrados no início do protocolo (GODOI; SILVA; DE PAULA, 2010).

Segundo Silveira (2010) as concentrações de progesterona estarão associadas diretamente à vida funcional do CL. Sendo assim são de fundamental importância para desenvolvimento fetal, bloqueando a fase estrogênica do ciclo estral.

Os progestágenos são utilizados para a sincronização do cio e ovulação e podem ser usados de forma injetável ou em implantes vaginais e auriculares (subcutâneos) apresentando liberação lenta, porém constante, na circulação, (DUARTE, 2018).

### **Gonadotrofina coriônica equina**

A gonadotrofina coriônica equina (eCG) é produzida pelos cálices endometriais de éguas entre 40 e 130 dias de prenhe. É análogo ao FSH e LH atuando nos mesmos receptores das gonadotrofinas. Possui meia vida longa devido à presença de ácido siálico (n-acetil-neuramina) na sua composição e, devido ao alto peso molecular e à presença de ácido siálico, a molécula de eCG é carregada negativamente, o que dificulta a sua filtração glomerular e aumenta ainda mais sua meia-vida. Além disso, o eCG pode se ligar a receptores de LH no corpo lúteo, promovendo aumento das células luteais, grandes responsáveis pela maior parte da secreção de P4 (BARUSELLI *et al.*, 2008).

O eCG é administrado na IATF no momento da retirada do implante, no intuito de aumentar o diâmetro do folículo pré-ovulatório, com isso melhorar a taxa de ovulação e produção de p4. Largamente é utilizado em animais com baixa condição de escore corporal ou que estejam em anestro e animais recém-paridos (MELLO; FERREIRA; MELLO; PALHANO, 2014).

### **ESTRESSE**

O estresse influencia tanto o processo de produção quanto de reprodução animal, no qual poderá ser causado por falha de nutrição adequada, temperaturas extremas, sede, além de fatores psicológicos que interferem no manejo dos animais (PELLENZ *et al.*, 2018).

Há uma subdivisão do estresse em eustresse e distresse, referindo, assim, o eustresse em sua forma positiva e o distresse em efeitos negativos associado ao bem-estar animal. Os fatores de estresse que alterarão a homeostase serão ativados pelo eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal, tratando-se, assim, dos fatores ambientais e de manejo (ALGAYER, 2016).

Segundo Algayer (2016) em ambientes que provocam o estresse ocorre mudanças na fisiologia animal. As respostas acontecem no sistema límbico e são distribuídas para as demais áreas do cérebro, gerando uma resposta na qual o

animal se sente ameaçado podendo fugir, continuar imóvel, se defender ou atacar. A resposta irá depender da quantidade e qualidade dos estímulos nos quais fatores individuais poderão interferir como a idade e o genótipo.

O hormônio empregado para avaliar o estresse dos animais é o cortisol. Havendo a exposição a situações de estresse, os níveis de cortisol aumentaram em 10 a 20 minutos e se mantêm estáveis durante 2 horas (ALGAYER, 2016).

O estresse térmico é considerado um dos importantes fatores que interfere nos mecanismos de termorregulação, diminuindo a produção de carne, taxa de crescimento, taxas de prenhez e influência na diminuição da resposta imune. Temperaturas extremas causam um efeito negativo no mecanismo de termorregulação do animal, ocasionando um aumento da frequência respiratória e cardíaca afetando a ingestão de alimentos e, conseqüentemente, a reprodução (BERLITZ, 2019).

A frequência respiratória é um dos primeiros sinais de identificação do estresse térmico tendo influência direta ao tempo de permanência nesse estado. Em temperaturas elevadas, os animais perdem calor por meio da evaporação; já em ambientes com temperaturas baixas, ocorre o resfriamento do corpo e, em forma de adaptação, ocorre a vasoconstrição, ou seja, contração da musculatura lisa do vaso diminuindo seu diâmetro e, assim, a perda de calor para o ambiente (LIMIRO, 2020).

O manejo excessivo dos animais é um importante fator de aumento dos níveis de estresse gerando grandes prejuízos na produtividade e bem-estar. Conduzir os animais de maneira tranquila evita sensações de medo e dor. Para realização da IATF necessita-se de uma contenção adequada, dessa forma, protocolos mais recentes visam à redução na quantidade de dias de manejo, visando a uma redução do estresse (ALGAYER, 2016).

O estresse, portanto, impossibilita que o animal expresse seu maior potencial genético, gerando grandes prejuízos relacionados à eficiência reprodutiva. (TAROUCO, 2020)

## **CICLO ESTRAL**

O ciclo estral é definido como uma sequência de eventos fisiológicos que ocorrem entre um estro e outro. O estro é o intervalo de tempo em que a fêmea aceitar a monta e o seu início marca o dia zero do ciclo estral. As vacas são

poliéstricas, pois apresentam ciclos durante todo o ano e cada ciclo, em bovinos, apresenta duração média de 21 dias (GONZÁLEZ, 2002).

O ciclo possui quatro etapas bem distintas: o estro, com duração de, aproximadamente, 12 horas, marcado por um aumento expressivo na concentração de estradiol secretado pelo folículo pré-ovulatório; o metaestro, com duração de quatro a cinco dias, fase em que ocorre a ovulação e a formação do corpo lúteo (SILVA, 2019). A fase do diestro é responsável pelas altas concentrações de P4, devido à presença de um CL ativo e funcional. Ademais, é também a fase inicial do crescimento do folículo por atuação do FSH (GOTTSCHELL, 2011). O proestro estará marcado pela luteólise do corpo lúteo (queda nas concentrações de P4) e, conseqüentemente, pelo desenvolvimento do folículo pré-ovulatório (SILVA, 2019).

O período de duração de um ciclo se caracteriza pela incidência de 2 ou 3 ondas foliculares, sendo que os folículos antrais são estimulados por meio do hormônio folículo estimulante, crescendo 3 dias, em média, até que o folículo dominante surja, acarretando uma atresia dos demais folículos, chamados subordinados (DUARTE, 2018).

Inúmeras condições como o escore de condição corporal, ambiente, idade da fêmea bovina, além do manejo e nutrição, influenciam no desenvolvimento dos folículos, ou seja, na ciclicidade da fêmea (MILANI, 2014).

### **Escore de condição corporal**

O escore de condição corporal (ECC) é considerado uma forma prática, rápida e eficiente para avaliação do animal, antes que ele seja inserido em um programa de reprodução. O ECC é considerado um sinal específico do estado nutricional condizente ao peso vivo (MOURA, 2008).

A deficiência nutricional é um dos principais fatores que afetam a fertilidade dos animais ocasionando uma limitação na liberação de GnRH. Desse modo, ocorre uma redução dos pulsos de LH, acarretando uma diminuição do diâmetro do folículo dominante, conseqüentemente, do tempo da onda do crescimento folicular (BARUSELLI *et al.*, 2008).

O estado nutricional em animais que são direcionados à reprodução está associado aos fatores hormonais, metabólicos e nutricionais. Portanto a condição corporal gera um equilíbrio levando a melhores resultados (TABORDA *et al.*, 2018).

Existem duas formas para a avaliação do ECC. Uma delas é destinada ao gado de corte: a mais utilizada é de 1 (extremamente debilitada) a 9 (extremamente gorda); outra, para o gado de leite: uma escala de 1 a 5 (MOURA, 2008).

## **INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF)**

A inseminação artificial vem sendo uma das biotecnologias mais empregadas na reprodução de bovinos acarretando grandes vantagens em comparação à monta natural, propiciando um melhoramento genético eficiente e, conseqüentemente, a obtenção de bezerros de maior valor genético. No entanto, faz-se necessária a detecção do estro o que representa um gargalo à reprodução (BARUSELLI *et al.*, 2019).

Nesse sentido, a IATF permite sincronizar a ovulação dos animais por meio de fármacos, independente da manifestação de estro. Essa sincronização é de grande utilidade, pois permite ao produtor ter um planejamento melhor sobre as suas atividades tendo partições em épocas desejáveis (TABORDA *et al.*, 2018)

Na IATF, serão implementados protocolos hormonais, que irão realizar a sincronização do estro permitindo a IA programada para um determinado dia. Porém podem ser observados resultados diferentes em determinadas categorias de fêmeas, como em novilhas, primíparas e múltiparas for. Assim, deve-se atentar ao protocolo utilizado de acordo com a categoria animal. Outros fatores que poderão influenciar na taxa de prenhez são principalmente o índice de condição corporal e a ciclicidade ovariana (SIQUEIRA, 2019).

O uso dessa biotecnologia resulta em ganho significativo nas taxas de prenhez e um aumento relevante na produtividade, conseguindo manter a lucratividade, principalmente, em grandes rebanhos. A técnica facilita o manejo e pode proporcionar lotes padronizados com maior valor genético. Antecipar a prenhez e reduzir o intervalo entre partos faz com que se tenha um número maior de bezerros ao ano (BARROSO, 2018).

A função dos protocolos hormonais é proporcionar uma nova onda folicular em todos os animais protocolados, conseqüentemente induzindo uma ovulação programada. Os protocolos de IATF estão passando por diversas transformações, com o intuito de facilitar o manejo do produtor e se obter um incremento nas taxas

de prenhez. Os protocolos que utilizam estradiol e progesterona são os mais utilizados no Brasil (BARUSELLI *et al.*, 2019).

## **METODOLOGIA**

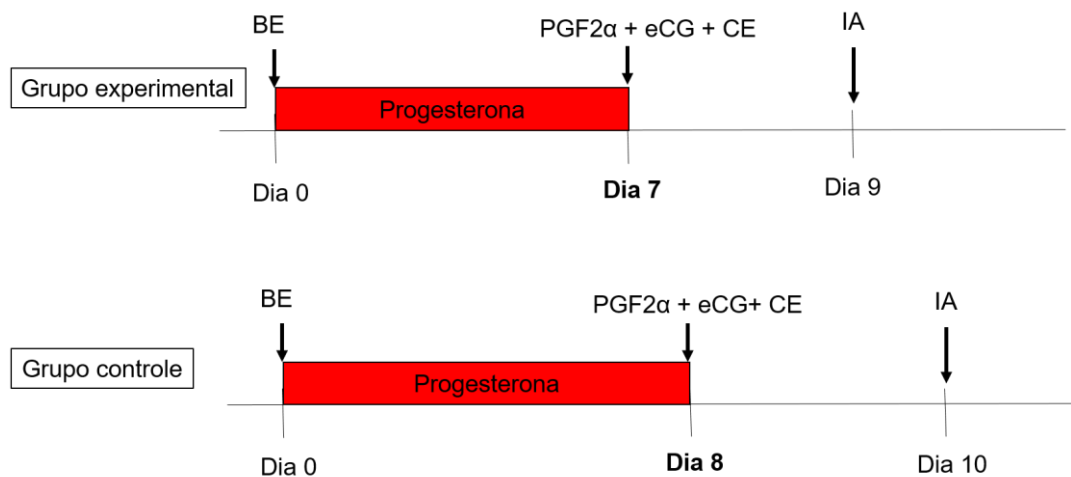
O experimento ocorreu na Fazenda Paciência, localizada no município de Açucena - MG. Foram utilizadas 20 vacas mestiças de escore corporal grau 3, as quais foram mantidas em pasto de *Brachiaria brizantha*, com livre acesso à água e sal mineralizado.

Todas foram submetidas ao exame ginecológico prévio para avaliação do sistema reprodutivo e somente aquelas sem anormalidades participaram do experimento. Estas foram, aleatoriamente, divididas em dois grupos, sendo dez animais pertencentes ao grupo experimental e dez ao grupo controle submetidas ao seguinte protocolo de IATF variando a quantidade de dias de exposição ao progestágeno.

O grupo experimental foi submetido ao protocolo utilizando menos dias de exposição ao progestágeno: no D (0), foram administrados 2 mL de benzoato de estradiol (BE, Ric-be®, Tecnopec) por via intramuscular (IM) e colocado o implante intravaginal de progesterona (PRIMER®, Tecnopec) em todas as vacas. No D (7), o implante foi retirado e foram administrados 2 mL PGF2 $\alpha$  (Sincrocio®, Ourofino); 1 mL de eCG (*Folligon*®, MSD) e 0,5 mL de cipionato de estradiol (SincroCP®, Ourofino).

Já o grupo controle foi submetido ao mesmo protocolo exceto que o implante foi retirado no D (8) e neste dia as fêmeas receberam 2 mL PGF2 $\alpha$  (Sincrocio®, Ourofino); 1 mL de eCG (*Folligon*®, MSD) e 0,5 mL de cipionato de estradiol (SincroCP®, Ourofino) o que é tradicionalmente utilizado.

A inseminação artificial de doses do mesmo touro foi realizada no D (9) para o grupo experimental e no D (10) para o controle (FIGURA 1).



**Figura 1:** Protocolos de IATF com diferentes dias de exposição ao progestágeno.  
**Fonte:** Elaborado pelos autores.

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).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste estudo não houve diferença estatística entre os grupos submetidos a dois diferentes protocolos de exposição ao progestágeno, (TABELA 1). A exposição mais curta ao progestágeno não apresentou interferência na taxa de prenhez.

**Tabela 1:** Taxa de prenhez comparando dois protocolos utilizados na inseminação artificial em tempo fixo em fêmeas bovinas.

Variáveis	N	Prenhez (%)
Grupo experimental	4	40% <sup>a</sup>
Grupo controle	5	50% <sup>a</sup>

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

**Fonte:** Elaborado pelos autores.

O uso do implante de P4 na IATF tem o objetivo de impedir a antecipação da ovulação no protocolo (MARTINS, 2011). Com a ovulação ocorre, posteriormente, a formação do corpo luteo responsável pela secreção de P4 fisiológica promovendo um *feedback* negativo no eixo hipotalâmico-hipofisário impedindo a liberação do GnRH, por consequência mantendo os níveis séricos de LH e FSH basais (MABA, 2018).

No estudo de Santos (2016), o uso do implante de P4, durante sete e nove dias, acarretou diferença na taxa de crescimento médio folicular diário, em que a

exposição por sete dias apresentou crescimento de 1,29 mm e 1,10 mm para o grupo com nove dias. Com isso, o protocolo de sete dias de exposição ao progestágeno demonstrou ter maior habilidade de aumentar o diâmetro folicular consecutivo à retirada do implante. Contudo, verificou-se que a concentração sérica de P4, dez dias após a IATF, foi semelhante entre os dois protocolos, comprovando que o menor tempo de exposição, ou seja, a otimização do protocolo, não acarreta efeito deletério na taxa de prenhez.

De acordo com o experimento realizado por Santos *et al.* (2018), com vacas expostas a P4 por oito dias e por nove dias, não houve diferença na taxa de prenhez semelhante ao presente estudo.

Em contrapartida, Pfeifer *et al.* (2014) salientaram que, com vacas lactantes e novilhas púberes submetidas à exposição com cinco e oito dias, a taxa de prenhez com apenas cinco dias foi inferior quando comparada a oito dias de exposição.

De acordo com Baruselli, Bó, Reis e Marques (2004), a escolha do protocolo de IATF irá depender das condições do animal e do ambiente onde será realizado, permitindo flexibilidade de escolha quando correlacionamos protocolos mais prolongados ou mais curtos.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Não houve diferença significativa na taxa de prenhez com o menor tempo de exposição ao progestágeno. Dessa forma, o uso por sete dias otimiza o tempo do protocolo.

## REFERÊNCIAS

ALGAYER, N. S. **Efeitos de agentes estressores sobre os níveis séricos de cortisol e taxa de prenhez em vacas nelore (*Bos Indicus*) submetidas à IATF.** Orientador: Prof. Dr. Paulo Rossi Junior. 2016. Curitiba: 82 f. Dissertação (Mestrado em zootecnia) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

BARROSO, A. C. Análise dos aspectos bioeconomicos da IATF. **Revista de Administração e Negócios da Amazônia**, Rondônia, V.10, n.3, p. 124-138, set./dez. 2018.

BARUSELLI, P. S. *et al.* Evolução e perspectivas da inseminação artificial em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Gramado, RS, v.43, n.2, p.308-314, abr./jun. 2019.



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

BARUSELLI, P. S.; BÓ, G. A.; REIS, L. E.; MARQUES, O. M. Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. **Anais**. São Paulo: [s.n.], p.155-165, 2004.

BARUSELLI, P. S.; JACOMINI, J. O.; SALES, J.N.S.; CREPALDI, G. A. Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOB em tempo fixo. **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, Uberlândia, v.3, p. 146-167, 2008.

BERLITZ, C. G. B. **Impacto do estresse ambiental na reprodução de bovinos de corte**. Orientador: Júlio Otávio Jardim Barcellos. 2019. 77 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Porto Alegre, 2019.

CURSINO, M. S. **Presença de isolamento pós-zigótico entre diferentes citótipos de mazama americana: avaliação de fêmeas**. Orientador: José Mauricio Barbanti Duarte. 2011. 78 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária em Reprodução Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, São Paulo, fev. 2011.

D'AVILA, C. A.; MORAES, F. P.; JUNIOR, T. L.; GASPERIN, B. G. Hormônios utilizados na indução da ovulação em bovinos – Artigos de revisão. **Revista Brasileira Reprodução Animal**. Capão do Leão, RS, v.43, n.4, p.797-802, out./dez.2019.

DA SILVA, E. I. C. **Reprodução Animal: o ciclo estral de bovinos leiteiros – desenvolvimento folicular, corpo lúteo e etapas do estro**. 2019. 16 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em zootecnia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, 2019.

DA SILVEIRA, A. P. **Uso de protocolos de IATF para aumentar a eficiência reprodutiva de gado de corte**. Orientador: Prof. Dr. Caliê Castilho. 2010. 59 f. Dissertação (Mestrado em ciência Animal) Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, São Paulo, 2010.

DOS SANTOS, M. H. **Desenvolvimento de protocolos para IATF com 7 dias de permanência do CIDR® em fêmeas Nelore**. Orientador: DR. Alexandre Vaz Pires. 2016. 80 f. Dissertação (Mestre em ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

DUARTE J. **Efeitos da administração de eCG 2 ou 4 dias antes da inseminação artificial em vacas nelore (*bos indicus*)**. Orientador: Profa. Dra. Evelyn Rabelo Andrade. 2018. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Rondônia, Rondônia, 2018.

E SOUSA, E. S.; SANTOS, R.C.B. **Desempenho reprodutivo de novilhas nelore submetidas a protocolos de IATF de acordo com a avaliação ovariana e o**

**protocolo utilizado.** Orientador: Bruno Moura Monteiro. 2019. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Zootecnia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Paragominas, 2019.

FACHIN, H. **Uso de GnRH no momento da inseminação artificial como ferramenta para otimizar os resultados de protocolos de IATF em gado de corte.** Orientador: Prof. Dr. Marcos Henrique Barreta. 2018. 25 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Santa Catarina, Curitiba, 2018.

FRIZZO, A. As prostaglandinas na reprodução. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Rio Grande do Sul, Brasil, 26p. Março de 2002. Disponível em: [https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2018/01/PG\\_reprod\\_1.pdf](https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2018/01/PG_reprod_1.pdf). Acesso em: out. 2021.

FURTADO, D. A.; TOZZETTI, D. S.; AVANZA, M. F. B.; DIAS, L. G. G. G. **Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte.** Garça, SP, jan. 2011 Revista científica eletronica de medicina veterinaria, Garça, SP, disponível em: [http://www.faeef.revista.inf.br/imagens\\_arquivos/arquivos\\_destaque/MLgHPH4uQfkckCq\\_2013-6-26-10-58-3.pdf](http://www.faeef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/MLgHPH4uQfkckCq_2013-6-26-10-58-3.pdf). Acesso em: out. 2021.

GODOI, C. R; SILVA E. F. P.; DE PAULA, A. P. Inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos de corte. **Pubvet**, Londrina, v. 4, n. 14, p. 802-808, 2010.

GONZÁLEZ, F. H. D. Introdução a endocrinologia reprodutiva veterinária. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, v. 83, p. 87, Porto Alegre, 2002.

GOTTSCHALL, C. S. **Controle do ciclo estral e taxa de prenhez em matrizes de corte bovinos: efeitos hormonais, genéticos e ambientais.** Orientador: Ricardo Macedo Gregory. 2011. 60 f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, nov. 2011.

GOTTSCHALL, C. S. *et al.* Efeito do uso de GNRH no momento da IATF e dias pós-parto sobre a taxa de prenhez em vacas de corte com cria ao pé. **Veterinária em Foco**, Canoas, RS, v.7, n.2, p.124-134, jan./jun. 2010.

GOTTSCHALL, C. S.; SILVA, L. R. Análise econômica de diferentes protocolos para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) aplicados em novilhas de corte. **Veterinária em Foco**, Canoas, RS, v.11, n.2, p.119-125, jan./jun.2014.

GOTTSCHALL. S. C.; DA SILVA, R. L. Taxa de prenhez de novilhas de corte submetidas à IATF com protocolo a base de benzoato de estradiol ou Ovsynch modificado. **Pub vet**. Canoas, RS, v. 12, n. 9, a177, p. 1-6, Set., 2018.

LA PAZ, M. N. *et al.* Produção de progesterona in vitro pelas células do corpo lúteo bovino ao longo da gestação. **Pesquisa Veterinária Brasileira, São Paulo**, v.27, n.9, p.370-376 set. 2007.

LIMA-VERDE, I. B; ROSSETTO, R.; FIGUEIREDO, J. R. Influência dos hormônios esteroides na foliculogênese. **Revista Brasileira Reprodução Animal**. Belo

Horizonte, v.35, n.4, p. 472-482, out./dez. 2011.

LIMIRO, W. B. **Influência do estresse térmico na reprodução de bovinos.** Orientador: Marlos Castanheira. 2020. 40 f. Trabalho de conclusão de curso (Zootecnia) – Universidade Católica de Goiás, Escola de Ciências Agrárias e Biológicas, Goiânia, 2020.

MABA, M. M. **Revisão bibliográfica: bases fisiológicas e dados sobre a inseminação artificial em tempo fixo (IATF).** Orientador: Giuliano Moraes Figueiró. 2018. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária do Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2018.

MARTINS, T. **Efeitos das concentrações de progesterona, duração do proestro e diâmetro folicular sobre a taxa de concepção de novilhas Nelore submetidas à inseminação artificial após detecção do estro ou inseminadas em tempo fixo.** Orientador: José Luiz Moraes Vasconcelos. 2011. 107 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.

MEDALHA, A.G. *et al.* Utilização do dispositivo intravaginal de progesterona, em até três usos, para inseminação artificial em tempo fixo de fêmeas Bos indicus. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.16, n.2, p.458-469, abr./jun., 2015.

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 Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.38, n.3, p. 129-134, jul./set. 2014.

MILANI, G. **Respostas De Fêmeas Bovinas E Avaliação Econômica Aos Protocolos De Sincronização De Estro Com CIDR®.** Orientador: Profa. Dra. Maria inês Lenz Souza. 2014. 74 f. Dissertação (Mestrado em ciência animal) Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande MS, 2014.

MOURA, G. S. **Uso de análogo de GnRH após inseminação convencional e com protocolo de IATF em gado mestiço.** Orientador: Ciro Alexandre Alves Torres. 2008. 60 f. Dissertação (Magister Scientiae) – Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

PANSANI, M. A.; BELTRAN, M. P.; Anatomia e Fisiologia do Aparelho Reprodutivo de fêmeas bovinas. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Garça, SP, Ano VII, n. 12, p. 1-5, Jan. 2009.

PELLENZ, J. *et al.* Impacto do Temperamento de Novilhas Sobre as Taxas de Prenhez em um Programa de IATF. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, Rio Grande do Sul, v. 10, n. 2, p. 1-5, 3 mar. 2020.

PEREIRA, C. H. **Luteólise antecipada em protocolo de inseminação artificial a tempo fixo com progesterona em vacas no pós parto.** Orientador: Ricardo

Macedo Gregory. 2010. 39 f. Dissertação (Mestre em Ciências Veterinárias na área de Reprodução Animal) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

PFEIFER, LFM *et al.* Avaliação de protocolo curto (5 d) de IATF em bovinos de corte. **Embrapa Rondônia-Circular Técnica**, Rondônia, p. 1-4, 2014.

RODRIGUES, A. S. *et al.* Eficácia do uso distintos estimulantes do crescimento folicular em protocolo para IATF em fêmeas nelore. **Archives of Veterinary Scienci**, Curitiba, PR, v.25, n.1, p.45-55, jan. 2020.

ROVANI, M. T. **Rota de ação da prostaglandina F2alfa administrada via submucosa vulvar na luteólise de bovinos**. Orientador: João Francisco Coelho de Oliveira. 2011. 50 f. dissertação (Mestre em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, set. 2011.

SANTOS, R. *et al.* Protocolo com nove dias de progesterona para inseminação artificial em tempo fixo em vacas taurinas adaptadas ao clima tropical. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Brasília, v.70, n.6, p.1899-1906, 2018.

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

SILVA, E. I. C. Anatomia e Fisiologia do Sistema Reprodutivo dos Animais. **Departamento de Reprodução**, Instituto Federal, Pernambuco, Campus Belo Jardim, ago. 2020.

SIQUEIRA, J. R. R. **Índice de prenhez e viabilidade econômica da inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte em duas propriedades rurais no estado de Goiás**. Orientador: Marcelo Marcondes de Godoy. 2019. 25 f. Trabalho de Conclusão de Curso (bacharelado em zootecnia) Instituto Federal Goiano-campos ceres, Goiás, nov. 2019.

SOARES, P. H. A.; JUNQUEIRA, F. S. Particularidades reprodutivas da fêmea bovina: Revisão. **Pub vet.**, Formiga, MG, v.13, n.1, a257, p.1-6, jan., 2019.

TABORDA, E.; GASPARIN A. L.; HARTMANN, W. Protocolos de IATF em fazendas do Tocantins. **Revista Eletrônica Biociências, Biotecnologia e Saúde**. Curitiba, n.22, set.- dez. 2018.

TAROUCO, A. K. *et al.* Efeitos de fatores bioclimáticos no desempenho de fêmeas Brangus e Angus submetidas à Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Rio Grande do Sul, v. 26, n. 1, p. 68-81, 23 mar. 2020.

# INCIDÊNCIAS DE CASOS DE LEISHMANIOSE EM UMA CLÍNICA DO MUNICÍPIO DE MANHUAÇU-MG

**Acadêmicas:** Deyniffer Aparecida Roela e Flávia Knupp Souza Breder

**Orientador:** Rogério Oliva Carvalho

## RESUMO

As Leishmanioses têm despertado atenção especial quanto a sua importância médica e econômica. Diferentes manifestações clínicas apresentam-se, dentre elas as formas visceral e tegumentar, estando a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) entre as oito doenças infecto-parasitárias listadas como de maior importância pela Organização Mundial de Saúde. A presente pesquisa apresenta o conceito, a origem e um breve histórico da doença. Também serão tratados o ciclo e o reservatório. Feito o diagnóstico e o tratamento nos cães, são necessárias medidas educativas, de controle e de proteção. O objetivo do trabalho foi fazer um levantamento dos casos de Leishmaniose Visceral Canina (LVC) atendidos na clínica veterinária de Manhuaçu, entre os anos de 2018 e 2020. Naquele período, dois casos foram confirmados e tratados, seguindo em acompanhamento. O baixo índice de casos confirmados pode estar relacionado à dificuldade no tratamento, além do grande número de animais assintomáticos e com manifestações inespecíficas. Os sinais clínicos são comuns a outras enfermidades infectocontagiosas que acometem os cães. A prevenção é a melhor forma de combater a Leishmaniose Visceral. Além de evitar o acúmulo de lixo, os donos devem aplicar repelentes eficazes nos animais para afastar os flebotomíneos.

**PALAVRAS-CHAVE:** leishmanioses; prevenção; tratamento.

**LINHAS DE PESQUISA:** Parasitologia

## INTRODUÇÃO

As leishmanioses são um conjunto de doenças causadas por protozoários flagelados do gênero *Leishmania*, pertencente à classe *Zoomastigophorea*, ordem *Kinetoplastida* e família *Trypanosomatidae*. Essas enfermidades, de modo geral, se dividem em leishmaniose tegumentar americana (LTA) — que ataca a pele e as mucosas — e a leishmaniose visceral (LV) ou calazar — que ataca órgãos internos (VILELA, 2013; TORRES-GUERRERO *et al.*, 2017).

As Leishmanioses têm despertado atenção especial quanto a sua importância médica e econômica, apresentando diferentes manifestações clínicas, dentre elas as formas visceral e tegumentar. A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) está entre as oito doenças infecto-parasitárias listadas como de maior importância pela Organização Mundial de Saúde (ASHFORD, 2000).

Por se tratar de uma zoonose de grande relevância na saúde coletiva devido à sua heterogeneidade epidemiológica, no caso da LV, os fatores de risco podem estar associados ao vetor, aos hospedeiros potenciais e ao meio ambiente, em um sinergismo urbano complexo (REGO, 2001).

A incidência de LTA pode estar relacionado ao desmatamento da floresta nativa para o plantio e criação de animais para consumo, como porco e galinha. Isso faz com que o vetor da Leishmaniose (flebotomíneos) vá até o ambiente peridomiciliar e, até mesmo, domiciliar para se alimentar, o que colabora para a contaminação em animais domésticos, como cachorro e o próprio homem (OLIVEIRA *et al.*, 2016).

O objetivo do presente trabalho foi fazer um levantamento dos casos de Leishmaniose Visceral Canina (LVC) nos animais atendidos em uma clínica veterinária do município de Manhuaçu, Minas Gerais, entre anos de 2018 a 2020. Trabalhos como este são importantes para oferecer informações e conhecimento sobre a prevalência da doença na região de Manhuaçu.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEORICA**

### **Origem e conceito da leishmaniose**

As leishmanioses são enfermidades causadas por microrganismos protozoários do gênero *Leishmania*. Este protozoário é digenético e se apresenta sob duas formas: uma flagelada denominada promastigota, que é encontrada no tubo digestivo do inseto vetor e em alguns meios de cultura artificiais; e a outra, aflagelada, denominada de amastigota, intracelular obrigatória, sendo encontrada nas células do sistema fagocitário dos hospedeiros vertebrados.

As leishmanioses apresentam um amplo espectro clínico e nosogeográfico. No novo mundo, embora sejam divididas em quatro formas, consideram-se apenas duas: a tegumentar e a visceral. As formas mucosa e difusa são um subgrupo da Leishmaniose Tegumentar, Leishmaniose cutânea, *L. cutâneo mucosa*, *L. cutânea difusa* e *L. visceral* (WHO, 2004). Os hospedeiros desses parasitos são divididos de duas formas: hospedeiros vertebrados, adquirindo as formas promastigota e amastigota, e hospedeiros invertebrados, que adquirem as formas promastigota, amastigota, paramastigota e promastigotas metaciclícos (REY, 1991).

## HISTÓRICO DA LEISHMANIOSE

Nas Américas, a Leishmaniose continua sendo um desafio para os programas nacionais e regionais de vigilância e controle, dada sua elevada incidência e ampla distribuição geográfica. Em 2017, foi aprovado o Plano de Ação de Leishmanioses nas Américas, cujo objetivo foi reduzir sua morbimortalidade mediante fortalecimento do diagnóstico, tratamento, reabilitação, prevenção, vigilância e controle da infecção até o ano de 2022 (OPAS – 2020). No Brasil, de 2000 a 2011, tanto as taxas de mortalidade como a de letalidade por LV apresentaram tendências crescentes e estatisticamente significativas, ainda que apresentassem declínio em algumas regiões. Destacaram-se, portanto, as regiões Norte e Sudeste do Brasil, onde se registrou elevação da mortalidade. Na região Nordeste, o aumento dos casos fatais foi significativo ao longo de todo o período (MARTINS-MELO *et al.*, 2014).

Gontijo *et al.* (2004) afirmam que, no Brasil, a importância da leishmaniose visceral reside não somente na sua alta incidência e ampla distribuição, mas também na possibilidade de assumir formas graves e letais quando associada ao quadro de má nutrição e infecções concomitantes. Os autores ressaltam, ainda, que a crescente urbanização da doença ocorrida nos últimos 20 anos coloca em pauta a discussão das estratégias de controle empregadas.

Até a década de 1990, a região Nordeste foi responsável por 90% dos casos notificados no Brasil. No Ceará, a doença é descrita desde os anos 1930, mas apenas em 1986 passou a ser notificada de forma contínua. De janeiro de 2008 a agosto de 2018, foram confirmados 6.347 casos no estado, com média de 578 casos anuais e taxa de incidência média de 6,7 casos por 100 mil habitantes. Em todo o ano de 2018, foram notificados 12 óbitos pela doença, correspondendo a uma letalidade de 6,4%. Uma análise realizada por Almeida *et al.* (2020) avaliou que, no período de 2007 até 2017, foram confirmados 1.660 casos de Leishmaniose visceral em Fortaleza, no Ceará, evidenciando um estudo ecológico mediante regressão temporal segmentada e mapeamento temático. A conclusão do referido trabalho foi que a Leishmaniose visceral é endêmica em Fortaleza, mesmo com o declínio dos casos nos últimos três anos avaliados.

Como diagnóstico do parasita, Guerin *et al.* (2002) afirmam que a sensibilidade mais alta (98%) é alcançada quando se utiliza aspirado do baço. As punções esplênicas e de medula óssea são consideradas procedimentos invasivos e

exigem ambientes apropriados para a coleta, não sendo procedimentos adequados para estudos epidemiológicos em larga escala, sendo, muitas vezes, inadequados também para diagnósticos individuais.

## **CICLO BIOLÓGICO E RESERVATÓRIOS**

Os mosquitos flebotomíneos são vetores biológicos mais comuns na transmissão da leishmaniose, dentre eles o *Lutzomyia longipalpis*. São mosquitos bastante comuns que vivem em locais ricos em matéria orgânica e baixa luminosidade, tais como galinheiros, chiqueiros e residências. Ambos os sexos dos flebotomíneos necessitam de carboidratos que sugam das plantas, mas apenas as fêmeas necessitam de sangue para o desenvolvimento dos ovos. No ciclo do flebotomíneo, cada etapa está numerada de um a seis para um melhor entendimento de como ocorre este processo (WHO, 2004).

Os transmissores possuem atividade vespertina e noturna, contudo, adaptam-se facilmente ao ambiente peridomiciliar, como, até mesmo, casas e animais domésticos (BRASIL, 2018).

Destaca-se, ainda, que o macho e a fêmea se alimentam de sucos vegetais, normalmente encontrados nas flores ou nas secreções de afídeos (NOVO, 2011).

As fêmeas *flebotomíneas* infectadas contaminam o hospedeiro vertebrado ao realizarem seu repasto sanguíneo, liberando as formas promastigota metaciclíca do parasito juntamente com sua saliva. Na epiderme do hospedeiro, essas formas são fagocitadas por células do sistema mononuclear fagocitário. No interior dos macrófagos, no vacúolo parasitóforo, diferenciam-se em amastigotas e multiplicam-se intensamente até seu rompimento. Ocorrendo, então, a liberação dessas formas que serão fagocitadas por novos macrófagos num processo contínuo, ocorrendo à disseminação hematogênica para outros tecidos ricos em células do sistema mononuclear fagocitário, como linfonodos, fígado, baço e medula óssea (BRASIL, 2003).

A infecção do vetor ocorre quando as fêmeas, ao sugarem o sangue de mamíferos infectados, ingerem macrófagos parasitados na forma de amastigotas da leishmania. No trato digestivo anterior, ocorre o rompimento dos macrófagos liberando essas formas. Ocorre, então, reprodução por divisão binária, diferenciando-se, rapidamente, em formas flageladas denominadas de



promastigotas, as quais também se reproduzem por processos sucessivos de divisão binária. As formas promastigotas transformam-se em paramastigotas, as quais colonizam o esôfago e a faringe do vetor. Permanecem aderidas ao epitélio pelo flagelo, diferenciando-se, a seguir, em formas promastigotas metaciclícas infectantes. O ciclo do parasito no inseto se completa em torno de 72 horas (BRASIL, 2003).

Somente as fêmeas dessas espécies têm a hematofagia como hábito alimentar, utilizando o sangue apenas para a maturação folicular ovariana, por isso elas são as transmissoras (DIAS, 2003).

Há ainda o que se falar sobre os ciclos de vida, pois o dos flebotomíneos são a dividido nas fases: ovo, larva, pupa e adultos. Quanto às formas imaturas, são terrestres, desenvolvendo-se em ambiente úmido e alimentam-se de matéria orgânica em decomposição, principalmente vegetal. Os adultos são criptozoários têm corpo de pequeno porte, entre 2 e 3 mm, intensamente piloso (NOVO, 2011).

## **TRATAMENTO E PREVENÇÃO**

### **Em cães**

A Portaria interministerial, nº 1.426, de 11 de julho de 2008, proíbe o tratamento de leishmaniose visceral canina com produtos de uso humano ou não registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. A referida regulamentação considera que não há, até o momento, nenhum fármaco ou esquema terapêutico que garanta a eficácia do tratamento canino, bem como a redução de risco de transmissão; aponta a existência de risco de indução à seleção de cepas resistentes aos medicamentos disponíveis para o tratamento das leishmanioses em seres humanos e determina que não existem medidas de eficácia comprovada que garantam a não-infectividade do cão em tratamento. O Artigo 1º proíbe, em todo território nacional, o tratamento da leishmaniose visceral em cães infectados ou doentes, com produtos de uso humano, ou produtos não-registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Aos médicos veterinários que descumprirem a lei, aplica-se o Artigo 5º da referida portaria:

- Quando for Médico Veterinário, as infrações e penalidades do Código de Ética Profissional do Médico Veterinário;
- Aplicação do Artigo 268 do Código Penal;

· Infrações e penalidades previstas na lei nº 6.437, de 20 de agosto de 1977, e no Decreto-lei nº 467, de 13 de fevereiro de 1969.

O Artigo: 6º OMS e o MAPA deverão adotar as medidas necessárias ao cumprimento efetivo do disposto nesta Portaria. O Artigo 7º trata das omissões e dúvidas por parte dos agentes públicos cujas funções estejam direta ou indiretamente relacionadas às ações de controle da leishmaniose visceral, na aplicação do disposto nesta Portaria serão apreciadas e dirimidas pela Secretária de Defesa em Saúde (SVS/MS) e pela Secretária de Defesa Agropecuária (DAS/MAPA) (TEMPORÃO e STEPHANES, 2008).

Existe uma vacina antileishmaniose visceral canina em comercialização no Brasil. Os resultados do estudo apresentado pelo laboratório produtor da vacina atenderam às exigências da Instrução Normativa Interministerial número 31 de 09 de julho de 2007, o que resultou na manutenção de seu registro pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2020).

Salienta-se que não existem estudos que comprovem a efetividade do uso dessa vacina na redução da incidência da leishmaniose visceral em humanos. Dessa forma, o seu uso está restrito à proteção individual dos cães e não como uma ferramenta de saúde pública (BRASIL, 2020).

A nota técnica 11/2016 do MAPA passou a liberar o tratamento de cães soro reagentes com o MILTEFORAN™. A vacina LEISH-Tec® tem resultados satisfatórios com o uso em conjunto com a coleira antiparasitária de Deltametrina a 4%. Inclusive existem trabalhos em que a Imunoterapia com a LEISH-Tec® foi satisfatória no tratamento de cães assintomáticos.

### **Medidas profiláticas**

Nas áreas endêmicas, é difícil a prevenção da moléstia. Os cães devem ser mantidos dentro de canis livres dos flebotomíneos desde uma hora após o nascer-do-sol até uma hora antes do pôr-do-sol. Para proprietários que vivem em países livres da Leishmania, é melhor deixar os animais em casa, ao visitar regiões endêmicas. Nas regiões não-endêmicas, é baixo o risco de transmissão da Leishmania de cães para o ser humano. Em regiões sem o vetor, praticamente não existe risco, mesmo quando ocorre contato com cão infectado (ETTINGER *et al.*, 1997). Segundo a Secretária do Estado da Saúde Superintendência de Controle de

Endemias (SUCEN), pelo fato de serem zoonoses primitivas das florestas, há dificuldades em se aplicarem medidas preventivas contra as leishmanioses utilizáveis em outras doenças transmitidas por vetores. Na maior parte das áreas endêmicas, onde se observa o padrão clássico de transmissão, pouco pode ser feito no momento em relação à profilaxia da doença, dada a impossibilidade de se atuar sobre fontes silvestres de infecção. No entanto, algumas medidas devem ser adotadas, tais como: medidas clínicas, diagnóstico precoce e tratamento em seres humanos. A partir dos sintomas, o homem deve ser submetido a exames e tratamento adequado (SUCEN, 2005).

### **Medidas de proteção individual**

São meios mecânicos como uso de mosquiteiros simples, telas finas em portas e janelas. É importante, também, evitar a frequência na mata, principalmente no horário noturno, a partir do anoitecer sem o uso de roupas adequadas, boné, camisas de manga comprida, calças compridas e botas, além do uso de repelentes (SUCEN, 2005).

### **Medidas educativas**

As atividades em saúde devem estar inseridas em todos os serviços que desenvolvam ações de controle, requerendo o envolvimento das equipes multiprofissionais e multi-institucionais com vistas ao trabalho articulado nas diferentes unidades de prestação de serviços (SUCEN, 2005).

Existe atualmente, no mercado uma coleira, a base de um potente inseticida, a Deltametrina, da Família dos Piretróides. Esta coleira protege os cães contra picadas de mosquitos evitando, assim, a sua contaminação pela leishmaniose; pois elimina o inseto do meio ambiente. A Deltametrina é liberada continuamente na cama lipídica da pele do cão protegendo-o por até quatro meses contra mosquitos da Família Phlebotomidae. A Deltametrina não tem cheiro e apresenta alta segurança para o cão e para as pessoas que com ele convive (GIUNTINI *et al.*; 2001).

Quanto à vacina, o Brasil desenvolveu a primeira vacina do mundo contra a Leishmaniose Visceral Canina. Estudos comprovaram que a imunização de cães pode ajudar a reduzir significativamente o número de casos e, até erradicá-los, uma

vez que não existe vacina para humanos. Chamada Leishmune. A vacina foi desenvolvida pela equipe da bióloga Clarisa Palatnik de Souza, da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), depois de vinte anos de pesquisa (PALATNIK DE SOUZA, 2001).

O programa completo de vacinação com a Leishmune compreende a aplicação de três doses, respeitando-se um intervalo de 21 dias entre elas. A revacinação deverá ser feita um ano após a primeira dose repetida anualmente, proporcionando a manutenção da resposta imune. Segundo a bióloga, a Leishmune é uma vacina inativada, composta por subunidades do protozoário, portanto não possui capacidade de induzir a leishmaniose visceral canina nos animais vacinados. É obrigatória a realização de um exame sorológico previamente à vacinação, para a identificação de cães anteriormente infectados e que não devem ser vacinados. Entretanto, os anticorpos antileishmania só podem ser detectados no teste de ELISA cerca de um ano e meio a quatro meses após a infecção e, nesse caso, um resultado sorológico negativo não descarta totalmente a existência da doença (PALATNIK DE SOUZA, 2001).

Foi demonstrado que a proteção contra a leishmaniose visceral canina só é conferida 21 dias após a aplicação da terceira dose. Assim, como o período de incubação da enfermidade é, em média, de dois a cinco meses, nesse intervalo o cão pode se infectar. Ao final do programa vacinal, será emitido um atestado de vacinação em duas vias. Uma das vias conterá as etiquetas das vacinas aplicadas e ficará com o proprietário ao final do programa; a segunda ficará com o médico veterinário, como forma de registro dos animais vacinados. Caso o proprietário exija um controle das doses aplicadas antes do final do programa e entrega do atestado devidamente preenchido e assinado, sugere-se que as etiquetas do diluente sejam colocadas na carteira de vacinação do cão (PALATNIK DE SOUZA, 2001).

O imunizante já foi licenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, porém sem constatação de seu custo – benefício e efetividade para controle do reservatório da leishmaniose visceral canina em programas de Saúde Pública, ainda não liberado para comercialização (WERKHAUSER, 2004).

## **Medidas de controle**

As estratégias de controle, até então utilizadas, estavam centradas e dirigidas verticalmente para o controle do reservatório canino (inquérito sorológico canino e eutanásia em cães prevalentes), bem como para a aplicação de inseticidas, diagnóstico e tratamento adequado dos casos registrados. Entretanto, essas medidas muitas vezes realizadas de forma isolada não apresentaram efetividade para redução da incidência da doença, determinando a necessidade de reavaliação das ações propostas pelo Programa de Controle da Leishmaniose Visceral (PCLV) (BRASIL, 2003).

Tendo em vista as dificuldades de controle da doença, a metodologia proposta para a vigilância e adoção de medidas baseia-se em uma melhor definição das áreas de transmissão ou de risco. Ou seja, nas áreas com transmissão de leishmaniose visceral, após estratificação epidemiológica, as medidas de controle serão distintas e adequadas para cada área a ser trabalhada. Entretanto, é de fundamental importância que as medidas usualmente empregadas no controle da doença sejam realizadas de forma integrada, para que possam ser efetivas (BRASIL, 2003).

Uma vez efetuada a delimitação da área de foco, define-se como espaço de transmissão que poderá ser o local de residência, local de trabalho ou área para onde o paciente tenha se deslocado e em que existam fatores condicionantes de transmissão. Em outras palavras, onde houve relacionamento da população humana local com flebotomíneos transmissores em áreas com modificação do ambiente natural ou onde tenham sido detectados um ou mais casos autóctones.

No estado de São Paulo, observa-se a ocorrência da seguinte condição: transmissão domiciliar com ocorrência de dois ou mais casos na área de foco no período de seis meses. Utilizam-se, então, inseticidas de ação residual como Piretróides, a Deltametrina 2,5% ou Deltametrina 5,0%. O ciclo de borrifação é realizado em todas as unidades domiciliares da área delimitada, do teto ao chão e beirais. Ocorre, portanto, repetição de um novo ciclo a cada mês (até completar seis meses), na condição de ocorrência de novos casos (BRASIL, 2000).

Além disso, outras estratégias preconizadas pela FUNASA incluem: eliminação do maior reservatório, que é o cão doméstico soropositivo, tratamentos e redução de riscos em humanos, captura de animais vadios que podem funcionar

como reservatórios importantes e o principal, combate aos insetos vetores (BRASIL, 2000).

Outra estratégia é o uso de inseticida, aplicado nas paredes de domicílios e abrigos de animais. No entanto, a indicação é apenas para as áreas com elevado número de casos, como municípios de transmissão intensa (média de casos humanos dos últimos 3 anos acima de 4,4), moderada (média de casos humanos dos últimos 3 anos acima de 2,4) ou em surto de leishmaniose visceral (BRASIL, 2020).

Cabe ressaltar que as medidas eficácias preventivas se baseiam em limpar o ambiente que os animais vivem, o quintal, retirar os lixos, entulhos e sujeiras e volta do ambiente.

Medidas que são teoricamente consideradas simples, mas que podem ser claramente preventivas. Em conjunto com as medidas já citadas, funcionam em parceria para redução da proliferação e controle da Leishmaniose Visceral. Com o combate ao inseto transmissor, é possível mantê-lo longe, especialmente com o apoio da população (BRASIL, 2020).

## **METODOLOGIA**

O estudo realizado neste trabalho é oriundo da pesquisa bibliográfica e quantitativa. Pesquisa qualitativa realizada por meio de uma investigação sistêmica dos fenômenos observáveis por meio da coleta de dados digitais, analisados utilizando métodos baseados em técnicas matemáticas, estatísticas ou computacionais.

Foram analisados os casos de atendimentos feitos em uma clínica veterinária, que se submeteram ao teste de leishmaniose e foram constatados como positivos.

A coleta se deu na Clínica Auqmia, no ano de 2020. Os dados foram organizados e analisados no programa *Microsoft office Excel*.

## **RESULTADOS**

Os dados epidemiológicos que compõem este estudo são registros de casos positivos e negativos em uma clínica no município de Manhuaçu-MG, no período compreendido entre janeiro de 2018 a dezembro de 2020. Foram encaminhados um

total de 8 animais suspeitos. Destes, 2 testaram positivo para leishmaniose. Todos foram submetidos ao exame sorológico (ELISA).

Caso 1- Nome Estopinha, 3 anos, macho, raça *Yorkshire*, qual foi diagnosticado com Leishmaniose e Babesiose, em 22/05/2018. O teste utilizado foi o Alere Leishmaniose Ac Test Kit®, para a detecção qualitativa dos anticorpos (IgG), sendo realizado posteriormente os exames Elisa e RIFI com diluição total, para complementar o diagnóstico. Para o tratamento, foram utilizados DOXITRAT®, PREDIDERM®, OXCELL®, RANITIDINA, DOMPERIDONA® e ALOPURINOL®, na segunda fase ANFOTERICINA B®, na terceira fase imunoterapia com vacina LEISH-Tec®.

O paciente retornou para os exames, hemograma, perfil renal, proteínas totais, sorologia e ultrassom. Houve ótima resposta ao tratamento e o animal retorna periodicamente para exames de rotina.

Caso 2- Nome Thor, 5 anos, macho, raça *Pit Bull*, diagnosticado em 08/11/2019, com Leishmaniose o teste utilizado foi o Alere Leishmaniose Ac Test Kit®, qual teve os exames hemograma, PCR quantitativo, Elisa e RIFI com diluição total. Para tratamento foram utilizados DOXITRAT®, PREDIDERM®, OGRAX-3®, RANITIDINA®, DOMPERIDONA® E ALOPURINOL®, na segunda fase MILTEFORAN™, terceira fase imunoterapia com vacina LEISH-Tec®.

O paciente retornou para os exames, hemograma, perfil renal, proteínas totais, sorologia e ultrassom. Respondeu bem ao tratamento, porém desenvolveu cálculo. Acredita -se pelo uso do fármaco ALOPURINOL®. Foi realizada cirurgia para retirada do cálculo e o paciente que retorna periodicamente para exames de rotina.

A terapia com ALOPURINOL® reduz a concentração de ácido úrico na urina, porém aumenta a concentração de xantina. Por ser pouco solúvel, pode ocorrer a precipitação desse metabólito, levando à formação de urólitos. O aumento de xantínúria aumenta de maneira diretamente proporcional à quantidade de purinas na dieta e à dose e frequência de administração do ALOPURINOL® (ULRICH *et al.*, 2008).

## **DISCUSSÃO**

O baixo índice de casos confirmados pode estar relacionado à dificuldade no tratamento, além do grande número de animais assintomáticos e com manifestações inespecíficas. Os sinais clínicos são comuns a outras enfermidades infectocontagiosas que acometem os cães (BRASIL, 2020).

Portanto, especialmente em regiões ou áreas de transmissão estabelecida, o médico veterinário deve solicitar o exame parasitológico ou sorológico para esclarecimento diagnóstico (PEREIRA, 2021).

Entretanto, outros fatores também podem influenciar, como o conhecimento e conscientização da população com relação a doença, sobre as práticas em saúde, identificar que conhecimentos básicos referentes à LV têm as populações com características distintas (BRASIL, 2003).

Torna-se imprescindível que sejam criadas oportunidades para que a população possa ampliar seus conhecimentos e reduzir o risco de exposição à LV. Órgãos responsáveis implementem programas profiláticos, como educação em saúde, melhoria de habitações e saneamento básico, priorizando maior mobilização da população no sentido de despertar a consciência, sensibilizá-la e promover sua participação efetiva no combate à LV (PEREIRA, 2021).

Cabe ressaltar que, em todo o trabalho, foi abordada a importância do reconhecimento precoce. A leishmaniose é considerada um problema de saúde pública no Brasil. Existem, assim, ações para sua vigilância e controle estão regulamentadas pelo Decreto nº 51.838, de 1963. Dentre elas, as direcionadas ao reservatório doméstico tem sido alvo de questionamentos por parte de profissionais médicos veterinários (BRASIL, 1963).

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O presente trabalho mostrou que a leishmaniose está entre as endemias de maior importância em saúde pública no Brasil, devido à sua ampla distribuição pelo território nacional, à ocorrência de formas clínicas graves e às dificuldades referentes tanto ao diagnóstico como ao tratamento. Foi possível observar que existe um baixo número de casos o que pode ter relação com a dificuldade no tratamento e elevado número de animais assintomáticos, além das questões



socioeconômicas. Essas conclusões foram obtidas a partir das análises de dois casos positivos na clínica de Manhuaçu, objeto deste estudo.

## REFERÊNCIAS

ASHFORD, R.W.; DESJEUX, P.; DE RADET, P. Estimation of populations at risk of infection and number of cases of Leishmaniosis. **Parasitol Today**, v.8, n.3, p. 104-105, 1992.

ARENAS, R. **Leishmaniosis: a review**. F1000 Research, v. 6, p. 750, 2017. Disponível em: DOI: 10.12688/f1000research.11120.1. VILELA, M. Leishmaniose. Publicado em 10 set 2013. Disponível em: Acesso em: 07 de abril de 2021.

Alvarenga DG, Escalda PMF, Costa ASV, Monreal MTFD. **Leishmaniose visceral: estudo retrospectivo de fatores associados à letalidade**. Rev. Soc. Bras. Med Trop. [Internet]. 2010 abr. [citado 2020 ago. 6];43(2):194-7. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822010000200017>.

Attar ZJ, Chance ML, El-Safi S, Carney J, Azazy A, El-Hadi M et al. **Latex agglutination test for the detection of urinary antigens in visceral leishmaniasis**. Acta Tropica 2001; 78: 11-6.

BARRAL-NETO, M., CARVALHO, E.M., JOHNSON, W.D. JR. **Leishmaniasis in Bahia, Brazil: evidence that Leishmania amazonensis produce a wide spectrum of clinical disease**. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 1991, 44: 536-546p

CASTRO, E. A.M LUZ, E., TELLES, F.Q., PANDEY, A., BISETO, A., DUNAISKI, M., SBALQUEIRO, I., THOMAZ-SOCCOL, V. **Eco-epidemiological survey of Leishmania (V.) brasiliensis. American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis** in Ribeira Valley River, Paraná State, Brazil. Acta Tropica, 2005, 141-149p.

DIETZE R., BARROS, G.B., TEIXEIRA L, Harris J, FALQUETO A *et al*. **Effect of eliminating seropositive canines on the transmission of visceral leishmaniasis in Brazil**. Clin. Infect. Dis. 1997; 25: 1240-2.

ETTINGER, S.J., FELDEMAN, E.C. **Tratado de Medicina Veterinária Interna – Moléstias do Cão e do Gato**. 4ª ed. São Paulo: Manole, v. 1, 1997

ETTINGER, S.J., FELDEMAN, E.C. **Tratado de Medicina Veterinária Interna – Moléstias do Cão e do Gato**. 3ª ed. São Paulo: Manole, v. 1, 1996.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Manual de Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana**. Brasília/DF, 2000.

FEITOSA, M.M., IKEDA, F.A., LUVIZOTTO, M.C.R., PERRI, S.H.V. **Aspectos clínicos de cães com leishmanioses no Município de Araçatuba** – São Paulo, Brasil. Clínica Médica, 2000, 28: 36-44p

GIUNTINI, D. FILHO., GIUNTINI, G.B. **Artigo sobre leishmaniose visceral canina**. Cotia, São Paulo, 2001. Disponível em: <

[http://www.policlinicaveterinaria.com.br/artigos\\_mostra.asp?id=33](http://www.policlinicaveterinaria.com.br/artigos_mostra.asp?id=33)>. Acesso em: 22 de ago. de 2021

Gontijo CMF, Melo MN. **Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafio e perspectivas**. *Revista Brasileira de epidemiologia*. Scielo, 2004, São Paulo – SP, Brasil.

Guerin PJ, Olliaro P, Sundar S, Boelaert M, Croft SL, Desjeux P *et al*. **Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis and treatment and a proposed research and development agenda**. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 494-501.

IKONOMOPOULOS J., KOKOTAS S., GAZOUL M., ZAVRAS A., STOITSIOUM., GORGOU LIS V.G. Molecular diagnosis of leishmaniasis in dogs. **Comparative application of tradition diagnostic methods and the proposed assay on clinical samples**. *Veterinary Parasitology*, 2003, 113: p. 99-113.

LULICH, J. P.; OSBORNE, C.A.; BARTGES, J. W.; LEKCHAROENSUK. C. **Distúrbios do trato urinário inferior dos caninos**. In: **ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. Tratado de medicina interna veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. v. 2, p. 1841-1877.

MODABBER, F. **Tropical disease research: Progress 1991-1992** eleventh programme report of the UNDP/WHO special Programme for Research (TDR), Geneva, WHO, 1993, p. 77-91.

REY, L. **Parasitologia**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991

Martins-Melo FR, Lima MS, Ramos-Jr AN, Alencar CH, Heukelbach J. **Mortality and case fatality due to visceral leishmaniasis in Brazil: a nationwide analysis of epidemiology, trends, and spatial patterns**. *PLoS One* [Internet]. 2014 Apr [cited 2020 Aug 6];9(4): e93770. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093770>

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. In: **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. Brasília/DF: Ministério da Saúde, 2003, 120p.

MORAES, J.E.R. Leishmaniose Canina [on-line]. **Departamento Patologia Veterinária, UNESP-Jaboticabal**. Setembro de 2003. [cited 15.06.2004]. Disponível em: <[http://www.fcav.unesp.br/departamento/patologia/mat\\_didatico/aula%20leishp%C3%B3s18.pdf](http://www.fcav.unesp.br/departamento/patologia/mat_didatico/aula%20leishp%C3%B3s18.pdf)> Acesso em: 22 de mai. de 2021

Martins-Melo FR, Lima MS, Ramos-Jr AN, Alencar CH, Heukelbach J. **Mortality and case fatality due to visceral leishmaniasis in Brazil: a nationwide analysis of epidemiology, trends and spatial patterns**. *PLoS One* [Internet]. 2014 Apr [cited 2020 Aug 6];9(4): e93770. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093770>

MARCONATO, SILVIA. **Leishmaniose: Tratamento e Prevenção**. Núcleo Educacional Científico. São Paulo: Acessória Médica Fleury, 2007. Disponível em:

<<http://www.fleury.com.br/Clientes/SaudeDia/Doencas/Pages/Leishmaniose.aspx>>  
Acesso em: 7 de ago. de 2008.

NEVES, D.P., MELO, A.L., GENARO, O., LINARDI, P.M. **Parasitologia Humana**. 89º ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1995.

NOTÍCIAS, AGÊNCIA, 2021. <https://www.camara.leg.br/noticias/802561-comissao-debate-a-incidencia-da-leishmaniose-no-brasil/>. Acesso em 20 de setembro de 2021.

ORGANISATION MONDIAL DE LA SANTÉ. Lutte contre lês leishmanioses. **Serie de repports techniques**. Geneve: OMS, 1990, 176p.

OLIVEIRA *et al.* Leishmaniose tegumentar americana no município de Jussara, estado do Paraná, Brasil: série histórica de 21 anos. **Revista de Saúde Pública do Paraná, Londrina**, v.17, n.2, p. 59-65, dez. 2016. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/espacoparasaude/article/view/25728/4>. Acesso em: 07 de abril 2021.

ORGANISATION MONDIAL DE LA SANTÉ. Lutte contre lês leishmanioses. **Serie de repports techniques**. Geneve: OMS, 1990, 176p.

**Organização Pan-Americana de Saúde - OPAS. Leishmanioses: informe epidemiológico das Américas. Report n. 6.** [Internet]. Brasília: Organização Pan-Americana de Saúde; 2018 [citado 2020 ago. 6]. Disponível em: <https://www.paho.org/leishmaniasis> » <https://www.paho.org/leishmaniasis>

Ortiz RC, Anversa L. **Epidemiologia da leishmaniose visceral em Bauru, São Paulo, no período de 2004 a 2012: um estudo descritivo**. Epidemiol Serv Saúde [Internet]. 2015 jan-mar [citado 2020 ago. 6];24(1):97-104. Disponível em: <https://doi.org/10.5123/S1679-49742015000100011>.

Organização Pan-Americana de Saúde - OPAS. **Leishmanioses: informe epidemiológico das Américas. Report n. 6.** [Internet]. Brasília: Organização Pan-Americana de Saúde; 2018 [citado 2020 ago. 6]. Disponível em: <https://www.paho.org/leishmaniasis> » <https://www.paho.org/leishmaniasis>

Organização Pan-Americana da Saúde <http://www.paho.org> OPAS/OMS, 2019

PALATINICK de Souza CB, GOMES, E.M, Paraguai de Souza E, PALATINICK M, Luz KG, Borojevic R. **Leishmania donovani : titration of antibodies to the fucose-manose ligand as an aid in diagnosis and prognosis of visceral leishmaniasis**. Trans R Soc Trop Med Hyg 1995; 89: 390-3.

PALATNIK DE SOUZA, C.B. In: The FML-vaccine: **a second-generation candidate for vaccination against murine and canine visceral leishmaniasis**. In: Report of the Fourth TDR/IDRI meeting on Second Generation Vaccines against Leishmaniasis. Meeting Report. Pp:10 UNDP/World Bank/WHO Special Program for Research and Training in Tropical Diseases (TDR), 2001. Disponível em: <[PEREIRA, Barreto. \*\*Doenças infecciosa m Animais de Produção e de Companhia\*\*.2021](http://www.leishmune.com.br/download/manual/manualeishmune.pdf>windowinterne t</a>> Acesso em: 24 de ago. de 2021.</p></div><div data-bbox=)

REGO, M.A.V. **Historical issues in case-control studies** Cad. Saúde Pública, v.17, p.1017-1024, 2001.

SAÚDE, MINISTERIO, 2020. <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/leishmaniose-visceral> Acesso em 24 de setembro de 2021.

VILELA, M. **Leishmaniose**. Publicado em 10 set 2013. Disponível em: <https://agencia.fiocruz.br/leishmaniose>. Acesso em: 07 de Abril de 2021. Martins-Melo FR, Lima MS, Ramos-Jr AN, Alencar CH, Heukelbach J. **Mortality and case fatality due to visceral leishmaniasis in Brazil: a nationwide analysis of epidemiology, trends and spatial patterns**. PLoS One [Internet]. 2014 Apr [cited 2020 Aug 6];9(4): e93770. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093770>

Vinayak VK, Mahajan D, Sobti RC, Singla N, Sundar S. **Anti-66kDa anti-leishmanial antibodies as specific immunodiagnosis probe for visceral leishmaniasis**. Indian J Med Res 1994; 99: 109-14.

Vinayak VK, Mahajan D, Sobti RC, Singla N, Sundar S. **Anti66kDa anti-leishmanial antibodies as specific immunodiagnosis probe for visceral leishmaniasis**. Indian J Med Res 1994; 99: 109-14.

VILLEGAS. T. J; FERREIRA. F. **Fatores de risco de Leishmaniose Visceral em cães no município de Panorama, estado se São Paulo, SP, Brasil**. 2015. 65f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Veterinária) – Universidade de São Paulo, São Paulo

WEKHAUSER, M. **Prevenção**. Clínica Veterinária, v. 49, 21p, 2004.

# AVALIAÇÃO ELETROCARDIOGRÁFICA E VHS EM CÃES DA RAÇA LULU DA POMERÂNIA

**Acadêmicas:** Isabella Ataídes Nogueira e Mariana Silva Felipe

**Orientadora:** Mayara Cristini Ferreira de Aguiar.

## RESUMO

A maioria das cardiopatias ocorre devido à alterações na válvula mitral que tem como consequência o remodelamento cardíaco. O eletrocardiograma (ECG) é um método de diagnóstico que se destaca por sua facilidade de execução, e é utilizado para avaliação de arritmias e distúrbios de condução elétrica do coração. Por outro lado, exames radiográficos possibilitam a avaliação da silhueta cardíaca, e o método Vertebral Heart Size (VHS) proposto por Buchanan e Bücheler (1995) prevê uma boa correlação entre o tamanho do coração e o comprimento do corpo do animal, independente da conformação do tórax, tornando a mensuração cardíaca mais precisa. Os estudos de Jepsen-Grant, Pollard e Johnson (2013) apresentam o valor médio do VHS, para a raça Lulu da Pomerânia, consideravelmente superior ao proposto por Buchanan como padrão para cães. Já Kumar, Dey e Mahajan (2014) constataram uma maior incidência de arritmia nessa raça durante o eletrocardiograma. O presente trabalho objetivou avaliar o padrão de VHS e ECG em cães da raça Lulu da Pomerânia. Foram selecionados 23 cães da raça Lulu da Pomerânia independente do sexo, provenientes de um canil situado na cidade de Governador Valadares, com idade entre 1 e 7 anos. Os animais foram submetidos a exame eletrocardiográfico e, posteriormente, à radiografia torácica, ambos realizados no Hospital Veterinário da Faculdade Vértice - UNIVÉRTIX. Em 69,56% dos animais avaliados, a onda P foi maior que 0,04 segundos, e 34,78% dos animais apresentaram a amplitude da onda T superior a 25% da amplitude de R. O valor médio do VHS foi de  $10,5 \pm 0,6$  vértebras na projeção lateral, sendo o valor mínimo encontrado igual a 9,3 vértebras e o máximo igual a 11,5.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cardiologia em cães, diagnóstico por imagem, Spitz Alemão, avaliação cardiológica.

**LINHA DE PESQUISA:** Clínica e Cirurgia Animal – Diagnóstico por Imagem.

## INTRODUÇÃO

As cardiopatias são frequentes na rotina clínica de pequenos animais, principalmente em raças de pequeno porte e representam grande parte das causas de morbidade e mortalidade em cães. Estima-se que 10% dos atendimentos são devidos à doença cardíaca (HOQUE *et al.*, 2019), e a maioria ocorre devido à alterações na válvula mitral (KEENE *et al.*, 2019) que tem como consequência o remodelamento desse órgão (NELSON; COUTO, 2010).

Dentre os métodos de diagnóstico direcionados à avaliação cardíaca, o Eletrocardiograma (ECG) destaca-se por sua facilidade de execução (GOODWIN;

TILLER, 2002). Essa técnica é utilizada para avaliar a integridade cardiovascular, possibilitando o diagnóstico de arritmias e distúrbios de condução elétrica do coração (DE ANDRADE; AGUIAR, 2020). Por outro lado, exames radiográficos possibilitam a avaliação da silhueta cardíaca e sua mensuração quantitativa. Visando excluir subjetividade por parte do observador, o método Vertebral Heart Size (VHS) proposto por Buchanan e Bücheler (1995) prevê que há uma boa correlação entre o tamanho do coração e o comprimento do corpo do animal, independentemente da conformação do tórax, tornando a avaliação do aumento cardíaco mais precisa.

Estudos realizados por Jepsen-Grant, Pollard e Johnson (2013) apresentam o valor médio do VHS para a raça Lulu da Pomerânia consideravelmente superior ao proposto por Buchanan como padrão para cães. Já Kumar, Dey e Mahajan (2014) constataram uma maior incidência de arritmia nessa raça durante o eletrocardiograma. Além disso, esses cães sofrem de cardiopatias congênitas, como a persistência do ducto arterioso, e adquiridas, como doença valvar degenerativa (WARE, 2010), além de ser descrita a predisposição ao colapso de traqueia (SANCHES, 2017).

Tendo em vista a variabilidade dos valores de VHS na raça Lulu da Pomerânia e a alta ocorrência de arritmias e cardiopatias descritas nessa raça, somadas à escassez de trabalhos direcionados à essas avaliações, o presente trabalho objetivou avaliar o padrão de VHS e ECG em cães da raça Lulu da Pomerânia.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **CARDIOPATIAS NO LULU DA POMERÂNIA**

A raça Spitz Alemão é a mais antiga da Europa Central, e sua variação Toy Spitz é conhecida como “Pomerânia” em diversos países (FCI, 2019), sendo denominada Lulu da Pomerânia no Brasil. Por se tratar de uma raça de pequeno porte, não é incomum a descrição da ocorrência de cardiopatias nesses cães. Nelson e Couto (2010) descreveram a incidência da persistência do ducto arterioso (PDA) e da valvopatia atrioventricular degenerativa nessa raça, doenças que cursam com alterações cardiovasculares significativas.

A PDA é a falha do fechamento do ducto arterioso devido a histologia anormal de sua parede, fazendo com que o sangue desvie da aorta para a artéria pulmonar

causando uma sobrecarga de volume da circulação pulmonar (NELSON; COUTO, 2010).

A valvopatia atrioventricular degenerativa (ou endocardiose) acomete principalmente a valva mitral, porém também pode ocorrer a degeneração da valva tricúspide e, em cães idosos, até mesmo das valvas aórtica e pulmonar. A causa é desconhecida, entretanto acredita-se que pode ter origem hereditária, além de ter maior prevalência em cães idosos e de raças de pequeno porte. As alterações das valvas se iniciam com lesões nodulares que se tornam placas maiores, distorcendo a estrutura da valva. Essas alterações são descritas como degeneração mixomatosa, e cursam com insuficiência valvar (regurgitação) que gera uma sobrecarga de volume, causando o remodelamento atrial e ventricular no lado da valva afetada (NELSON; COUTO, 2010).

Devido às alterações na forma e função do coração decorrentes das cardiopatias, faz-se imprescindível o diagnóstico precoce dessas doenças a fim de evitar o remodelamento significativo desse órgão. Além disso, o diagnóstico precoce de cardiopatias congênitas é de suma importância para o sucesso terapêutico e controle de malformações cardiovasculares hereditárias (JERICÓ; KOGIKA; DE ANDRADE NETO, 2015).

## **EXAMES CARDIOLÓGICOS**

Várias são as ferramentas diagnósticas para a avaliação cardiológica, mas podemos destacar a aferição da pressão arterial sistólica, o ecocardiograma, o eletrocardiograma e a radiografia torácica como os métodos mais utilizados na clínica de pequenos animais.

### Pressão Arterial Sistólica

O mecanismo compensatório da maioria das cardiopatias inclui o aumento da pressão arterial por ativação do Sistema Renina Angiotensina Aldosterona (NELSON; COUTO, 2010). A pressão arterial (PA) pode ser mensurada pelo monitoramento direto, em que se usa um cateter arterial conectado a um transdutor de pressão, ou pelo método indireto, utilizando medidores externos como o oscilométrico, o fotopletoislográfico e o ultrassônico por Doppler. Embora a mensuração direta seja considerada padrão-ouro para monitorar a PA, sua aplicação na rotina clínica é limitada, pois requer equipamento especializado e apresenta

riscos de infecção, formação de êmbolos e hemorragia, o que torna mais frequente a preferência por medidores externos (BOSIACK, 2010).

Segundo a American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM), a pressão sanguínea deve obedecer às seguintes recomendações em todos os pacientes: conter o animal em uma posição confortável, de preferência em decúbito ventral ou lateral; a largura do manguito deve ser de aproximadamente entre 30% e 40% da circunferência do local onde o manguito será posicionado; o manguito pode ser colocado em um membro ou na cauda; o mesmo indivíduo deve realizar todas as medidas de PA seguindo um protocolo padrão; as medidas devem ser realizadas apenas com o paciente calmo e imóvel; a primeira medição deve ser descartada, e um total de 5 a 7 valores consistentes consecutivos devem ser registrados; em caso de dúvida, repetir a medição; manter os registros em um formulário incluindo a pessoa que faz as medições, o tamanho e o local do manguito, os valores obtidos, a justificativa para a exclusão de quaisquer valores, o resultado final (médio) e a interpretação dos resultados por um veterinário (ACIERNO, 2020).

Além das causas cardíacas, outros fatores como nefropatias, hiperadrenocorticismo, hipertireoidismo, dieta com alto teor de sal, diabetes mellitus, hepatopatias e obesidade também podem alterar a pressão arterial (WARE, 2010), o que torna necessária a realização de outros exames cardiológicos.

### Ecocardiograma

O ecocardiograma (ECO) é uma ferramenta diagnóstica não invasiva que utiliza feixes de ultrassom para a formação da imagem, permitindo a observação das estruturas cardíacas. Esse exame permite a determinação de tamanho das câmaras cardíacas bem como da massa ventricular, a observação da estrutura das valvas, além da avaliação hemodinâmica pelo método Doppler. O ecocardiograma transtorácico convencional completo (ETT) inclui as imagens bidimensionais e em modo M (JERICÓ; KOGIKA; DE ANDRADE NETO, 2015).

O modo M (unidimensional) representa a profundidade, sendo utilizado para medir os diâmetros das câmaras e a espessura das estruturas cardíacas. Por utilizar uma alta frequência, possibilita avaliar estruturas em movimento, como as válvulas cardíacas, e detectar vibrações de alta frequência (JERICÓ; KOGIKA; DE ANDRADE NETO, 2015).



O modo B (de brilho) permite uma visão anatômica do coração e da morfologia cardíaca, sendo muito útil no diagnóstico de anomalias congênitas, pois permite a visualização das diversas estruturas cardíacas. É nesse modo que se inicia o exame, e a partir dele se aplicam as demais modalidades (modo M, Doppler) (JERICÓ; KOGIKA; DE ANDRADE NETO, 2015).

O método de Doppler é utilizado para determinar a velocidade do fluxo sanguíneo nas diferentes câmaras cardíacas, utilizando a diferença entre a frequência da onda emitida pelo transdutor ultrassônico e a frequência recebida do movimento das hemácias. A análise do fluxo cardíaco é feita pela avaliação das variações das velocidades em áreas selecionadas na imagem bidimensional (variedade pulsátil) ou ao longo de um eixo (variedade contínua) (JERICÓ; KOGIKA; DE ANDRADE NETO, 2015).

A ecocardiografia, apesar de ser o exame considerado padrão-ouro na avaliação cardíaca, possui custo elevado e requer equipamento específico e profissional treinado. Sendo assim, a radiografia de tórax associada às técnicas de mensurações cardíacas se apresenta como alternativa mais acessível para diagnóstico de remodelamento cardíaco associado a doenças valvares.

### Eletrocardiograma

Esse exame registra a diferença elétrica nas diferentes partes do coração durante o deslocamento do potencial de ação no miocárdio, constitui-se em um dos exames mais utilizados na rotina clínica por se tratar de um método diagnóstico de baixo custo, além de ser não invasivo (JERICÓ; KOGIKA; DE ANDRADE NETO, 2015). É indicado em diversas situações, como no diagnóstico de arritmias, avaliação do tamanho das câmaras cardíacas, avaliação de distúrbios eletrolíticos (hiperpotassemia, hipopotassemia, hipercalcemia, hipocalcemia) e em pacientes com histórico de síncope, convulsões ou intolerância ao exercício. O resultado do exame consiste na avaliação da frequência e ritmo cardíacos e na mensuração das ondas P e T, do complexo QRS e dos intervalos P-R e Q-T (JERICÓ; KOGIKA; DE ANDRADE NETO, 2015).

O traçado eletrocardiográfico é obtido pela diferença de carga elétrica produzido no músculo cardíaco dado em voltagem, sendo mensurado na superfície corporal, e cada segmento corresponde a uma área do coração: onda P representa a despolarização atrial, o complexo QRS representa despolarização ventricular e a

onda T representa a repolarização ventricular. A forma da onda indica a atividade elétrica atrial e ventricular, já as amplitudes das ondas e a duração dos intervalos indicam a atividade do sistema de condução (JERICÓ; KOGIKA; DE ANDRADE NETO, 2015).

A posição dos eletrodos no corpo constitui as derivações, sendo elas as bipolares I, II e III, as unipolares aumentadas avR, avL e avF e as precordiais unipolares CV5RL (rV2), CV6LL (V2), CV6LU (V4) e V10. A deflexão positiva ocorre quando a onda de despolarização segue em direção ao eletrodo positivo, e a negativa quando a onda de despolarização se afasta do eletrodo positivo, sendo isoelétrica quando é perpendicular à linha que liga os dois eletrodos (JERICÓ; KOGIKA; DE ANDRADE NETO, 2015).

Kumar, Dey e Mahajan (2014) realizaram um estudo com 374 cães em Bareilly, na Índia, com o objetivo de investigar arritmias cardíacas, relacionadas à raça, idade e sexo. De acordo com os autores, a incidência de arritmias foi maior na raça Pomerânia, assim como o risco relativo. Esse achado evidencia a importância de estudos mais aprofundados voltados para avaliação eletrocardiográfica nesses cães.

### Radiografia Torácica e VHS

A radiografia da cavidade torácica é de suma importância na avaliação de doenças cardíacas, possibilitando a mensuração do tamanho e forma do coração, além de permitir a avaliação das estruturas adjacentes que sofrem alterações no decorso das cardiopatias, como o pulmão, brônquios, veias e artérias. A realização periódica desse exame permite monitorar a evolução da cardiopatia bem como a sugestão do prognóstico do animal (JERICÓ; KOGIKA; DE ANDRADE NETO, 2015).

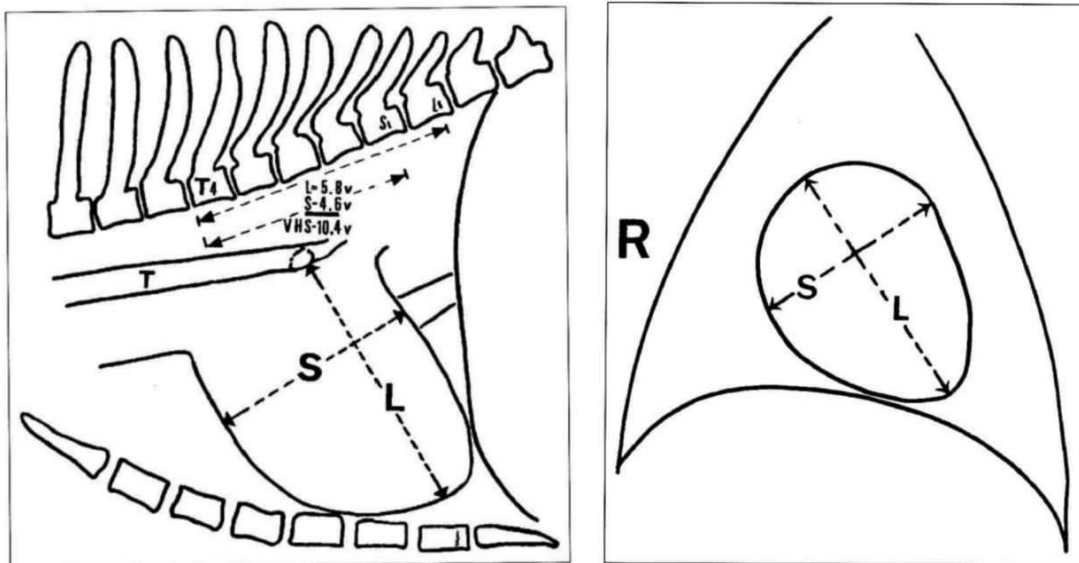
O exame radiográfico deve ser realizado em pelo menos duas incidências radiográficas ortogonais, uma laterolateral (LL) e uma dorsoventral (DV) ou ventrodorsal (VD), preferencialmente no pico inspiratório, visto que há maior contraste e melhor visibilidade das estruturas devido ao preenchimento completo de ar nos pulmões. A radiografia torácica deve incluir desde a porção cranial à primeira costela até a região caudal à primeira vértebra lombar, com curto tempo de exposição e alta quilovoltagem (kV) (JERICÓ; KOGIKA; DE ANDRADE NETO, 2015).

A projeção LL é obtida com o animal em decúbito lateral, tracionando os membros torácicos cranialmente, de modo que fiquem paralelos entre si. O esterno deve estar paralelo às vértebras torácicas, um pouco elevado em relação à mesa, e o pescoço deve ficar estendido para evitar o deslocamento da traquéia. O feixe deve ser centralizado no quinto espaço intercostal, de preferência na incidência lateral direita (JERICÓ; KOGIKA; DE ANDRADE NETO, 2015).

Na projeção DV, deve-se posicionar o animal em decúbito ventral, com o esterno centralizado e sobreposto às vértebras torácicas. Os membros torácicos devem ser tracionados cranialmente, e os cotovelos lateralizados (abduzidos). Os membros pélvicos ficam fletidos (posição de agachamento) e a cabeça posicionada entre os membros torácicos. O feixe deve ser centralizado sobre o quinto espaço intercostal, ao nível da borda caudal da escápula. Para a projeção VD, o animal é posicionado em decúbito dorsal, com os membros torácicos tracionados cranialmente e a cabeça mantida entre eles. O esterno deve incidir sobre as vértebras torácicas (JERICÓ; KOGIKA; DE ANDRADE NETO, 2015).

A mensuração cardíaca é uma ferramenta que auxilia no prognóstico de animais cardiopatas permitindo a avaliação do grau de remodelamento cardíaco nesses pacientes. O método vertebral heart size (VHS) proposto por Buchanan e Bücheler (1995) visa tornar essa mensuração menos subjetiva, através da comparação do tamanho do coração com o comprimento dos corpos vertebrais.

Nas incidências radiográficas laterais, o eixo longo do coração é medido da borda ventral do brônquio principal esquerdo até a borda ventral mais distante do ápice cardíaco, representando o tamanho do átrio e do ventrículo esquerdos juntos. Essa medida então é reposicionada sobre a coluna torácica a partir da borda cranial de T4, e o valor é dado em unidade de vértebras (FIGURA 1). O eixo curto é obtido na maior largura na região do terço central, na altura da cava caudal, perpendicular ao eixo longo, e posteriormente posicionado da mesma forma a parte de T4. As dimensões do eixo curto e longo são então somadas e tamanho total do coração é expresso como unidades totais de vértebras. Nas incidências DV e VD, os eixos longo e curto máximos do coração são determinados de forma semelhante à projeção lateral (BUCHANAN; BÜCHELER, 1995).



**Figura 1:** Método proposto por Buchanan e Bücheler, projeções laterolateral e ventrodorsal ou dorsoventral. L = eixo maior do coração; S = eixo menor do coração; T<sub>4</sub> = quarta vértebra torácica; T = traquéia.

**Fonte:** BUCHANAN; BÜCHELER, 1995.

Segundo os estudos dos autores supracitados, o tamanho, profundidade e largura do tórax não influenciaram na correlação entre o tamanho do coração e o comprimento vertebral, bem como o sexo e o decúbito lateral direito ou esquerdo. Da mesma forma, Sleeper e Buchanan (2001) observaram que os valores do VHS em filhotes se encontram dentro do intervalo proposto como padrão para adultos, permanecendo inalterado à medida que o animal se desenvolve.

Por outro lado, Jepsen-Grant, Pollard e Johnson (2013) demonstraram o valor do VHS para a raça Lulu da Pomerânia de  $10,5 \pm 0,9$ , significativamente maior do que o valor de  $9,7 \pm 0,5$  proposto por Buchanan e Bücheler (1995) como padrão para cães. Esse achado demonstra a importância da padronização dos valores de VHS específicos para determinadas raças, principalmente aquelas mais propensas a cardiopatias, como é o caso do Lulu da Pomerânia.

Guglielmini *et al.* (2009) demonstraram que cães com doença valvar mixomatosa têm maior VHS. Já Soares, Larsson e Pinto (2004) observaram que as alterações radiográficas crescem de acordo com o desenvolvimento da insuficiência cardíaca. Assim sendo, o conhecimento do tamanho normal do coração permite a avaliação do prognóstico nos pacientes cardiopatas.

## **METODOLOGIA**

Foram selecionados 23 cães da raça Lulu da Pomerânia independente do sexo, provenientes de um canil situado na cidade de Governador Valadares, com idade entre 1 e 7 anos. A fim de atestar ausência de cardiopatia, realizou-se o exame físico antes da realização dos exames de imagem. Os animais foram submetidos a exame eletrocardiográfico e, posteriormente, à radiografia torácica, ambos realizados no Hospital Veterinário da Faculdade Vértice - UNIVÉRTIX.

O exame eletrocardiográfico foi realizado com o aparelho InCardio e as medidas eletrocardiográficas foram obtidas pelo software InCardio DUO. Os animais foram posicionados em decúbito lateral direito, sobre superfície emborrachada, e os eletrodos posicionados conforme as recomendações padronizadas por Tilley (1992). Padronizou-se o período mínimo de 3 minutos de gravação, analisando as derivações uni e bipolares (DI; DII; DIII; aVR, aVL, aVF) e a mensuração das ondas, complexos e intervalos. Os valores foram comparados com os de referência (SANTILLI, 2020).

Para determinação do VHS, foram realizadas radiografias torácicas em decúbito lateral direito visando maior pico inspiratório para obter maior contraste das estruturas da cavidade torácica, conforme proposto por Buchanan e Bücheler (1995). O eixo longo do coração foi medido a partir da borda ventral do brônquio principal esquerdo até o ponto mais distante do contorno ventral do ápice cardíaco, medida que representa a soma dos tamanhos do átrio e ventrículo esquerdos. Essa medida então foi reposicionada sobre as vértebras torácicas iniciando a partir da borda cranial da T4. O eixo curto foi obtido no maior eixo do terço central do coração, na altura da cava caudal, em uma linha perpendicular ao eixo longo. Em seguida foi reposicionado da mesma maneira começando a partir da borda cranial de T4. Essas medidas foram transformadas em valores de unidade de vértebras, sendo então somados para se obter o VHS.

Os valores referentes ao eletrocardiograma foram organizados em uma planilha utilizando o programa *Microsoft Office Excel* 2010 e submetidos a análise descritiva. Compararam-se os resultados do VHS obtidos nesse trabalho com os valores obtidos de várias raças por Buchanan e Bücheler (1995).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

### ELETROCARDIOGRAMA

A Tabela 1 representa os valores médios obtidos na eletrocardiografia computadorizada.

**Tabela 1.** Valores médios obtidos em derivação II por eletrocardiografia computadorizada em cães adultos da raça Lulu da Pomerânia.

Parâmetros eletrocardiográficos	Média ( $\pm$ desvio padrão)	Varição (mín. – máx.)
Frequência cardíaca (bpm)	87,5 ( $\pm$ 18,3)	46 - 132
Duração de P (s)	0,042 ( $\pm$ 0,003)	0,034 - 0,050
Amplitude de P (mV)	0,227 ( $\pm$ 0,07)	0,08 - 0,35
Intervalo P-R (s)	0,085 ( $\pm$ 0,010)	0,066 - 0,112
Duração do QRS (s)	0,054 ( $\pm$ 0,0025)	0,046 - 0,058
Amplitude de R (mV)	1,117 ( $\pm$ 0,35)	0,47 - 1,85
Intervalo Q-T (s)	0,206 ( $\pm$ 0,013)	0,168 - 0,222
Segmento S-T (s)	1,07 ( $\pm$ 0,012)	0,076 - 0,124
Amplitude de T (mV)	0,234 ( $\pm$ 0,13)	0,07 - 0,53
Eixo elétrico QRS (graus)	60,22 ( $\pm$ 24,54)	7 - 96

**Legenda:** bpm – batimentos por minuto; s – segundos; mV – milivolts; mín. – valor mínimo; máx. – valor máximo. Para o cálculo dos valores médios e da variação da amplitude da onda T não foi levada em consideração a polaridade da onda, sendo todos os valores considerados positivos, para fins de determinação da magnitude da onda.

**Fonte:** Elaborado pelos autores.

Um animal (4,35%) apresentou bloqueio atrioventricular (BAV) de 2° grau tipo I atípico. Esse achado caracteriza uma interrupção da condução atrioventricular, que pode ocorrer fisiologicamente, devido ao alto tônus vagal, ou ser patológico, e é caracterizado por um intervalo PQ de duração variável que não altera o segundo batimento após a onda P bloqueada e por ausência de encurtamento do intervalo R-R antes do bloqueio (SANTILLI, 2020). O animal em questão não apresentou demais alterações eletrocardiográficas que justificassem esse achado. Por não haver alterações clínicas ou radiográficas significativas, esse animal não foi excluído da amostra.

#### Ritmo

A média da frequência cardíaca foi aproximadamente  $87 \pm 18,3$  batimentos por minuto. A maioria (52,17%) dos animais apresentou arritmia sinusal respiratória, sendo 66,67% destes associados a marcapasso migratório, e os demais animais (47,83%) apresentaram ritmo sinusal, 18,18% destes associados a marcapasso migratório. Segundo Santilli (2020), a arritmia sinusal respiratória é o ritmo mais comum nos cães devido às influências do sistema parassimpático, e ocorre mais comumente em frequência cardíaca normal (60 - 160 bpm).

Kumar, Dey e Mahajan (2014) constataram uma maior incidência de arritmia na raça estudada durante o exame eletrocardiográfico, porém nenhum dos animais desse estudo apresentou ritmo anormal. Segundo os autores, a maior incidência de arritmias nessa raça nos seus estudos e em outros estudos na Índia pode estar relacionada ao maior número desses cães devido à preferência das pessoas por essa raça em comparação às outras.

### Onda P

A média da duração (s) de P foi de  $0,042 \pm 0,003$ , sendo o valor mínimo 0,034 e o máximo 0,050. De acordo com Santilli (2020), a duração normal da onda P é menor que 0,04 segundos, entretanto 69,56% dos animais apresentaram onda P superior a esse valor. Segundo o autor, o aumento da duração de P está relacionado ao aumento do átrio esquerdo, porém nenhum dos animais apresentou outras alterações compatíveis com remodelamento cardíaco.

Vailati *et al.* (2009) realizaram estudos com a raça Boxer e associaram a variabilidade da duração dessa onda com as medidas corpóreas, o que justificaria o aumento na duração observado por Cardoso *et al.* (2013) na raça American Pit Bull Terrier. Entretanto, estudos realizados com a raça Pinscher Miniatura por Matos (2016) também observaram a duração de P maior que 40 milissegundos.

Gava *et al.* (2011) observaram que a duração da onda P difere entre os métodos convencional e computadorizado, sendo maior no segundo método em comparação com o primeiro. Isso justifica o aumento da duração observado nesse estudo e nos demais estudos realizados com o método computadorizado. A amplitude de P, por sua vez, apresentou-se de acordo com os valores de referência.

### Onda T

A Tabela 2 representa a variação de polaridade da onda T e sua relação com a onda R. A maioria dos animais (60,87%) apresentaram configuração negativa, sendo positiva em 34,78% e bifásica em 4,35%. Todas as três configurações são descritas como normais na espécie canina (SANTILLI, 2020).

**Tabela 2.** Características da onda T em derivação II por eletrocardiografia computadorizada em cães adultos da raça Lulu da Pomerânia

Característica da onda T	Número absoluto	Porcentagem (%)
Positiva e menor que 25% de R	8	34,78
Negativa e menor que 25% de R	6	26,09
Negativa e maior que 25% de R	8	34,78
Bifásica	1	4,35

**Fonte:** Elaborado pelos autores.

Em 34,78% dos animais a onda T ultrapassou 25% da amplitude de R, contrariando o descrito em medicina veterinária de que animais saudáveis têm a amplitude da onda T sempre inferior a 25% da amplitude da onda R (SANTILLI, 2020; TILLEY; SMITH JUNIOR, 2008). O aumento da onda T pode ocorrer devido a distúrbios na condução interventricular, hipóxia miocárdica, dilatação ventricular, distúrbios eletrolíticos, toxicidade por fármacos, anemias, febre, doença neurológica ou hipoglicemia (TILLEY; SMITH JUNIOR, 2008), porém em nenhum animal a amplitude excedeu o valor de 1 mV, tido como limite superior para cães (SANTILLI, 2020). No caso de distúrbios de condução, outros parâmetros também estariam alterados, como o intervalo PR, duração do QRS e intervalo ST, visto que eles representam o perfil de condução elétrica no coração (SANTILLI, 2020). Entretanto, todos esses parâmetros apresentaram-se dentro dos valores de referências para cães conforme Santilli (2020) (TABELA 1), excluindo-se a probabilidade de distúrbios de condução elétrica cardíaca.

Sabino (2017) observou em seu estudo que 30% dos animais avaliados também demonstraram amplitude da onda T superior a um quarto da amplitude da onda R. De acordo com o autor, esse achado apenas se relacionou positivamente com a amplitude de P, não havendo relação com o peso corporal ou outros parâmetros eletrocardiográficos. Matos (2016) também observou a amplitude de T superior a 25% de R em 35% dos animais avaliados, tanto em animais sadios quanto em animais com regurgitação sistólica mitral. Nenhum dos cães avaliados no presente estudo apresentou alterações que justificassem esses achados. São necessários estudos mais aprofundados em trabalhos futuros acerca da importância da amplitude da onda T e seu impacto clínico.

### Eixo Elétrico QRS

Cinco animais (21,74%) apresentaram desvio à esquerda do eixo QRS. Essa alteração pode indicar aumento ventricular ou distúrbios na condução, bem como erro no posicionamento dos eletrodos ou dos membros (WARE, 2010; SANTILLI, 2020). Cardoso *et al.* (2013) observaram desvio do eixo à esquerda em três cães da



raça American Pit Bull Terrier, sendo o escore corporal 2 a única característica comum desses animais. Entretanto, todos os animais do presente estudo com desvio do eixo apresentaram escore corporal >5. Não foram observadas demais alterações eletrocardiográficas que justificasse esse achado.

## **RADIOGRAFIA TORÁCICA**

A análise subjetiva da silhueta cardíaca não mostrou alterações morfológicas em nenhum dos animais analisados nesse estudo.

O valor médio do VHS obtido foi de  $10,5 \pm 0,6$  vértebras na projeção lateral, sendo o valor mínimo encontrado igual a 9,3 vértebras e o máximo igual a 11,5. Buchanan e Bücheler (1995) observaram em seus estudos o valor mínimo de 8,5v e máximo de 10,6. No presente estudo, 86,96% dos animais apresentaram o valor do VHS superior ao valor médio proposto por Buchanan e Bücheler (1995), de 9,7v, sendo que 43,5% animais tiveram valores acima do limite superior proposto por eles. Dessa forma, os valores propostos por esses autores não podem ser aplicados a cães da raça Lulu da Pomerânia.

Jepsen-Grant, Pollard e Johnson (2013) obtiveram o valor médio de  $10,5 \pm 0,9$  vértebras, sendo o valor mínimo encontrado por eles igual a 9,6v e o máximo igual a 11,4v, valores muito semelhantes ao presente estudo. Em cães com escore corporal 1-5 (43,48%), o valor médio do VHS foi de  $10,2 \pm 0,5$  vértebras, comparado ao valor de  $10,16 \pm 0,95$  observado por Jepsen-Grant, Pollard e Johnson (2013). Em cães com escore corporal 6-9 (56,52%), observou-se a média de  $10,7 \pm 0,5v$  no presente estudo, comparada a média de  $10,82 \pm 0,68v$  descrita nos estudos de Jepsen-Grant, Pollard e Johnson (2013). A influência do escore corporal no VHS deve-se à inclusão de gordura pericárdica durante a mensuração cardíaca, porém os autores não observaram diferença significativa no VHS entre cães com escore corporal baixo ou alto visto que, embora o VHS estivesse correlacionado com escore corporal, era uma correlação muito fraca e considerada improvável de ter significância clínica.

Em estudos com a raça Yorkshire Terrier, Castro *et al.* (2011) observaram o valor médio do VHS igual a 9,9 vértebras. Já Pinto e Iwasaki (2001) obtiveram a média de 10,12 vértebras em estudos com cães da raça Poodle clinicamente normais. Dessa forma, é possível inferir que, mesmo em cães de mesmo porte, como é o caso das raças Yorkshire, Poodle e Pomerânia, é possível observar

variações do valor médio do VHS, o que exprime a importância da padronização racial desse parâmetro.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os cães da raça Lulu da Pomerânia apresentam valores eletrocardiográficos semelhantes aos obtidos em outras raças pelo método computadorizado. A maior duração da onda P deve ser investigada, visto que se apresentou aumentada no presente estudo e em estudos com outras raças que utilizaram o mesmo método eletrocardiográfico, bem como a relação entre a onda T e a onda R. Sugere-se o valor médio de 10,5 unidades vertebrais para o VHS.

## REFERÊNCIAS

ACIERNO, M. J. *et al.* ACVIM Consensus Statement: Guidelines For The Identification, Evaluation, And Management Of Systemic Hypertension In Dogs And Cats. **Journal of Japanese Association of Veterinary Nephrology and Urology**, Tokyo, v. 12, n. 1, p. 30-49, jul., 2020.

BOSIACK, A. P. *et al.* Comparison Of Ultrasonic Doppler Flow Monitor, Oscillometric, And Direct Arterial Blood Pressure Measurements In Ill Dogs. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, San Antonio, v. 20, n. 2, p. 207-215, abr., 2010.

BUCHANAN, J. W.; BÜCHELER, J. Vertebral Scale System To Measure Canine Heart Size In Radiographs. **Journal American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 206, p. 194-194, 1995.

CARDOSO, M. J. L. *et al.* Eletrocardiografia Computadorizada Em Cães Da Raça American Pit Bull Terrier. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 5, p. 2341-2348, set./out., 2013.

CASTRO, M. G. *et al.* Avaliação Radiográfica Da Silhueta Cardíaca Pelo Método Vertebral Heart Size Em Cães Da Raça Yorkshire Terrier Clinicamente Normais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 63, n. 4, p. 850-857, ago., 2011.

DE ANDRADE, I. M.; DE AGUIAR, M. C. F. Avaliação Eletrocardiográfica De Cães Em Hospital Veterinário De Matipó-Mg. **Revista de Ciências da Faculdade Univértix/ Faculdade Vértice – UNIVÉRTIX**, Matipó, v. 2, n. 1, p 1-13, 2020.

FCI - Fédération Cynologique Internationale. **German Spitz, Including Keeshond and Pomeranian, Bélgica**, p.15-21, 2019. Disponível em: <http://www.fci.be/Nomenclature/Standards/097g05-en.pdf>. Acesso em 28 jun. 2021.

GAVA, F. N. *et al.* Eletrocardiografia Computadorizada em Cães da Raça Beagle. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 63, n. 2, p. 317-321, abr., 2011.

GOODWIN, J.K; TILLER, P.L. **Manual de Cardiologia Para Cães e Gatos**. 3 ed. São Paulo: Roca, p. 39. 2002.

GUGLIELMINI, C. *et al.* Use of the vertebral heart score in coughing dogs with chronic degenerative mitral valve disease. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo, v. 71, n. 1, p. 9-13, fev., 2009.

HOQUE, M. *et al.* Cardiac diseases in dogs. **Indian Journal of Animal Health**, Uttar Pradesh, v. 58, n. 1, p. 1-20, jun., 2019.

JEPSEN-GRANT, K.; POLLARD, R. E.; JOHNSON, L. R. Vertebral Heart Scores In Eight Dog Breeds. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, Greenwood Village, v. 54, n. 1, p. 3-8, jan./fev., 2013.

JERICÓ, M. M.; KOGIKA, M. M.; DE ANDRADE NETO, J. P. **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**. 1. ed - Rio de Janeiro: Roca, 2015.

KEENE, B. W. *et al.* ACVIM Consensus Guidelines For The Diagnosis And Treatment Of Myxomatous Mitral Valve Disease In Dogs. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, Schaumburg, v. 33, n. 3, p. 1127-1140, mai./jun., 2019.

KUMAR, A.; DEY, S.; MAHAJAN, S. Incidence And Risk Assessment Of Cardiac Arrhythmias In Dogs With Respect To Age, Breed, Sex And Associated Biochemical Changes. **Adv. Anim. Vet. Sci**, Uttar Pradesh, v 2, n. 5, p. 277-281, mai., 2014.

MATOS, L. D. G. **Avaliação hematológica, radiográfica e eletrocardiográfica em cães adultos da raça Pinscher Miniatura portadores ou não da doença degenerativa mixomatosa da valva mitral, diagnosticada pela ecocardiografia**. Orientador: Andrea Pacheco Batista Borges. 2016. 79 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

PINTO, A. C. B. C.; IWASAKI, M. Avaliação Radiográfica Da Silhueta Cardíaca Pelo Método De Mensuração VHS (Vertebral Heart Size) Em Cães Da Raça Poodle Clinicamente Normais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 41, n. 4, p. 261-267, ago., 2004.

SABINO, B. F. P. C. **A importância clínica da onda T eletrocardiográfica em canídeos: estudo prospetivo**. Orientador: André de Sousa Santos. 2017. 71 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2017.

SANCHES, F. J. *et al.* Incidência De Colapso De Traqueia Em Cães Com Tosse Alta Atendidos Pelo Hospital Veterinário Da Universidade Estadual De Maringá. **Revista**

**de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, Umuarama, v. 4, suppl. 1, p. 054-054, mai., 2017.

SANTILLI, R. *et al.* **Eletrocardiografia de Cães e Gatos**. 2. ed. São Paulo: Editora MedVet, 2020.

SLEEPER, M. M.; BUCHANAN, J. W. Vertebral Scale System To Measure Heart Size In Growing Puppies. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 219, n. 1, p. 57-59, jul., 2001.

SOARES, E. C.; LARSSON, M. H. M. A.; PINTO, A. C. B. C. F. Aspectos Radiográficos Da Doença Valvar Crônica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 119-124, fev., 2004.

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

TILLEY, L. P.; SMITH JUNIOR., F. W. K. Electrocardiography. In: TILLEY, L. P. *et al.* **Manual of canine and feline cardiology**. 4. ed. St Louis: Saunders Elsevier, 2008. p.49-77.

VAILATI, M. C. F. *et al.* Características Eletrocardiográficas de Cães da Raça Boxer. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 16, n. 4, p. 698-707, dez., 2009.

WARE, W. A. 2010. Doenças do Sistema Cardiovascular. In: Nelson, R. W.; Couto, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p. 01-206.

# AVALIAÇÃO DO DILUENTE BOTUBOV® E CITRATO-GEMA NA CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN BOVINO

**Acadêmicas:** Bárbara de Carvalho Fernandes Gabryela Rodrigues Diniz

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

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os parâmetros seminais de sêmen bovino criopreservado com dois diluentes, a fim de verificar a viabilidade pós-descongelamento. Foram submetidos a exame andrológico completo cinco touros Nelores adultos, os quais foram aprovados conforme os padrões de julgamento de sêmen para espécie de acordo com manual para exame andrológico do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Cada ejaculado foi dividido e acrescido de dois diferentes diluentes constituindo dois tratamentos para cada animal. O tratamento 1 (T1) correspondeu ao diluente comercial Botubov® (Botupharma) e o tratamento 2 (T2) foi o diluente à base de citrato- gema utilizado tradicionalmente para sêmen bovino. As variáveis quantitativas motilidade espermática e vigor foram submetidas ao teste não paramétrico de Wilcoxon. Verificou-se que não houve diferença significativa de motilidade e vigor espermático pós-descongelamento entre os dois meios diluidores. A motilidade espermática foi de  $80 \pm 2,2\%$  e o vigor  $3,6 \pm 0,2$  para o sêmen fresco (controle). Para o T1 foi observado motilidade de  $53 \pm 3,5\%$  e vigor  $3,0 \pm 0,2$  pós- descongelamento. O T2 apresentou  $50 \pm 3,7\%$  para motilidade espermática e  $3,0$  para vigor. Conclui-se que a utilização do diluente Botubov® e citrato-gema foram eficazes na criopreservação do sêmen bovino, não apresentando diferença significativa entre si na viabilidade espermática pós-descongelamento.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bovino; criopreservação; diluente; sêmen.

**LINHA DE PESQUISA:** Produção e reprodução animal

## INTRODUÇÃO

A criopreservação de sêmen visa a produção de um banco de células espermáticas utilizadas para biotécnicas da reprodução, fundamental ferramenta para potencializar o melhoramento genético (SILVA *et al.*, 2011). Esta técnica tem sido amplamente utilizada para elevar o potencial reprodutivo bovino permitindo a escolha de reprodutores que melhor atendam às necessidades de produção sendo ferramenta imprescindível em programas de inseminação artificial e produção *in vitro* de embriões (LEITE *et al.*, 2011).

A relação da qualidade do sêmen com a fertilidade é um ponto crucial para a reprodução. Embora o processo de criopreservação do sêmen bovino seja um procedimento rotineiro, um número considerável de espermatozoides não resiste ao processo, devido às várias alterações bioquímicas e estruturais sofridas pelas

células espermáticas (NAGY *et al.*, 2004). A criopreservação ocasiona perda irreversível na viabilidade espermática. A redução da temperatura impacta, principalmente, sobre a membrana celular, razão pela qual é submetida a rearranjos estruturais envolvendo lipídeos e proteínas. Há grande perda da estrutura funcional das membranas espermáticas e o metabolismo celular reduzindo o potencial fecundante quando comparada àquelas células oriundas de sêmen fresco (CELEGHINI *et al.*, 2008).

Esta técnica acarreta o possível surgimento de motilidade anormal em que as células espermáticas passam a se movimentarem de forma circular ou retrógrada. Ademais, também há redução da taxa de glicólise, da respiração celular e da frutólise, além de aumentar os danos ao DNA e liberação de material intracelular (WATSON, 1995).

Na tentativa de aprimorar, diferentes cientistas vêm desenvolvendo estudos com diversos diluidores com o intuito de minimizar as perdas durante o processo de congelação e descongelação do sêmen bovino (MADEIRA, 2010). A gema de ovo é utilizada como ingrediente essencial na elaboração de meios de diluidores. Estudos demonstram que as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) interagem com os fosfolipídios da membrana espermática conferindo resistência ao choque térmico (NEVES, 2008).

Outro componente fulcral no processo de criopreservação são os crioprotetores intracelulares, sendo o glicerol o mais utilizado em diferentes espécies por reduzirem a concentração de eletrólitos do meio extracelular, permitindo a saída de forma gradual de água do meio intracelular, contribuindo para a não formação de grandes cristais de gelo no interior das células espermáticas (SILVA, 2005).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os parâmetros seminais de sêmen bovino criopreservado com dois diluidores, a fim de verificar a viabilidade pós-descongelação.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **Características morfológicas do espermatozoide**

De acordo com Garcia e Fernández (2001), os espermatozoides são compostos por uma cabeça, onde contém o núcleo e uma cauda, chamada flagelo dividida em peça intermediária, principal e terminal. Eles são importantes na fecundação, pois carregam o DNA em seu núcleo (GARNER e HAFEZ, 2004).

Nikolettos *et al.* (1999) diz que grande parte das anormalidades por parte da cabeça dos espermatozoides estão ligadas a disfunção da fertilidade, pois a cabeça é o local de mecanismos importantes ligados a fertilização e DNA do macho.

De acordo com Reece (2014), os espermatozoides são produzidos de forma continua nos túbulos seminíferos dos testículos e de lá são transportados para o epidídimo. Os espermatozoides sofrem maturação e são armazenados no epidídimo, antes de serem liberados na ejaculação. No touro, a cauda do epidídimo possui grande capacidade de armazenamento sendo de até dez ejaculados sucessivos e quando não ejaculados os espermatozoides sobrevivem por 15 dias e sofrem degeneração. Depois da ejaculação, os espermatozoides sobrevivem pouco mais de 24 horas no interior da fêmea (BARBOSA *et al.*, 2012).

O plasma seminal é formado por fluidos oriundos do epidídimo e glândulas genitais acessórias e é liberado durante a ejaculação por meio das contrações uretrais. Sua função é viabilizar ionicamente e energeticamente as células espermáticas (MILLER *et al.*, 1990; KARESKOSI; KATILA, 2008).

No plasma há substâncias que protegem e estimulam os espermatozoides, porém, devido a sua constituição variável, a qualidade espermática pode ser incrementada ou agravada, tendo uma alta relevância na criopreservação (JASKO *et al.*, 1992; SQUIRES *et al.*, 1999; ALMEIDA, 2006).

De acordo com Guasti *et al.* (2012), a maioria das substâncias presentes no líquido seminal são proteínas vindas do epidídimo e estão associadas a reestruturação da membrana celular, provendo ou omitindo os receptores essenciais para a viabilidade dos espermatozoides. Ekhalsi-Hundrieser *et al.* (2005) relatou que essas remodelações de membrana permitem que as células espermáticas se mantenham viáveis.

Segundo Osório (2008), a baixa temperatura é capaz de provocar alterações lesivas à capacidade de fertilização do espermatozoide por promover aumento na permeabilidade de membrana, redução da sua fluidez, danos ao acrossoma e conseqüentemente, liberação das enzimas hidrolíticas atuantes no processo de fertilização de forma precoce.

O sêmen é a associação dos espermatozoides com o fluido oriundo das glândulas genitais acessórias que desembocam na uretra (GARNER e HAFEZ, 2004).

De acordo com Severo (2009), é extremamente importante avaliar o sêmen, para prever a capacidade reprodutiva, determinando a qualidade do mesmo, e é necessário que os espermatozoides tenham as características físicas e morfológicas adequadas para ocorrer a fertilização.

Fonseca (1999) relata que os aspectos físicos do sêmen, a motilidade do espermatozoide e o vigor espermático são parâmetros de grande importância que podem revelar a existência de distúrbios bioquímicos no sêmen, associados ou não com alteração da espermiogênese. Stalhammar *et al.* (1994) ressaltaram limitações da análise isolada da motilidade do espermatozoide progressivamente como critério único de avaliação de sêmen bovino.

### **Avaliação macroscópica e microscópica do sêmen bovino**

Na análise macroscópica verifica-se o volume, coloração, odor, densidade e pH do ejaculado (TEIXEIRA, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2011; MIRANDA NETO *et al.*, 2011). De acordo com Teixeira 2009, ao verificar o volume, avalia-se a qualidade espermática e determina o número de doses de sêmen que serão preparadas. Em geral, a média do volume ejaculado é de 5 ml podendo variar de 0,5 a 20 ml.

Miranda Neto *et al.* (2011), classifica a coloração do sêmen bovino como branco ou branco-perolado. Para Teixeira 2009, na maioria das vezes o odor do sêmen não é notável (*sui generis*), porém pode apresentar um odor urinoso ou cítrico quando há presença de urina no ejaculado.

A quantidade de células espermáticas é representada pela densidade do sêmen, que pode variar de um animal para o outro e variar entre os ejaculados do mesmo touro. A densidade pode ser classificada como: muito densa, densa, pouco densa e aquosa (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Teixeira (2009), diz que o pH do sêmen do touro pode variar entre 6,5 a 6,9.

Nas análises microscópicas estão a motilidade, vigor, turbilhonamento, morfologia espermática e concentração. A motilidade espermática é analisada sob microscopia óptica, usando uma gota do sêmen entre lâmina e lamínula, estimando a sua porcentagem visualmente. É a técnica mais utilizada nos laboratórios e continua tendo grande valor, principalmente para diferenciar sêmen de baixa e de



alta qualidade. É importante avaliar a motilidade dos espermatozoides devido ao fato da cinética espermática (ARRUDA, 2000; VERSTEGEN *et al.*, 2002, MATOS *et al.*, 2008).

A motilidade é avaliada imediatamente após a coleta de sêmen, e representa a porcentagem de espermatozoides vivos e móveis, sendo classificada de 0 a 100% (FEITOSA, 2004). Para melhor avaliar a porcentagem de espermatozoides com motilidade progressiva deve ser em sêmen diluído, pois alta concentração do sêmen pode prejudicar a avaliação. Sendo assim, a diluição pode ser realizada imediatamente: com duas gotas de sêmen, um mL de diluidor ou solução fisiológica em um tubo de ensaio, aquecido a 37°C, homogeneizar e em seguida colocar na lâmina aquecida com lamínula, na qual deve ser visualizada em aumento de 200 vezes. Sendo assim, Silva *et al.* (1993) diz que assim se observa a porcentagem que apresenta movimento.

Além disso, Silva *et al.* (1993) também diz que o movimento de espermatozoides percebido através de ondas, chama-se turbilhonamento. Deve-se utilizar uma lâmina aquecida a 37°C, com uma gota do ejaculado, sem lamínula e observa-se em aumento de 100 vezes a borda da gota verificando se há presença de movimentação do sêmen. O movimento de onda é classificado de 0 a 5 na escala.

De forma geral, as características morfológicas espermáticas são analisadas usualmente utilizando-se esfregaços corados (corantes: Wright, Rosa de Bengala, Giemsa e eosina-nigrosina, Karras e outros) ou a técnica da câmara úmida. Como o espermatozoide é uma célula translúcida sua visualização sob microscopia óptica comum não é nítida para avaliação do contorno celular, por isso, quando se dispõe somente de microscopia óptica deve-se fazer uso da técnica de esfregaço corado.

A técnica da câmara úmida deve ser realizada com microscopia capaz de destacar contornos celulares, como a microscopia de contraste de fase (JOHNSON *et al.*, 1997; CELEGHINI, 2005). Avalia-se alterações na peça intermediária e cauda. Na lâmina coloca-se uma gota do sêmen com formol/salina, coloca-se na lamínula em seguida e faz a vedação com esmalte. Conta-se 200 espermatozoides com um aumento de 1.000 vezes (SILVA *et al.*, 1993).

Para Chacur *et al.* (2004), alterações na cabeça, na peça intermediária e cauda do espermatozoide são verificadas na patologia espermática. Caso há alteração na cabeça deve-se utilizar a técnica do método de Willians modificado,

onde se avalia alterações neste mesmo local.

O corante panóptico rápido e eficiente para a coloração de esfregaço de sêmen identificando alterações morfológica nos espermatozoides, sendo assim rápido e prático. São utilizados três tipos de corantes e a lâmina fica por 10 segundos em cada corante (CHACUR *et al.*, 2004).

Para Howard e Pace (1998), alteração morfológica é uma das características que mais se correlaciona com fertilidade. A alta frequência de espermatozoides morfolologicamente anormais ou a alta incidência de um único defeito podem reduzir a fertilidade.

Teixeira (2009), diz que são utilizados a Câmara de Neubauer e/ou Espectrofotômetro para avaliar a concentração, no qual determina o número de espermatozoides por centímetro cúbico. Cardoso *et al.* (2004) diz que concentração é o número de espermatozoides por centímetro cúbico, oscilando entre 700 e 1.200 milhões. Além disso, a concentração normal nos zebuínos é de 200 mil a 1,2 milhões de espermatozoide/mL por meio de coleta com eletroejaculador. Com a vagina artificial varia de 800 mil a 1,2 milhões de espermatozoides/ml.

### **Criopreservação de sêmen bovino**

De acordo com Hammerstedt *et al.* (1990), a criopreservação estimula uma série de estresses osmóticos, químicos e mecânicos aos espermatozoides. Há fases de redução de temperatura, desidratação celular, congelamento e descongelamento do sêmen. Pode ser realizada de várias maneiras; contudo para o sucesso do processo, todas as etapas devem ser realizadas de forma harmoniosa (MEDEIROS *et al.*, 2002).

A criopreservação tem como objetivo suspender a atividade metabólica do espermatozoide. Assim, ainda não foi encontrada uma forma de preservação que tenha total resultado após o descongelamento do sêmen. Desde então, novos protocolos de congelamento vêm sendo desenvolvidos e modificados regularmente para se obter melhores resultados (MARTINS, 2018).

Neste sentido é importante reconhecer que a criopreservação visa preservar os gametas por um período indefinido conservando a qualidade espermática (WATSON, 1995). Dessa forma o processo de congelação deve ser realizado em inúmeras etapas e necessita de cuidados especiais, visto que um grande número de espermatozoides não resiste ao processo, devido as diversas alterações

bioquímicas e estruturais sofridas pelas células espermáticas, afetando, especialmente, a membrana espermática. Os danos podem causar alterações na organização, fluidez, e na permeabilidade (ENGLAND, 1993).

Ainda que seja nítido o crescente aumento na comercialização do sêmen criopreservado, ainda são observadas perdas consideráveis do potencial de fertilização provocadas pelo processo de criopreservação espermática (FUERST-WALTZ *et al.*, 2006). O processo de criopreservação pode causar danos aos espermatozoides, representando uma diminuição de, aproximadamente 50% da motilidade espermática e quando considera a integridade das membranas espermáticas esta queda pode ser mais acentuada, atingindo a mais de 60% (CELEGHINI *et al.*, 2008).

Pretendendo minimizar os efeitos deletérios ocasionados pela criopreservação, os diluentes precisam atender algumas características para evitar danos à célula perante a técnica de resfriamento, congelação e descongelação. Diante disto, objetiva-se conservar a motilidade e a integridade da membrana das células espermáticas, além de manter estável o pH do meio (CRESPILO, 2010).

### **Botubov®**

É um diluente comercial existente no mercado brasileiro que possui em sua composição carboidratos, aminoácidos, tampão, gema de ovo, água destilada e glicerol e mostra-se efetivo para a criopreservação do sêmen bovino, quanto à motilidade espermática e quanto à integridade de membrana.

### **Citrato-gema**

Os meios tampões mais utilizados nos diluentes para sêmen de bovinos são o citrato e o tris. No entanto o citrato é reconhecido por suas propriedades tamponantes melhorarem a solubilidade das frações proteicas da gema do ovo (LEITE *et al.*, 2010). Esse diluente constitui-se basicamente de citrato sódico, glicose ou frutose como fonte de energia e gema de ovo (EVANS e MAXWELL, 1987).

O principal entrave do sucesso da congelação do sêmen é o período de resfriamento. Desta forma, os fosfolipídios da gema de ovo interagem com os componentes da membrana plasmática dos espermatozoides e oferece resistência ao choque térmico e à criopreservação (WATSON, 1995). Este autor ainda afirma que a curva de congelamento lenta acarreta a desidratação dos espermatozoides

impedindo a formação de gelo intracelular, mas a concentração de solutos causa danos à célula. Estudos com espermatozoides de bovinos mostram que as proteínas e lipídeos presentes na gema de ovo e leite mantêm a sobrevivência espermática durante a criopreservação (AIRES *et al.*, 2003).

A gema de ovo é composta por fosfolipídios, que possuem ação protetora sobre membranas celulares. Devido a uma interação dos fosfolipídios com os constituintes das membranas espermáticas, por meio da ocupação por parte desses lipídios, em sítios específicos da superfície das membranas. Entretanto, tem sido acrescentada aos meios diluidores de várias espécies, com intuito de atribuir maior proteção às membranas dos espermatozoides, durante o processamento do sêmen, no intuito de impedir lesões primárias associadas ao choque térmico, principalmente aquelas que alteram a permeabilidade da membrana. A gema de ovo é o agente mais efetivo para proteção do espermatozoide contra o choque frio e melhora as funções espermáticas preservando a fertilidade após a criopreservação (WATSON, 1995).

## METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em uma fazenda localizada no município de Ponte Nova (MG). Os animais foram mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha*, água e mistura mineral em cocho foi disponibilizada “*ad libitum*”.

Cinco touros com, aproximadamente 3 anos de idade e peso médio de 500 kg foram submetidos ao exame andrológico completo. Todos os parâmetros físicos e morfológicos foram avaliados conforme os padrões de julgamento de sêmen para espécie (TABELA 1) segundo o manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998).

Tabela 1: Características normais do sêmen fresco de touros.

VARIÁVEL	VALORES MÉDIOS
Turbilhonamento	Presente ou $\geq 3$ (monta natural)
Motilidade	$\geq 70\%$
Vigor	$\geq 3$
Concentração espermática	$350 \times 10^6/\text{mL}$
Espermatozoides morfolologicamente normais	$\geq 70\%$

Fonte: CBRA, 1998.

Imediatamente após a coleta do sêmen realizou-se os 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 o espermograma (sêmen diluído em 1 mL de formol salina tamponado até turvar).

Cada ejaculado foi dividido e acrescido de dois diferentes diluentes constituindo dois tratamentos para cada animal. O tratamento 1 (T1) correspondeu ao diluente comercial Botubov® (Botupharma) e o tratamento 2 (T2) foi o diluente à base de citrato-gema utilizado tradicionalmente para sêmen bovino (TABELA 2). 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 2: Composição do diluente citrato-gema utilizado na criopreservação de sêmen bovino

<b>COMPONENTE</b>	<b>QUANTIDADE</b>
Citrato de Sódio	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. Uma fração de diluente também foi acondicionada nesta mesma caixa de isopor, a qual foi utilizada para a diluição final. Após as duas horas de resfriamento, o sêmen foi mantido a 4°C por mais quatro horas para o equilíbrio a fim de evitar choque térmico.

Posteriormente, as amostras de espermograma e concentração espermática foram avaliadas e aprovado o sêmen foi novamente diluído de acordo com a sua concentração para que a concentração final atingisse  $30 \times 10^6$  espermatozoides por palheta (0,5 ml). Em seguida, as palhetas foram congeladas em nitrogênio líquido e descongeladas logo em seguida em água aquecida a uma temperatura de 37°C durante 30 segundos para serem avaliadas quanto à motilidade espermática e vigor de cada diluidor, de cada partida de sêmen diluído em T1 e T2.

Os padrões mínimos adotados para sêmen pós-descongelamento para a espécie bovina estavam de acordo com o manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA,

1998). Motilidade espermática:  $\geq 30\%$  e vigor:  $\geq 3$ . Os resultados como variáveis quantitativas: motilidade espermática e vigor foram submetidas ao teste não paramétrico de Wilcoxon (SAEG, 1999).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença significativa de motilidade e vigor espermático pós-descongelamento entre os dois meios diluidores. Tabela 1.

Tabela 1. Médias seguidas do erro padrão e coeficiente de variação dos parâmetros motilidade (%) e vigor (1 a 5) de dois diferentes diluentes utilizados para congelamento de sêmen bovino.

TRATAMENTOS	MOTILIDADE (%)		VIGOR (0-5)	
		CV		CV
Fresco	80 $\pm$ 2,2	5,7	3,6 $\pm$ 0,2	12,3
Botubov® (T1)	53 $\pm$ 3,5 <sup>A</sup>	14,5	3,0 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	14,1
Citrato-gema (T2)	50 $\pm$ 3,7 <sup>A</sup>	12,4	3,0 <sup>a</sup>	0

Letras maiúsculas e minúsculas indicam respectivamente a avaliação das médias do parâmetro motilidade ( $p=0,065$ ) e vigor ( $p=0,067$ ), entre os tratamentos pelo teste não paramétrico de Wilcoxon.

De acordo com Watson (2000), cerca de 40 a 50% dos espermatozoides do ejaculado morrem na criopreservação, perdendo a viabilidade e queda na fertilidade dos sobreviventes. O presente trabalho obteve resultados que comprovam a diminuição de motilidade e vigor comparadas ao sêmen fresco, mas o criopreservado manteve os padrões mínimos para utilização em ambos os diluentes.

De acordo com Vishwanath e Shannon (2000), os principais estresses que a célula espermática sofre no processo de congelamento são injúrias causadas pelo choque térmico, desta forma os componentes do meio diluidor são fundamentais para manter a viabilidade espermática. Dessa forma, escolher o diluente ideal é essencial para minimizar os danos causados e manter a capacidade de fertilização dos espermatozoides após o processo de criopreservação (CRESPILHO, 2010).

No presente estudo, ambos os diluentes foram eficazes contendo nutrientes, atuando como tampão ajustando as alterações de pH do meio e protegendo as células espermáticas contra o choque térmico. A atividade metabólica das células espermáticas, fisiologicamente, produz íons  $H^+$  reduzindo o pH do meio. Assim, uma solução tampão se torna necessária para neutralizar esses íons e manter a

viabilidade celular, mantendo o pH da solução próximo à neutralidade: 6,8 a 7,1 (SILVA, 2002).

Ambos os diluentes são a base de gema de ovo o que explica a semelhança entre os resultados. A gema possui lipoproteínas de densidade baixa responsáveis pela ação protetora das membranas (WATSON, 1995). De acordo com Snoeck *et al.* (2007), o diluidor com alta concentração de açúcares, tampões, sais e 20% de gema de ovo demonstram potencial para proteção da integridade das membranas plasmáticas e acrossomal mantendo a viabilidade das células espermáticas.

O diluente Botubov® vem sendo utilizado com sucesso no processo de criopreservação de sêmen bovino quando comparado a outros diluentes comerciais. De acordo com Celeghini *et al.*, 2008, foram feitos experimentos para comparar a efetividade do Botubov® e do BioXcell® (IMV Technologies France) e o Botu-Bov foi mais eficaz na preservação da motilidade dos espermatozoides e integridade da membrana quando comparado ao outro diluente comercial.

Para Crespilho *et al.* 2006 e Zorzetto *et al.*, 2018, o diluidor Botubov® desenvolvido para a criopreservação de sêmen bovino pode ser uma alternativa de grande eficiência para a criopreservação de sêmen da espécie bubalina, mesmo não havendo indicação de bula pelo fabricante.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização do diluente Botubov® e citrato-gema foram eficazes na criopreservação do sêmen bovino, não apresentando diferença significativa entre si na viabilidade espermática pós- descongelação.

## REFERÊNCIAS

AIRES, V. A.; HINSCH, K. D.; SCHLOESSER, F. M.; BOGNER, K.; SCHLOESSER, S. M.; HINSCH, E. Comparação in vitro e in vivo de extensores à base de gema de ovo e à base de lecitina de soja para criopreservação de sêmen bovino. **Theriogenology**. Alemanha, v. 60, n. 2, p. 269-279, julh. 2003.

ALMEIDA, J. **Sêmen refrigerado e o seu potencial de uso na inseminação artificial de búfalas (*Bubalus bubalis*)**. Orientador: Marc Roger Jean Marie Henry. 2018. 195 f. Tese (Doutor em Ciência Animal) Universidade Federal de Minas, Escola de Veterinária – UFMG, Belo Horizonte, 2018.

ARRUDA, R. P. *et al.* Métodos de avaliação da morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v. 35, n. 2, p. 145-151, abr./jun. 2011.

BERTOL, M. A. F. *et al.* Dois diluentes comerciais na criopreservação de

espermatozoides do epidídimo de touros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 9, p. 1658-1663, set. 2014.

CELEGHINI, E. C. C. *et al.* Efeitos da criopreservação de espermatozoides bovinos com dois extensores diferentes nas membranas espermáticas e na cromatina. **Ciência da reprodução animal**. São Paulo, v. 104, n. 2-4, pág. 119-131, 2008.

Crespilho A. M.; Papa F. O.; Alberti K.; Siqueira E. R. F.; Martins A. J.; Novaes J. L. C.; Della'acqua J. A. Eficiência comparativa entre dois diluidores para a congelação de sêmen bovino sobre os padrões de motilidade e integridade de membrana plasmática. **ARS Veterinaria**, Jaboticabal, v.22, n. 3, p.229-235, 2006.

CRESPILHO, A. M. **Avaliação de diferentes metodologias de preservação do sêmen bovino para a utilização em programas de inseminação artificial em tempo-fixado (IATF)**. Orientador: Frederico Ozanam Papa. 2010. 114 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, SP, agos. 2010.

DIAS, H. S. **Efeitos de meios diluentes sobre a viabilidade de sêmen congelado bovino**. Orientador: Marcelo George Mungai Chacur. 2010. 58 f. Dissertação (Mestre em Ciência Animal) – Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, 2010.

ENGLAND, G. C. W. Cryopreservation of dog sêmen: a review. **Journal of Reproduction and Fertility**. Inglaterra, v 47, p.243-255, 1993.

EVANS, G.; MAXWELL, W. M. C. Salamon's Artificial insemination of sheep and goats. **Butterworth**. Sydney, 1987.

FARIA, L. C.; ATAIDES, J. L. S. **Avaliação da longevidade de espermatozoides equinos congelados e descongelados submetidos a centrifugação e filtração**. Orientador: Francisco José Gonçalves de Oliveira. 2020. 27 f. Monografia (iniciação científica) Centro Universitário de Brasília – UniCEUB, Brasília, 2020.

FRANCISCATO, D.A. **Características físicas e morfológicas do sêmen de *Bos Taurus* e *Bos Indicus* antes e após a criopreservação**. Orientador: Marion Burkhardt de Koivisto. 2015. 24 f. Dissertação (Mestre em Medicina Veterinária) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp. Jaboticabal, 2015.

FUERST-WALTL, B.; SCHWARZENBACHER, H.; PERNER, C.; SOLKNER J. Effects of age and environmental factors on semen production and semen quality of Austrian Simmental bulls. **Animal Reproduction Science**. Austria, v.95, n. 1-2, p.27-37, 2006.

HAMMERSTEDT, R. H.; GRAHAM, J. K.; NOLAN, J. P. Cryopreservation of mammalian sperm: what we ask them to survive. **Journal of Andrology**. Pennsylvania, v. 11, n. 1, p. 73-88, 1990.

LEITE, T. G. *et al.* Efeitos do extensor e do tempo de equilíbrio na motilidade pós-descongelamento e integridade da membrana do sêmen criopreservado de touros Gir avaliados por CASA e citometria de fluxo. **Animal Reproduction Science**. Minas Gerais, v. 120, n. 1-4, pág. 31-38, 2010.

LEITE, A. P. *et al.* Criopreservação do Sêmen Bovino. **UNOPAR Científica**. Brasília, v. 13, n. 4, p. 279-286, 2011.

MADEIRA, V. L. H. *et al.* Efeito de diferentes protocolos de descongelamento sobre o



sêmen canino criopreservação em diluidor à base água de coco em pó (ACP- 106). **Ciência Animal Brasileira**. Goiania, v. 11, n. 4, p. 845-852, 2010.

MARTINS, L. F. S. **Métodos de criopreservação do sêmen canino** (Revisão de literatura).2018. 17 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018.

MEDEIROS, C. M. O. *et al.* Situação atual da criopreservação de espermatozoides: por que não está melhor?. **Theriogenology**. Porto Alegre, v. 57, n. 1, pág. 327-344, 2002.

NAGY, S.; HALLAP, T.; JOHANNISSON, A.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Alterações na integridade da membrana plasmática e acrossoma de espermatozoides bovinos congelados descongelados durante uma incubação de 4h, medida por citometria de fluxo multicolorida. **Ciência da Reprodução Animal**. v. 80, n. 3-4, p. 225-235, 2004.

NEVES, M.M. **Extração das lipoproteínas de baixa densidade da gema do ovo de *Gallusdomesticus* e sua aplicação na criopreservação do sêmen canino**. 2008. 116 f. Tese (Doutor em Ciências Animal) Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, abr. 2021.

SANTOS, J. F. D. *et al.* Qualidade do sêmen bovino criopreservado. **Revista Espacios**. Goiás, v. 39, n. 14, p. 1-15, dez. 2018.

SILVA, N. C. *et al.* Avaliação de dois diluentes e diferentes técnicas de criopreservação de sêmen bovino. **PUBVET**. Londrina, v. 5, n. 19, p. 1-34, 2011.

SILVA, N. C. **Uso de sêmen fresco e refrigerado em programas de inseminação artificial em tempo fixo em fêmeas bovinas**. Orientador: Karen Martins Leão. 2013. 35 f. Dissertação (Mestre em Zootecnia) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano. Rio Verde, GO, 2013.

SILVA, S. V.; GUERRA M. M. P. Efeitos da criopreservação sobre as células espermáticas e alternativas para redução das crioinjúrias. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Recife, v. 35, n. 4, p. 370-384, 2011.

TEIXEIRA, L. V. **Estudo da coleta e processamento de sêmen bovino**. Orientador: Carolina Amália de Souza Dantas Muniz.2009. 40 f. Trabalho de conclusão de curso (Medicina Veterinária) Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas – FMU. São Paulo, 2009.

WATSON, P. F. Desenvolvimentos e conceitos recentes na criopreservação de espermatozoides e a avaliação de sua função pós-descongelamento. **Reprodução, Fertilidade e Desenvolvimento**. v. 7, n. 4, pág. 871-891, 1995.

Zaffalon, F. G. **Alterações semelhantes à capacitação no sêmen bovino após a criopreservação utilizando diluidores a base de gema de ovo ou lecitina de soja**. Orientador: Rubens Paes de Arruda. 2009. 95 f. Dissertação (Mestre em Ciências) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo, 2009.

# EFICÁCIA NA UTILIZAÇÃO DA *Chenopodium ambrosioides* (ERVA DE SANTA MARIA) NO COMBATE À VERMINOSE DE EQUINOS

**Acadêmicas:** Alice Salomão Viana e Nathalia Cristina Lopes Andrade

**Orientador:** Rogério Oliva Carvalho

## RESUMO

Os ciatostomíneos são nematoides que parasitam o intestino grosso dos equinos podendo causar diarreia, cólica, edema subcutâneo, perda de peso. São parasitos de grande prevalência em equinos por eles não desenvolverem imunidade contra o helminto. A Erva De Santa Maria (*Chenopodium ambrosioides*) foi testada por vários pesquisadores, que descreveram sua utilização como cicatrizante, antitumoral, anti-helmíntico, antirreumática, inseticida, dentre outros efeitos. Sendo assim, o presente trabalho teve o objetivo de avaliar a ação do extrato de folhas da *C. ambrosioides* (Erva De Santa Maria) sobre larvas de ciatostomíneos de equinos, que são descritos como sendo parasitos que possuem grande resistência a anti-helmínticos. Foram utilizados extrato da Erva De Santa Maria nas concentrações de 50 mg/mL (5%), 100 mg/mL (10%) e 200 mg/mL (20%) e um grupo controle, sem extrato. Nos grupos tratamento e controle foram colocados 100 larvas de ciatostomíneos (L3), incubados por 3h e analisados em microscópio para determinar a quantidade de larvas imóveis. Houve redução ( $p < 0,05$ ) nas medias de larvas vivas nos grupos tratados, apresentando média de 6 larvas vivas para o tratamento a 5% e 3 larvas para as concentrações de 10% e 20%, sendo que no controle a média foi 71 larvas vivas. Com eficácia de 91%, 95,3% e 96,2% para as concentrações de 5%, 10% e 20%, respectivamente. A erva de santa maria mostrou ser uma planta promissora para utilização como anti-helmíntico.

**PALAVRAS-CHAVE:** Anti-helmínticos; Ciatostomíneos; Equinos; Parasitas; Plantas medicinais.

**LINHA DE PESQUISA:** Patologia, Parasitologia e Microbiologia Veterinária-Doenças parasitárias

## INTRODUÇÃO

O Brasil possui o 3º (terceiro) maior rebanho de equinos do mundo, sendo ultrapassado por esse total somente pela China e México (BORGES, NAKAMURA, DE ALMEIDA, CADAMURO, 2010). A equinocultura tem se mostrado uma fonte de emprego de forma direta e indiretamente movimentando cerca de R\$ 7,5 bilhões (VERA, 2014). A classe equina vem mostrando grande destaque na agropecuária, desempenhando labor específico no campo, agregando valor em esportes, leilões, e auxiliando em tratamentos terapêuticos e outros (RIBEIRO, 2020).

Diante disso, pode-se afirmar que os equinos são de extrema importância na economia, esporte e lazer, e que mesmo com valores agregados podem carregar

inúmeros problemas que afetam sua saúde e sanidade, destacando-se o acometimento **dos mesmos** por parasitos gastrintestinais (VERA, 2014). Os equinos são animais que são susceptíveis a endoparasitas e ectoparasitas, sendo sua susceptibilidade justificada por inúmeras causas como idade, imunidade, lotação de piquete acima do ideal e administração inexata de antiparasitários, cooperando assim para que esses animais nutram a resistência parasitária (GODÉSKI, PEDRASSANI, SZCZERBOWSKI, 2017).

Os animais parasitados sofrem de várias formas com perda de desempenho, cólicas gástricas e intestinais, diarreia em potros, pequeno desconforto abdominal acompanhado ou não de fraqueza, pelagem áspera, retardo de crescimento, hiporexia, anemia, diarreias ou constipações, podendo levá-los a óbito (VERA, 2014). O uso desenfreado dos anti-helmínticos no controle das verminoses resulta no aparecimento da resistência parasitária, que é um fenômeno pelo qual uma droga não consegue manter a mesma eficácia contra os parasitas, se utilizada nas mesmas condições, após um determinado período de tempo (MOLENTO, 2005).

Segundo Vera (2014) e Fenalti *et al.* (2016), a resistência parasitária é impreterível, ou seja, acontecerá com o tempo, sendo um evento que acomete várias espécies, acarreta a liberação de resíduo desses anti-helmínticos e por conseguinte poderá ser passada para as próximas gerações.

Todo esse processo de resistência parasitária vem sendo estudado e analisado no campo da medicina veterinária, e assim na medicina equina não seria diferente, surgindo a necessidade de novos caminhos para a resolução desse problema (VERA, 2014).

As ervas vem sendo utilizadas também a muitos anos, servindo de alimento e para tratamento próprio e/ou tratamento em animais (SÁ, 2013).

O conhecimento sobre a utilização de ervas em geral é passado de geração à geração, e com o decorrer do tempo vem sendo difundido como fonte de estudo e pesquisas para avaliação de seus potenciais farmacológicos, partindo assim para produção de medicamentos originados a partir de plantas (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

A Organização Mundial da Saúde em 2002 confirmou que 80% da população mundial faz uso de plantas medicinais com finalidade primordia na busca pela melhoria da saúde, procurando a cura com o uso dessas plantas. Uma dessas ervas

é a Erva De Santa Maria é considerada uma das **várias** (plantas **que são** (mais utilizadas no mundo todo com atividade medicinal (VALÉRIO, 2014) (SOUSA, 2013).

Sendo assim, a Erva De Santa Maria, como é conhecida a *Chenopodium ambrosioides*, possui inúmeras atribuições e predicados que a tornam apta a ser motivo de estudos mais profundos e com objetivos concretos a fim de provar suas propriedades terapêuticas, tais como: antitumoral, cicatrizante, analgésica, antirreumática, antiulcerosa, antifúngica, anti-inflamatória, anti-helmíntica entre outras (GRASSI, 2011).

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliado a ação do extrato de folhas da *Chenopodium ambrosioides* (Erva De Santa Maria) sobre larvas de ciatostomíneos de equinos.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **Ciatostomíneos**

Os ciatostomíneos ou também “pequenos estrombilídeos”, são nematoídes que parasitam o intestino grosso dos equinos (MARTINS *et al.*, 2019). São pertencentes de uma classe de parasitos que possuem alta resistência a anti-helmínticos, tornando assim o tratamento mais intrincado quando comparado a outras espécies de parasitos. Como consequência de uma trajetória de alta carga parasitária nos animais, houve o desenvolvimento de mudanças genéticas no parasita, gerando a resistência ao anti-helmínticos (DE SOUZA, 2011).

São considerados como parasitas que prevalecem com maior intensidade parasitária nos equinos, singularizando de 80% a 100% da carga parasitária que acomete os equinos (MARTINS *et al.*, 2019)

São chamados de pequenos estrombilídeos pois medem cerca de menos de 2,5 cm de comprimento (ISHII, 2015). São filiformes, brancos ou vermelho-escuros, visíveis no exame minucioso da mucosa ou no conteúdo do intestino grosso desses hospedeiros (DE SOUZA, 2011). Em infecções severas, podem ser encontrados no bolo fecal dos equinos. A cápsula bucal dos pequenos estrombilídeos é pequena, cilíndrica e sem presença de dentes, o que caracteriza a diferenciação das espécies (MARTINS *et al.*, 2019).

Os pequenos estrombilídeos possuem ciclo de vida direto, ou seja, seu ciclo de vida não possui hospedeiro intermediário, infectando os equinos através da ingestão de larva de terceiro estágio na pastagem (L3) (ISHII, 2015).

As larvas de terceiro estágio (L3), que são a forma infectante do parasito, é deglutida juntamente com a pastagem, onde permaneceu da larva de primeiro até

terceiro estágio (L1 a L3), chega até as criptas de Lieberkuhn, no ceco e cólon e nesse momento ela adentra. A L3 atravessa as células da porção distal das criptas, localizando-se na mucosa ou submucosa, dando início à fase histotrófica. Permanece até a sua maturação até a larva de quarto estágio (L4), quando são envoltas por fibroblastos, os quais formam cistos fibrosos na submucosa. A L4 migra para o lúmen do intestino grosso e evolui para a larva de quinto estágio (L5), se tornando jovem imaturo e depois adulto, quando começa a se reproduzir e seus ovos são eliminados juntamente com as fezes e ficam no ambiente de L1 a L3, formando assim o ciclo de vida dos ciatostomíneos (CANEVER, 2012) (MARTINS *et al.*, 2019).

É caracterizada como doença sazonal, pois ocorre em diferentes épocas do ano em todas as regiões do mundo. Diante disso, permanece em condições mais oportunas nos países do norte em época de primavera e outono, e nos países de clima subtropical durante o inverno (ISHII, 2015) (PIEREZAN *et al.*, 2009) (BEZERRA *et al.*, 2007).

Equinos que permanecem a pasto possuem disposição maior de acometimento por ciatostomíneos quando comparados aos equinos que permanecem estabulados. Isso ocorre devido ao favorecimento ambiental para desenvolvimento larvar na pastagem, tendo em vista que as fezes dos animais que vivem estabulados secam rapidamente e ficam próximas da urina desses animais, o que dificulta o desenvolvimento das larvas, pois a urina possui amônia em sua composição, tornando assim o ambiente menos propício para os ciatostomíneos (MARTINS *et al.*, 2019).

Os ciatostomíneos possuem dentre tantas características o desenvolvimento do estado de hipobiose, que é marcado por diminuição do crescimento larvar quando esse parasita está em condições ambientais desfavoráveis para o seu crescimento e desenvolvimento, podendo permanecer em hipobiose por até dois anos, a espera de um ambiente favorável. O fenômeno de hipobiose também atua na patogenicidade dos ciatostomíneos no organismo dos equinos, pois esse estado garante a esses parasitas encistados, sua proteção, não sendo detectado pelo sistema imune do hospedeiro e também o protege da ação de anti-helmínticos, que desempenhariam seu papel no impedimento desse desenvolvimento larvar. Todo esse processo evidencia o grande risco

epidemiológico e patológico da infecção com ciatostomíneos (MARTINS *et al.*, 2019).

### **Equinos parasitados por ciatostomíneos**

Os equinos são animais que desempenham inúmeros tipos de atividades, de lazer ao trabalho, exigindo dele disposição e assimetria, para que consigam atuar em cada papel que lhes é imposto. Um dos fatores que os impedem é o parasitismo, sendo que, comumente os animais possuem parasitas sem apresentar sinais clínicos, e quando estes ocorrem de forma desordenada, sem o tratamento correto, coloca em declínio o desenvolvimento de suas atividades, o que justifica o uso de anti-helmínticos regularmente na clínica equina (LIGNON *et al.*, 2020).

O parasitismo é conceituado quando um ser possui necessidade de um hospedeiro para o seu desenvolvimento e sobrevivência na maioria das vezes. Essa relação é inconveniente para o hospedeiro, haja visto que o ele tem suas funções fisiológicas prejudicadas pelo parasita, que desregula sua saúde e bem-estar, levando o hospedeiro a situações de desequilíbrio leve ou exacerbado no seu organismo (ABRAHÃO, 2016). Os equinos são uma espécie caracterizada por serem hospedeiros naturais de várias famílias e/ou gêneros de parasitas, tais como os que pertencem ao Filo Nematoda (*Ascarídeos*, *Oxiurídeos*, *Estrongilídeos*, *Trichostrongilídeos*) (MARTINS *et al.*, 2017).

Os pequenos estrôngilos (ciatostomíneos) e os grandes estrôngilos (estrongilídeos) acometem esses animais de forma natural (CANEVER, 2012) (ABRAHÃO, 2016).

Segundo Martins *et al.* (2017), o parasitismo que acomete os equinos, por muitas vezes não é tratado com o cuidado e atenção que deve ser tratado, o que dificulta e perpetua a disseminação, propagação e resistência dos parasitos no organismo desses animais.

Os equinos não possuem imunidade protetora, o que facilita a infecção por ciatostomíneos nessa espécie em qualquer idade na vida, de potros a animais adultos e geriatras, tornando-se assim um dos fatores de grande importância na relação entre hospedeiro e parasita (DE SOUZA, 2017).

Os sinais clínicos que os equinos manifestam com essa infecção parasitária podem variar, sendo eles: diarreia, cólica, edema subcutâneo, apatia, aumento de volume dos linfonodos mesentéricos, anorexia e perda de peso. Podem manifestar também

lesões intestinais que incluem enterite catarral ou fibrinosa no cólon maior e ceco, com numerosos focos de hemorragia, necrose ou formação de granulomas na mucosa e submucosa. Essas lesões são associadas as larvas de ciatostomíneos, quando milhares de larvas encistadas emergem para o lúmen intestinal simultaneamente, sendo essa condição conhecida como síndrome de migração larval, que pode ser fatal em muitos casos (PIEREZAN *et al.*, 2009) (ISHII, 2015).

### **Uso de plantas no controle de helmintos**

Segundo BATISTA *et al.* (2017) a utilização de plantas em toda história mundial prevalece até o presente momento, para uso medicinal e para outros fins, tendo grande valor em todas as suas áreas de atuação. O “poder de cura” das plantas medicinais se dava de forma empírica, o que vem sendo mudado com o passar dos anos com estudos e experimentos pela ciência, que comprova falhas e acertos dos potenciais de cura dessas ervas.

Vários países do mundo todo, em especial a Europa e também o Brasil, utilizam frequentemente ervas para tratamentos terapêuticos, sabendo que países desenvolvidos como França e Alemanha possuem farmacopeias especializadas em plantas medicinais, sua utilização e potenciais (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

O uso de plantas medicinais foi descoberto pelo homem através da observação do comportamento animal, faziam uso das ervas, mas de forma para cura de suas enfermidades, o que trouxe à tona a ideia de também utilizar/experimentar essas plantas para uso próprio e também para seus animais domésticos (DE ALMADA *et al.*, 2017).

O conjunto da observação e também utilização das plantas desde os primórdios gerou grande aliança com análises científicas para formação da fitoterapia, que é a ciência que estuda, avalia, experimenta e comprova os efeitos positivos e negativos de várias ervas para tratamento de doenças na população e também nos animais (DE ALMADA *et al.*, 2017).

No que se refere aos animais, o uso das plantas medicinais vem crescendo e se difundido com louvor, sabendo que existe grande exigência de seus proprietários para cura de doenças, para controle de endoparasitas e ectoparasitas e também que tenha resultados positivos para tais situações, buscando o melhor método (OLIVEIRA *et al.*, 2009). O tratamento anti-helmíntico nos dias atuais se



mostra de forma ainda clássica, justificado assim pelo uso dessas drogas por produtores que buscam resultados eficazes e rápidos para tratamento de seus animais parasitados, e fazendo uso de forma indisciplinada (DE ALMADA, 2017). Essas drogas trazem consigo um custo elevado no tratamento, potencial de resistência dos parasitas aos princípios farmacológicos que são compostas, podem acarretar intoxicações, resquícios de resíduos no ecossistema e também em subprodutos de origem animal (DE ALMEIDA, 2005).

Apesar de inúmeras comprovações de negatividade dos medicamentos alopáticos, seu uso ainda é maior comparado ao uso de plantas medicinais, tendo em vista que as mesmas ainda não possuem divulgação e prescrição na mesma proporção que esses fármacos, o que dificulta a propagação de seus atributos medicinais, não só na medicina humana, mas de forma maior ainda na medicina veterinária (BATISTA *et al.*, 2017).

Deve-se salientar que no momento existem investigações e estudos comparando a ação de plantas medicinais e medicamentos tradicionais com objetivo de comprovar e/ou condenar o uso dos mesmos (VITA *et al.*, 2015).

Assim, a medicina popular oferece várias ervas medicinais com características e objetivos variados, uma delas é a *Chenopodium ambrosioides* também conhecida como Erva De Santa Maria. A Erva De Santa Maria foi selecionada em 2009 pelo SUS como medicamento fitoterápico graças as suas particularidades e eficiência contra anti-tumores, anti-inflamatório, anti-hemíntico, analgésico e outros. Mas o que a promoveu a medicamento fitoterápico é sua ação anti-helmíntica (GRASSI, 2011).

### **Características da Erva de Santa Maria e seus usos**

A *C. ambrosioides* é uma planta medicinal da família *Amaranthaceae*, oriunda da América Central e América do Sul, originária do México. Foram feitos relatos em que na época pré-histórica a Erva De Santa Maria era muito utilizada nas Ilhas Canárias, com o intuito de embalsar os cadáveres (POZZATI *et al.*, 2010).

A produção de sementes pela planta é grande, o que auxilia em sua manutenção na natureza. Quanto à exigência nutricional, a Erva De Santa Maria se adapta melhor em solos de textura média, com boa fertilidade e índices pluviométricos em torno de 800 mm anuais (podendo variar), sendo resistente a períodos secos e solos salinos.

Para o crescimento adequado da erva se faz necessário uma boa incidência solar, sendo que a flora e a produção de sementes marcada pelo início de estações que apresentam dias mais curtos, ou seja, com menor incidência solar. Em suas folhas encontram-se uma certa vilosidade, que libera uma espécie de líquido de fragrância mau cheirosa. Quantidade de vilosidades e líquido por elas produzidas varia de acordo com as condições ambientais, sendo que em épocas de seca intensa a planta reabsorve esse fluido ao invés de libera-lo, como mecanismo de defesa e sobrevivência. (POZZATI *et al.*, 2010).

Possui características próprias como o aroma forte e original, produz dezenas de milhares de sementes por planta, é herbácea, podendo chegar até um metro e meio de altura, possuindo caule ereto sulcado e muito ramificado. A Erva De Santa Maria é conhecida também pelos nomes de Mastruz, Mastruço, Mentrucão e outros (TAVARES, 2002) (COSTA, TAVARES, 2006) (DE ALMEIDA *et al.*, 2018).

É usada como antirreumática, anti-helmíntica, estomáquica, sudorífica, cicatrizante, inseticida doméstico para repelir pulgas e percevejos, tendo suas flores e folhas secas para afugentar insetos caseiros, possui ação tônica, digestiva, hiposecretora gástrica e quando misturada em leite possui ação contra doenças respiratórias (TAVARES, 2002) (POZZATTI *et al.*, 2010) (FALCÃO, MORAES, 2020).

Falcão e Moraes (2020) relataram atividade do óleo essencial da Erva De Santa Maria sobre *Leishmania amazonenses*, tendo resultado positivo contra formas de amastigota e promastigota do parasito, com aplicação intraperitoneal e oral.

Foram feitas análises fitoquímicas por Jardim *et al.* (2010) por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM), que permitiu a identificação de  $\alpha$ -terpineno,  $p$ -cimeno, (Z)-ascaridol, (E)-ascaridol, carvacrol e álcool benzílico presentes no extrato hexânico, que são considerados recursos promissores e de grande valor fitoterápico, comprovado (POZZATTI *et al.*, 2010).

Outro estudo sobre a composição da Erva De Santa Maria foi feito, e no óleo essencial da planta, foram identificados  $\alpha$ -terpineno,  $p$ -cimeno, álcool benzílico,  $p$ -cresol,  $p$ -cimen-8-ol,  $\alpha$ -terpineol, (Z)-ascaridol, (E)-ascaridol, piperitona, carvacrol, acetato de piperitol, (Z)-acetato de carvila,  $p$ -menta-1,3,8- trieno, limoneno, timol, tendo em vista que o monoterpene ascaridol é o composto mais presente no gênero *Chenopodium*, o que justifica seu potencial analgésico, sedativo e anti-helmíntico, pois as atividades biológicas associadas ao monoterpene ascaridol geram esses

efeitos, justificando assim o vasto estudo sobre a Erva De Santa Maria, contribuindo para o conhecimento sobre sua eficiência e também possível toxicidade, quando usada de forma errada e em doses altas, podendo desencadear quadro toxémico com cialorréia, taquicardia, taquipneia, alterações sanguíneas e outros (POZATTI *et al.*, 2010) (VALÉRIO, 2014).

O produto extraído da Erva De Santa Maria é obtido através da matéria seca da planta, podendo ser preparado de várias formas, conforme o seu uso, que já foi descrito com inúmeras atribuições e características farmacológicas (COSTA, TAVARES, 2006).

A Erva De Santa Maria foi considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma das plantas mais utilizadas pela humanidade, com inúmeras finalidades, sendo usada também como antimicrobiana, anti-inflamatória, antisséptica, antifúngica entre outras (COSTA, TAVARES, 2006) (FALCÃO, MORAES, 2020).

## **METODOLOGIA**

O experimento foi realizado no Laboratório de Parasitologia do Hospital Escola da Faculdade Vértice -UNIVÉRTIX, em Matipó-MG.

A coleta da planta *C. ambrosioides* foi feita na zona rural em Povoação de Baunilha na cidade de Colatina-ES, popularmente conhecida na região como Erva De Santa Maria ou também como Mastruz, sendo ela utilizada como anti-helmíntico de forma empírica. Foram feitas duas coletas sendo uma para transformação da planta

*C. ambrosioides* em mudas, e a outra coleta para dessecação, para a realização do experimento.

A Erva De Santa Maria foi coletada na tarde do domingo, dia 09/05/2021 e transportada de Colatina-ES até Matipó-MG no dia 10/05/2021. Na cidade de Matipó-MG elas foram desidratadas entre folhas de jornal em local arejado e sombreado durante 10 dias. Após esse período as folhas foram trituradas até que formassem um pó fino. Nesse momento o pó fino resultado da trituração foi submerso em álcool etílico hidratado 70%, na proporção de uma parte de pó para três do solvente durante um período de 48h. Depois desse período houve a filtração e a evaporação do solvente em banho-maria na temperatura de 45°C.

Para preparação das soluções 5 g, 10 g e 20 g do extrato concentrado das folhas da Erva De Santa Maria foram diluídos em 100ml de água destilada estéril, tendo como resultado, soluções com concentrações de 50 mg/mL (5%), 100 mg/mL (10%) e 200 mg/mL (20%).

Para obtenção das larvas de terceiro estágio (L3) de pequenos estrôngilos (ciatostomíneos) foram feitas coprocultura das fezes de animais naturalmente infectados, provenientes do Hospital Veterinário da Faculdade Vértice- Univértix na cidade de Matipó-MG. As fezes foram incubadas a 25°C por 15 dias, seguido da utilização do funil de Baermann, colocando água aquecida a 45°C e aguardando 12h. Após este período as larvas foram identificadas e foi preparado uma solução contendo 100 larvas (L3) por mililitro.

No ensaio experimental foram utilizados três tubos de ensaio para cada tratamento e para o grupo controle. Nos tubos dos grupos tratados foram adicionados 100 larvas (1 ml) e 1 ml do extrato aquoso da *C. ambrosioides* nas concentrações de 50 mg/mL (5%), 100 mg/mL (10%) e 200 mg/mL (20%).

No grupo controle, os tubos receberam 1 mL da suspensão de larvas (100 larvas) e 1 ml de água destilada. Os tubos de ensaio foram incubados em estufa à temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , no escuro, durante 3h. Após esse período, o conteúdo dos tubos dos grupos de tratamento e do grupo controle, foi colocado em lâminas de vidro e analisado em microscópio óptico (10x) para determinar a quantidade de larvas imóveis.

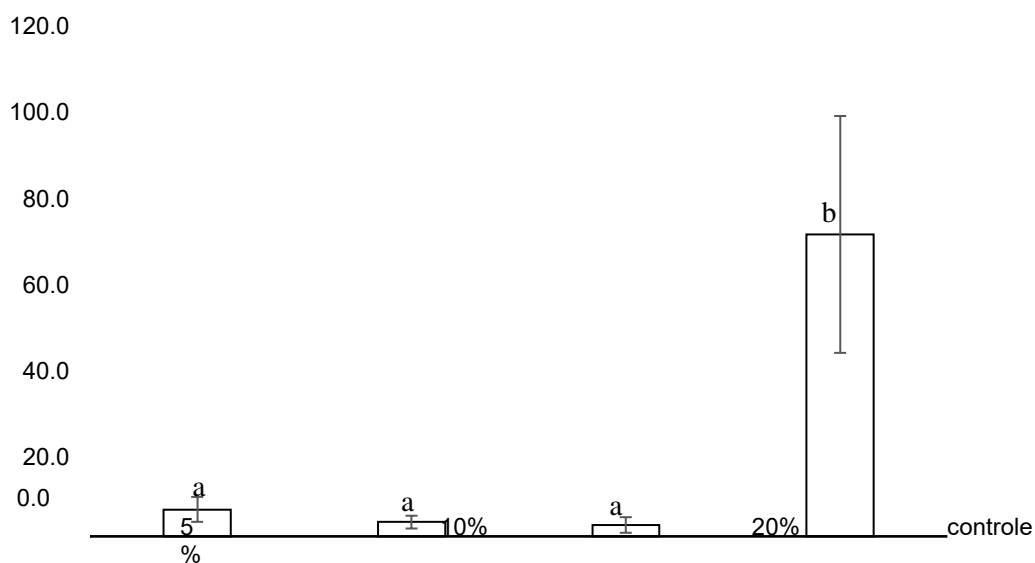
Os resultados adquiridos através da pesquisa foram submetidos à análise de variância e teste de comparação de médias Tukey a nível de 95% de confiança, utilizando-se programa estatístico BioEstat 5.0.

A avaliação da eficácia dos tratamentos sobre a redução do número de larvas, nos diferentes dias após os tratamentos, será feita pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ eficácia} = \frac{\text{Média de larvas controle} - \text{média de larvas do tratado}}{\text{Média de larvas do controle}}$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mostraram uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) nas médias de larvas vivas nos grupos tratados com extrato de *C. ambrosioides* nas concentrações de 5%, média 6 ( $\pm 3$ ) larvas, 10%, com 3 ( $\pm 1,5$ ) larvas, e 20%, média 3 ( $\pm 2$ ) larvas em relação ao grupo controle com média de 71 ( $\pm 28$ ) larvas vivas. Sendo que não houve diferença entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ) (FIGURA1).



**Figura 1:** Média de desvio padrão do número de larvas vivas nos grupos tratados com extrato da *C. ambrosioides* nas concentrações de 5, 10 e 20% e no grupo controle (sem tratamento). Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Apesar de não haver diferença estatística, quando comparamos a média dos grupos tratados com o controle, observamos uma eficácia de 91% para o tratamento com extrato a 5%, 95,3 para a concentração de 10% e 96,2% para o tratamento na concentração de 20% demonstrando) que nas concentrações a 10 e 20% foram altamente eficazes no controle de larvas de ciatostomíneos.

De acordo com a portaria nº 88, de 06 de novembro de 2015 do Ministério da agricultura pecuária e abastecimento (MAPA), para que produtos antiparasitários de uso veterinário sejam comercializados é exigido que apresentem níveis de eficácia mínima de 80% (BRASIL, 2015). Se encaixando no nível de exigência do MAPA, o extrato da Erva De Santa Maria atingiu 91% de eficácia sobre as larvas de ciatostomíneos na menor concentração estudada (5%).

Vita (2013) relata a eficácia do uso de extrato da Erva De Santa Maria, na inibição de motilidade das larvas de *Ascaridia*, *Capillaria*, *Heterakis* e *Strongyloides*

de galinhas, em que o resultado foi de 100% nas concentrações de 0,280 ml produto/0,220 ml H<sub>2</sub>O, 0,200 ml produto/0,300 ml H<sub>2</sub>O, 0,120 ml produto/, 0,380 ml H<sub>2</sub>O, para fitoterapia e homeopatia, sem que precisasse da utilização de análise estatística, pois os resultados para motilidade larvar foi de 0 em todos os casos. De Almeida *et al.* (2007) apresentou a realização de um estudo *in vitro* com larvas de nematoides *Haemonchus*, *Oesophagostomum* e *Trichostrongylus* que pertencem à classe de parasitos gastrintestinais de caprinos, e observaram que o extrato aquoso das folhas da Erva De Santa Maria proporcionou um resultado de 95% de eficácia na redução do número de larvas, na concentração de 110,6 mg/mL.

Em 2009 Egual e Gidaly fizeram testes *in vitro* com extrato aquoso e hidroalcoólico, nas concentrações de 1 mg/mL e 0,5 mg/mL, respectivamente, em ovos e larvas adultas de *Haemonchus contortus* observando inibição de 100%. Foram realizados estudos com inoculação experimental por *Schistosoma mansoni* em camundongos machos Swiss, em que esses animais foram tratados por via oral com extrato da planta *C. ambrosioides*, que mostraram redução da concentração do parasita em 53,7% com a utilização de 1250 mg/kg/dia.

No estudo de Golynski (2003) é relatado que a Erva De Santa Maria apresentou ação anti-helmíntica média de 90,45% para *A. galli*, parasitos de frango, em que nesse experimento foram inseridas folhas trituradas da planta em 900g de ração de engorda, o cálculo foi feito a partir da quantidade necessária de ração para que cada frango comesse a dose de 3g/kg/peso vivo em um período de cinco dias.

Sousa *et al.* (2013) demonstrou em seus estudos que o óleo essencial da *C. ambrosioides* teve eficácia contra *Trichostrongylus sp* na concentração de 0,1mL/kg para ratos infectados.

De Albuquerque *et al.* (2004) mostraram em seus estudos que a Erva De Santa Maria apresentou eficácia contra endoparasitas de *Boa constrictor constrictor* (jiboia) e *Epicrates cenchria assisi* (jiboia arco-íris), sendo utilizado seu extrato por via oral, 01 vez ao dia por 05 dias, repetindo após 07 dias.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Portanto, o presente trabalho verificou que nas concentrações de 5%, 10% e 20% o extrato da *C. ambrosioides* (Erva De Santa Maria) apresentou atividade *in vitro* sobre larvas de ciatostomíneos podendo afirmar que foram satisfatórios por apresentarem alta eficácia na redução das larvas de ciatostomíneos, atendendo à

exigências de um bom anti-helmíntico mostrando ser uma planta promissora para utilização como anti-helmíntico no controle de verminose em equinos, necessitando de mais estudos para determinar a dose adequada para o tratamento dos animais.

## REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, C. L. H. **Desenvolvimento corporal e sua relação com o número de ovos de ciatostomíneos nas fezes em equinos jovens da raça puro sangue inglês**. Orientador: Marcelo Beltrão Molento. 2016. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2016.

BATISTA, F. T. *et al.* O uso de plantas medicinais na medicina veterinária—riscos e benefícios. **Revista Científica Do Curso de Medicina Veterinária**, Gama Leste, Brasília – DF, v. 4, n. 2, p. 62-74, 2017.

BEZERRA, S. Q. *et al.* Ciatostomíneos (*Strongylidae-Cyathostominae*) parasitas de cavalos: Ecologia experimental dos estágios pré-parasíticos em gramínea tifton 85 (*Cynodon spp. cv. Tifton 85*) na baixada Fluminense, RJ, Brasil. **Parasitologia latino americana**, Rio de Janeiro, v. 62, n. 1-2, p. 27-34, 2007.

BORGES, F. A.; NAKAMURA, A. Y.; DE ALMEIDA, G. D.; CADAMURO, H. A. Eficácia de formulações anti-helmínticas comerciais em equinos no município de Douradina, Paraná. **Ciência Animal Brasileira**, Douradina, Paraná, v. 11, n. 3, p. 618-622, 2010.

BRASIL. Portaria Nº 88, de 06 de Novembro de 2015; **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Brasil. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/legislacao/consultas-publicas>. Acesso em Nove. 2021.

CANEVER, R. J. **Diagnóstico da resistência anti-helmíntica em ciatostomíneos de equinos por meio de testes *in vivo* e *in vitro***. Orientador: Marcelo Beltrão Molento. 2012. 99 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2012.

COSTA, M. V. L.; TAVARES, E. S. Anatomia foliar de *Chenopodium ambrosioides* L. (*Chenopodiaceae*)—Erva-De-Santa Maria. **Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu**, Rio de Janeiro, v. 8, n. 3, p. 63-71, 2006.

DE ALBUQUERQUE, H. N *et al.* Uso de plantas medicinais no tratamento de répteis em cativeiro: um estudo preliminar. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Paraíba, v. 4, n. 1, p. 0, 2004.

DE ALMADA, D. A *et al.* Plantas medicinais com propriedades anti-helmínticas utilizadas em caprinos. In: **Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: Simpósio de estudos e pesquisas em ciências ambientais na Amazônia, 6., 2017, Belém, PA. Anais. Belém, PA: UEPA, 2017., 2017.

DE ALMEIDA, M. A. O. *et al.* Efeitos dos extratos aquosos de folhas de *Mentha piperita*

*L.* e de *Chenopodium ambrosoides* L. sobre cultivos de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de caprinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 57-59, Março, 2007.



DE ALMEIDA, T. A *et al.* Atividades biológicas e composição química do óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L. (Erva De Santa Maria). **Revista Científica Univiçosa**, Viçosa, v. 10, n. 1, 2018, Dezembro de 2018.

DE SOUZA, L. S. **Nematóides Ciatostomíneos: Avaliação do desenvolvimento de ovos em baixas temperaturas e efeito de extratos de plantas sobre as fases pré- parasíticas**. Orientador: Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues. 2011. 97 f. Dissertação (Mestre em Ciências no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de concentração em Parasitologia Veterinária) - Universidade Federal Rural do Rio De Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2011.

DE SOUZA, L. P. Prevalência de parasitos gastrintestinais em equinos oriundos de Porto Alegre/RS. 2017. Trabalho de Conclusão de curso (Bacharel em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul Faculdade De Veterinária, Porto Alegre, 2017.

EGUALE, T.; GIDAY, M. *In vitro* Anthelmintic activity of three medicinal plants against *Haemonchus contortus*. **International Journal of Green Pharmacy, Ethiopia**, Sebeta, Etiopia, v. 3, n. 1, p. 29-34, March 2009.

FALCÃO, N. D.; MORAES, F. C. Estudo do potencial da *Chenopodium ambrosioides* L.(Erva-De-Santa-Maria) e seu uso popular como anti-helmíntico. **Revista Científica Eletrônica de Ciências Aplicadas da Fait**, Itapeva, São Paulo, n. 2, p. 13, Maio de 2020.

FENALTI, J. M *et al.* Diversidade das plantas brasileiras com potencial anti-helmíntico. **VITTALLE-Revista de Ciências da Saúde**, Rio Grande do Sul, v. 28, n. 1, p. 38-49, 2016, Novembro de 2016.

GODÉSKI, A.; PEDRASSANI, D.; SZCZERBOWSKI, C. R. Eficácia de anti-helmínticos em equinos da raça Crioula no município de Major Vieira/SC. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, Major Vieira, Santa Catarina, v. 15, p. 59-66, 2017.

GOLYNSKI, A. A *et al.* **Controle de helmintos de frangos de corte utilizando as plantas *Mentha piperita*, *Carapa guianensis*, *Artemisia absinthium* e *Chenopodium ambrosioides***. Orientador: Laerte Grisi. 2003. f 54. Dissertação (Magister Scientiae em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal Rural Do Rio De Janeiro Instituto De Veterinária, Seropédica, Rio de Janeiro 2003.

GRASSI, L. T *et al.* ***Chenopodium ambrosioides* L. Erva De Santa Maria (Amaranthaceae): estudo do potencial anti-inflamatório, antinociceptivo e cicatrizante**. Orientador: Márcia M. de Souza. 2011. 147 f. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas) – Universidade do Vale do Itajaí, Santa Catarina, Vale do Itajaí, Dezembro de 2011.

ISHII, J. B. **Distribuição de códon 167 da isoforma 1 do gene da beta-tubulina em ciatostomíneos de equinos**. Orientador: Marcelo Beltrão Molento. 2015. 77 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2015.

LIGNON, J. S *et al.* Prevalência de nematódeos intestinais em equinos de tração na cidade de Pelotas/RS, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, Pelotas, Rio Grande do Sul, v. 27, p.1-6, 2020, Julho de 2020.

MARTINS, N. S *et al.* Ciatostomíneos: uma revisão sobre a biologia, importância clínica e controle. **Pubvet**, Pelotas, Rio Grande do Sul, v. 13, p. 170, 2019, Fevereiro de 2019.

MARTINS, N *et al.* Ocorrência de parasitos gastrintestinais em equinos da região Sul do Rio Grande do Sul. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, Santana do Livramento, Rio Grande do Sul, v. 9, n. 2, 2017, Novembro de 2017.

MOLENTO, M. B. Resistência parasitária em helmintos de eqüídeos e propostas de manejo. **Ciência Rural**, Curitiba, Paraná, v. 35, n. 6, p. 1469-1477, 2005, Dezembro de 2005.

OLIVEIRA, L. S. T *et al.* Uso de plantas medicinais no tratamento de animais. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, Goiás, v. 5, n. 8, 2009.

PIEREZAN, F *et al.* Enterite granulomatosa associada a larvas de ciatostomíneos em eqüinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio Grande do Sul, v. 29, p. 382-386, 2009, Maio de 2009.

RIBEIRO, A. A. Aspectos gerais das boas práticas na criação de equinos. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Zootecnia) - Escola de Ciências Agrárias e Biológicas da Pontifícia Universidade Católica de Goiana, Goiás, 2020.

SÁ, R. D. **Estudo farmacognóstico de *Chenopodium ambrosioides* L.(*Chenopodiaceae*)**. Orientador: Karina Perrelli Randau. 2013. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, 2013.

SOUSA, R. G. *et al.* Atividade anti-helmíntica de plantas nativas do continente americano: uma revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, São Paulo v. 15, p. 287-292, 2012, Maio de 2012.

TAVARES, M. A. G. C. **Bioatividade da erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L.(*Chenopodiaceae*), em relação a *Sitophilus zeamais* Mots., 1855 (Col: Curculionidae)**. Orientador: 2002. 71 f. Tese (Mestrado em Entomologia-Escola Superior de Agricultura) - Universidade Luiz de Queiroz, Piracicaba, São Paulo, 2002.

VALÉRIO, E. S. **Avaliação da atividade dos extratos hidroetanólico de *Chenopodium ambrosioides* L. e de *Eucalyptus alba reinw ex blume*, frente a cepas de *Mycobacterium* sp.** Orientador: Francisco Martins Teixeira. 2014. 119 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Pará, Belém-Pará, 2014.

VERA, J. H. S. **Resistência anti-helmíntica em equinos na Região Oeste do Estado de São Paulo**. Orientador: Ricardo Velludo Soutello. 2014. 67 f. Dissertação

(Mestrado em Ciência e Tecnologia Animal) - Universidade Estadual Paulista "Julio Mesquita Filho" – UNESP, São Paulo, 2014.

VITA, G. F. *et al.* Eficácia de *Chenopodium ambrosioides* (Erva-De-Santa-Maria) no controle de endoparasitos de *Gallus gallus* (galinha caipira). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, Rio de Janeiro, v. 34, p. 39-45, 2014, Maio de 2014.

## MACERAÇÃO FETAL EM CONSEQUÊNCIA DE ERLIQUIOSE EM PERÍODO GESTACIONAL – RELATO DE CASO

**Acadêmicos:** Maruzan dos Anjos Moura e Nathan Passos dos Santos

**Orientador:** Caio Monteiro Costa

### RESUMO

A erliquiose é uma doença transmitida pelo carrapato *Rhipicephalus sanguineus* e é causada por um parasita intracelular obrigatório, *Ehrlichia spp.*, sendo a *E. canis* o agente mais frequente que infecta os cães causando os quadros clínicos mais severos. O diagnóstico da doença é baseado na combinação de histórico, achados clínicos e testes laboratoriais. A forma de diagnóstico mais utilizada na rotina clínica é o teste rápido para hemoparasitoses, devido a sua praticidade. Seu tratamento é prolongado, feito com utilização de antibioticoterapia e tratamento suporte. Por se tratar de uma zoonose, difundir o conhecimento acerca da doença se faz necessário no que tange a sua prevenção. A erliquiose também pode ser um fator agravante da gestação, visto que é um período de grandes mudanças fisiológicas no corpo da cadela, que altera seu sistema imunológico, sua necessidade diária de ingestão de nutrientes e todas as suas funções metabólicas para a correta manutenção do período gestacional. Devido às alterações decorrentes da gestação na espécie canina, doenças parasitárias, como a erliquiose, interferem diretamente na constituição do feto causando deformidades, má formação e até a sua morte. A maceração é definida por um processo séptico de degeneração do feto, que fica retido no útero e sofre amolecimento e liquefação dos tecidos fetais, culminando em esqueletização. No presente relato, a maceração fetal decorrente da erliquiose acarretou a morte fetal por anóxia. O tratamento foi realizado de forma cirúrgica, sendo necessário o procedimento de ovário-salpingo-histerectomia. Sendo assim, o presente trabalho tem por objetivo relatar um caso de maceração fetal decorrente de erliquiose gestacional e elucidar essa ocorrência, que é de comum aparecimento na rotina clínica e, no entanto, existem poucos estudos que delimitam protocolos eficientes para assegurar a saúde da mãe e dos fetos.

**PALAVRAS CHAVE:** erliquiose, erliquiose gestacional, maceração fetal, período gestacional.

**LINHA DE PESQUISA:** Clínica e Cirurgia Animal.

### INTRODUÇÃO

A erliquiose canina foi descrita em 1935, na Argélia, a partir de estudos de Donatien e Lestoquard, que observaram organismos nas células mononucleares circulantes de cães infestados por carrapatos e os denominaram de *Rickettsia canis*. Em 1945, renomeou-se o organismo como *Ehrlichia canis*, como é conhecido atualmente (SILVA *et al.*, 2011). A doença é transmitida pelo carrapato *Rhipicephalus sanguineus* e é causada por um parasita intracelular obrigatório, *Ehrlichia spp.*, sendo a bactéria *E. canis* o agente mais frequente que infecta os cães

causando os quadros clínicos mais severos (SILVA *et al.*, 2015). A *Ehrlichia spp.* é transmitida ao hospedeiro pela saliva do carrapato infectado, que é inoculada durante a ingestão do sangue do hospedeiro (SILVA *et al.*, 2011).

No que tange à epidemiologia da doença, esta é considerada uma zoonose, uma vez que atinge, além de outras espécies animais, o ser humano (ISOLA *et al.*, 2012), o que reforça a importância da disseminação do conhecimento acerca dessa enfermidade. No Brasil, sua ocorrência tem aumentado e em diversos estados do país os cães atendidos possuem anticorpos contra *Ehrlichia c.* Segundo comprovações epidemiológicas, a prevalência de erliquiose monocítica canina é de cerca de 65% em ambientes urbanos e rurais. Portanto, é de suma importância o controle da doença para evitar a proliferação do carrapato e diminuir a propagação da doença, tanto em humanos quanto nos animais (SILVA *et al.*, 2011).

O diagnóstico da erliquiose canina é geralmente realizado por meio de sorologia, associado com sinais clínicos, resultados laboratoriais e achados citológicos. O tratamento da doença é realizado com algumas drogas, tais como tetraciclina, oxitetraciclina, doxiciclina e dipropionato de imidocarb, e a resposta à terapia é avaliada através da melhora das condições do animal, como retorno do apetite e melhora do comportamento e do quadro hematológico (ISOLA *et al.*, 2012).

A erliquiose também pode ser um fator agravante da gestação, pois esse é um período de grandes mudanças fisiológicas no corpo da cadela, que causa alterações no seu sistema imunológico, na sua necessidade diária de ingestão de nutrientes, entre outros. O período médio da gestação em cadelas é de 62 dias, porém, menos de 30% do crescimento fetal ocorre nas cinco ou seis primeiras semanas. Sendo assim, a cadela ganha pouco peso e demanda menor aporte nutricional nos dois terços iniciais da gestação (MELO *et al.*, 2009). Mais de 75% do ganho de peso e metade do crescimento embrionário ocorre do 40º ao 55º dia de gestação, demandando grandes aportes nutricionais neste período. A erliquiose gestacional causa grande comprometimento à saúde da mãe, num momento em que ela fica com o sistema imune deprimido (MELO *et al.*, 2009).

Com essas considerações, o presente trabalho constitui-se de um relato de caso de maceração fetal decorrente de erliquiose gestacional e de uma análise para a elucidação dessa ocorrência, visto que a erliquiose gestacional é de comum

aparecimento na rotina clínica e existem poucos estudos que descrevem protocolos eficientes para assegurar a saúde da mãe e dos fetos.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

As erliquioses constituem um grupo de doenças transmitidas por carrapatos e são causadas por bactérias do gênero *Ehrlichia*. Dentre os agentes, apenas a *E. canis* possui relevância no Brasil, visto que seu vetor é o que mais possui importância epidemiológica. Seu agente etiológico é uma bactéria do gênero *Rickettsia*, altamente pleomórfica, com formato de cocobacilos e gram-negativa, envolta por uma membrana externa delgada e ondulada, que se multiplica por divisão binária e pertence ao gênero *Ehrlichia* e à família Anasplasmataceae. É um microrganismo intracelular obrigatório e aeróbio, que não tem capacidade de realizar todas as vias glicolíticas devido a sua carência de genes codificadores do metabolismo, portanto, apropria-se dos nutrientes que estão ao seu redor por meio de porinas. A *Ehrlichia canis* mede 0,2 - 0,4 µm de diâmetro (SILVA *et al.*, 2015) e atua infectando os monócitos e macrófagos de canídeos (BARRIO, 2016).

No vetor, o microrganismo se multiplica nos hematócitos e nas células da glândula salivar. Depois de infectado, o carrapato transmite a *Rickettsia* por 155 dias (SILVA *et al.*, 2011; *apud* ALMOSNY, 2002; SILVA *et al.*, 2010). No animal infectado, o microrganismo localiza-se nas células do sistema retículo endotelial do fígado, baço, linfonodos e medula óssea, onde atingem primeiramente as células mononucleares e linfócitos (MENDONÇA *et al.*, 2005).

O período de incubação do microrganismo é de 8 a 20 dias e a doença possui três fases: aguda, subclínica e crônica. A primeira se desenvolve entre 1 e 3 semanas após a picada do vetor, fase em que a *Ehrlichia* entra nas células para se reproduzir e pode levar o hospedeiro a quadros de anemia, febre, emagrecimento, entre outros (MELO *et al.*, 2009). A segunda fase, ou fase subclínica, dura em torno de 6 a 9 semanas e é ausente de sinais clínicos. É difícil o diagnóstico nesse período, podendo haver neutropenia como um achado hematológico indicativo da doença (MENDONÇA *et al.*, 2005). A terceira fase, ou fase crônica, se apresenta em uma média de 1 a 4 meses após a picada do vetor, de forma leve ou severa, de acordo com o estado do hospedeiro. Seus sintomas são perda de peso, anemia e sinais neurológicos (MELO *et al.*, 2009). Também pode ser encontrado como achado

hematológico uma anemia normocítica normocrômica arregenerativa, devido à supressão e à hipoplasia da medula óssea (MENDONÇA *et al.*, 2005).

O ciclo da *Ehrlichia* é constituído por três principais fases, sendo elas: penetração dos corpos elementares nos monócitos (se alojando por cerca de dois dias), multiplicação do agente com a formação de corpo inicial (cerca de três a cinco dias) e formação das mórulas (MONTEIRO, 2007). No momento da transmissão, o carrapato pode transmitir também outras doenças, como babesiose, hepatozoonose e hemobartonelose, porém, a importância maior se dá pela transmissão da erliquiose devido aos seus quadros clínicos mais severos (SILVA *et al.*, 2015).

O cão é infectante apenas na fase aguda da doença, quando existe uma quantidade significativa de hemoparasitas no sangue. O carrapato, por sua vez, pode permanecer infectante por aproximadamente um ano, visto que a contaminação pode ocorrer em qualquer fase do ciclo.

Durante a fase aguda, a riquetsia tem replicação nas células mononucleares, localizadas nos linfonodos, baço e medula óssea, o que resulta em aumento de volume desses órgãos. Podem ocorrer nessa etapa trombocitopenia e anemia em decorrência da destruição de hemácias e plaquetas (SILVA *et al.*, 2015). Durante essa fase, devido à elevada replicação do microrganismo nas células dos diversos tecidos do animal, ocorre o deslocamento das células infectadas para as margens dos pequenos vasos causando vasculite, o que pode acarretar hemorragias, inclusive intraoculares (VELOSO *et al.*, 2021). Com isso, o animal pode apresentar sinais clínicos como febre, perda de apetite, dispneia, petéquias, equimoses, uveíte, convulsões e incoordenação (SILVA *et al.*, 2015).

A fase subclínica geralmente é assintomática, mas podem ser relatadas algumas complicações, como edema de membros, depressão, hemorragias e palidez de mucosas. A fase crônica se assemelha às características de uma doença autoimune, refletindo os sintomas da fase aguda de maneira mais branda, sendo que o animal pode apresentar-se apático, caquético e com suscetibilidade aumentada para doenças oportunistas (SILVA *et al.*, 2015).

A severidade da doença vai depender da idade do animal, da alimentação, de doenças concomitantes e da virulência da cepa infectante. Ademais, acredita-se que a doença se apresente de forma mais severa em cães da raça doberman, pincher e pastor alemão. Nos pastores alemães, em específico, essa suscetibilidade se dá

devido à depressão da imunidade mediada por células nesta raça. Sua prevalência coincide com a prevalência de seu vetor, *Rhipicephalus sanguineus*, tendo registros em muitos países de clima temperado, tropical e subtropical. Sua ocorrência é relatada em diversas regiões geográficas, tais como sudeste da Ásia, África, Europa, Índia, América Central e América do Norte (SILVA *et al.*, 2015). No Brasil, predomina na região Nordeste, e sua menor ocorrência é na região Sul do país. Fatores relacionados a condições climáticas, distribuição do vetor, população sob estudo e habitat podem afetar diretamente sua prevalência.

O diagnóstico da doença é baseado na combinação de histórico, achados clínicos e testes laboratoriais. Apesar de a trombocitopenia não permitir um diagnóstico preciso da doença, no caso de áreas endêmicas, a erliquiose deve ser a primeira suspeita, e pode ser confirmada mediante hipoalbuminemia e hiperglobulinemia. Além dessas alterações, também podem ser encontradas monocitose, eritrofagocitose, pancitopenia, proteinúria, azotemia, leucopenia, bicitopenia, microalbuminúria e aumento da viscosidade do sangue como alterações laboratoriais (FRUET, 2005).

A forma de diagnóstico mais utilizada são os testes sorológicos, que são clinicamente mais úteis e mais confiáveis que os demais. Anticorpos contra *E. canis* podem ser detectados por imunofluorescência indireta ou “Dot-Elisa”, que constituem métodos sensíveis e muito específicos, que permitem o diagnóstico preciso da doença (FRUET, 2005). Também é utilizada a fim de diagnóstico a pesquisa de mórulas em células parasitadas, que é realizada em esfregaços finos, fixados em metanol e corados por panótico rápido (FRUET, 2005).

Dentre os testes sorológicos, a utilização rotineira na clínica é o teste rápido contra hemoparasitoses, devido a sua praticidade e facilidade de uso, com altas taxas de precisão no diagnóstico da erliquiose. Além da erliquiose, o teste também possui sensibilidade a outras hemoparasitoses, como *Anaplasma sp.*, *Dirofilaria sp.* e doença de Lyme. Porém, devido a sua forma de utilização que individualiza os resultados positivos de tais doenças, o teste torna-se eficaz e específico para o tratamento da erliquiose, sendo o agente *E. canis* detectado pela presença de anticorpos contra peptídeos derivados da principal proteína imunodominante P 30 e P30-1 do parasita, e pela reação cruzada com *E. ewingii*, usando o peptídeo derivado da proteína de membrana externa P28 da família (PEIXOTO, 2019).



No que tange ao tratamento da erliquiose, as drogas que foram relatadas com sucesso em seus protocolos incluem as tetraciclinas, o cloranfenicol, o dipropionato de imidocarb e a amicarbalida. A doxiciclina é uma clortetraciclina e apresenta eficácia clínica com poucos efeitos colaterais, sendo a droga de escolha para o tratamento da erliquiose canina, com mais vantagem em relação a outras tetraciclinas; sua dose recomendada é de 10mg/kg/dia durante 28 dias. Mais recentemente, a rifampicina tem sido estudada e sugerida como droga alternativa no tratamento. Os efeitos da rifampicina por via oral durante 7 dias (15mg/kg TID) foram comparados aos da doxiciclina e as duas drogas demonstraram efeitos semelhantes. Contudo, reforça-se o uso da rifampicina, visto que seu período de administração e de tratamento é menor quando comparado à doxiciclina (AZEVEDO, 2012).

Além da terapia com antibióticos, um adequado tratamento de suporte é necessário, principalmente nos quadros crônicos, com a administração de fluídos, transfusões sanguíneas e corticoides, e é de suma importância a profilaxia da doença mediante o controle do carrapato vetor causador (AZEVEDO, 2012).

A erliquiose pode afetar diretamente o ciclo gestacional da cadela, já que são alterados diversos padrões fisiológicos do animal parasitado. Com isso, é de suma importância o entendimento do processo fisiológico da gestação e de como a patologia irá alterar seus parâmetros.

A cadela é uma espécie monoéstrica não estacional que apresenta ciclo estrais longos, com uma mudança gradativa e com grau de sobreposição entre as fases folicular e lútea, devido à luteinização precoce dos folículos ovarianos. Seu ciclo estral consiste em quatro fases recorrentes: proestro, estro, diestro e anestro fisiológico (SILVA; LIMA, 2018). Para que ocorra a gestação, é preciso que haja cópula natural ou inseminação artificial (IA), fecundação dos ovócitos, implantação e desenvolvimento embrionário. O período fértil da cadela se estende do final do proestro até metade do estro, e cada uma dessas fases pode permanecer de três dias até três semanas, durando em média de sete a dez dias. (LUZ *et al.*, 2005).

As ovulações ocorrem geralmente 48 horas após o pico pré-ovulatório de hormônio luteinizante (LH), embora nesse período os ovócitos ainda não estejam fertilizáveis, pois são ovulados como ovócitos primários, no estágio de vesícula germinativa, e há necessidade de um período de dois a três dias para que ocorra a

maturação nos ovidutos. Dois a três dias após o pico de LH, os ovócitos atingem a metáfase da primeira meiose e após três a cinco dias, a metáfase da segunda meiose, com expulsão do primeiro corpo polar. Após a fertilização, os embriões passam pelo período de clivagem dos blastômeros e atingem o útero por volta do décimo primeiro dia (LUZ *et al.*, 2005).

A placenta das cadelas é caracterizada como endoteliocorial, com quatro camadas entre o feto e a mãe, sendo elas o córion, o mesênquima e o endotélio fetal. Devido à disposição de tais camadas ao redor do feto, esse tipo de placenta é denominado zonaria e envolve completamente o feto (LUZ *et al.*, 2005). Para o desenvolvimento da gestação, são necessárias altas concentrações de progesterona (P4), que são produzidas exclusivamente pelos corpos lúteos (na cadela). A formação do corpo lúteo (CL) na espécie canina se inicia antes das ovulações, quando há o processo de luteinização pré-ovulatória das células foliculares. Normalmente, os CLs são capazes de manter altas concentrações de P4 em uma média de 50 a 60 dias após o pico pré-ovulatório de LH. Sendo assim, apenas na segunda metade da gestação, altas concentrações de prolactina são necessárias para a manutenção funcional dos CLs. Tomando como base o pico pré-ovulatório de LH, a maioria das cadelas tem gestação com duração média de 65 dias (LUZ *et al.*, 2005).

Devido às alterações decorrentes da gestação na espécie canina, doenças parasitárias, como a erliquiose, interferem diretamente na formação do feto causando deformidades, má formação e até sua morte. A maceração fetal decorrente da erliquiose é definida por um processo séptico de degeneração do feto, que fica retido no útero e sofre amolecimento e liquefação dos tecidos fetais, culminando em uma esqueletização. Essa maceração, que pode acarretar a morte fetal por anóxia (MELO *et al.*, 2009), tem entre suas possíveis causas o uso indevido de compostos progesteracionais (RODRIGUES *et al.*, 2018).

Os sintomas desse quadro são variados, podendo ocorrer desconforto abdominal, corrimento vaginal de coloração variada e odor fétido, presença de fragmentos de tecido e ossos fetais, diminuição gradativa do apetite e emagrecimento, e em alguns casos até a perfuração uterina por ossos (RODRIGUES *et al.*, 2018). Para que ocorra a maceração de um feto, é necessária a presença de microrganismos no útero, pois eles são os responsáveis pela morte

fetal propriamente dita, ou participam da putrefação que penetra no útero após a morte fetal, por infecção ascendente através da cérvix e vagina (SALES *et al.*, 2016).

Vários fatores são predisponentes da maceração fetal, como o uso de anticoncepcionais, parto distócico, uso de ocitocina em protocolos, torção uterina, doenças parasitárias, entre outros (SALES *et al.*, 2016). Caso a maceração fetal seja seguida de endometrite, possuirá um prognóstico reservado devido à possibilidade de envolvimento de outras camadas uterinas e do possível desenvolvimento de septicemia e toxemia da fêmea (SALES *et al.*, 2016).

Para realização do diagnóstico de maceração fetal, é necessário fazer a avaliação do histórico do paciente, com a identificação dos sinais clínicos e a realização de ultrassonografia para analisar a presença de ossos no útero ou na cavidade abdominal que, nesses casos, é denominada ruptura de útero. Em determinadas situações, tais métodos são insuficientes para a confirmação, sendo necessária a intervenção cirúrgica de laparotomia exploratória urgente, para evitar o choque séptico (GOMES *et al.*, 2019).

O tratamento para a maceração fetal é realizado de forma cirúrgica, sendo necessário o procedimento de ovário-salpingo-histerectomia (GOMES *et al.*, 2019). No que tange à erliquiose gestacional, é necessária a compreensão de como a fisiologia da doença se demonstra em concordância com as alterações fisiológicas da cadela durante a gestação.

A cadela que estiver parasitada pela *Ehrlichia sp.* pode desenvolver uma anemia não diagnosticada durante a gravidez, que causará hemólise e desencadeará uma trombocitopenia. Visto que as hemácias são responsáveis por carrear o oxigênio, todo o organismo ficará mal oxigenado e, conseqüentemente, o feto não receberá a carga devida de oxigênio em uma das mais importantes etapas da formação embrionária, culminando em má formação fetal (MELO *et al.*, 2009). A placenta de cadela é do tipo endoteliochorial, e este tipo de placenta permite que haja trocas nos vasos sanguíneos endometriais, que acarretará troca de células parasitadas pela *Ehrlichia sp.* da mãe para o feto (MELO *et al.*, 2009).

## **RELATO DE CASO**

No dia, 22/02/2021, em uma clínica veterinária particular, localizada na região da Zona da Mata Mineira, foi atendido um canino, fêmea, da raça pinscher, de idade

não conhecida, que apresentou queixa principal de sangramento vulvar que persistia por dois dias. Durante esse período, o animal começou a manifestar comportamento apático e prostrado, e então, o tutor procurou o serviço veterinário.

Na anamnese, foi informado que a cadela tinha entrado no cio aproximadamente 30 dias atrás e realizou a cópula. Sua alimentação se baseava em uma ração *premium* e a vacinação estava em dia, mas não foi apresentado o cartão de vacina. Diferente da vacinação, a vermifugação estava em atraso e o controle de ectoparasitas era inexistente. A cadela vivia em domicílio, em ambiente com acesso ao quintal, mas não possuía contactantes. Segundo a tutora, não foi administrado qualquer tipo de medicação. Após essas informações, foi realizado o exame clínico-físico.

As mucosas encontravam-se levemente hipocoradas e levemente secas. Com o turgor cutâneo, foi classificada uma desidratação de 7%. As frequências cardíaca e respiratória não apresentaram alterações (128 bpm e 32 mpm, respectivamente) e a palpação dos linfonodos não mostrou reatividade. Na inspeção da cavidade oral, observou uma doença periodontal leve. No tegumento, foi observada a presença de pulgas. A secreção do líquido sanguinolento ainda persistia e a temperatura corporal apresentou-se levemente elevada. Além das informações citadas, não houve outras alterações sistêmicas ou locais dignas de nota. Após o exame físico, foram solicitados os seguintes exames complementares: hemograma, bioquímico, teste SNAP 4Dx (teste exposição a patógenos hemáticos) e ultrassom abdominal. Houve presença de pulgas no tegumento, confirmando o ectoparasitismo, comumente observado quando não há o controle por medicação. O primeiro hemograma foi realizado dia 22/02/21 e está representado na Tabela 1.

<b>TABELA 1 - Hemograma (22/02/21)</b>		
<b>Eritrograma:</b>		
	Resultado	Referência
<b>Eritrócitos (*106/ l)</b>	2.89	5,5 – 8,5
<b>Hemoglobina (g/dl)</b>	6.50	12,0 a 18,0
<b>Hematócrito (%)</b>	21.00	37 a 55
<b>VCM (fl)</b>	72,7	60 a 77
<b>CHCM (%)</b>	31.0	30 – 35
<b>Leucograma: (Cels/ul)</b>		
<b>Eosinófilos</b>	1.485	100 a 1.250
<b>Bastonetes</b>	990	0 a 300
<b>Segmentados</b>	12.870	3.000 a 11.500

<b>Monócitos</b>	0	150 a 1.350
<b>Plaquetas:</b>	132.000	175.000 a 500.000

Com os resultados do hemograma apresentado na Tabela 1, foi percebida uma diminuição do percentual dos eritrócitos, trombocitopenia, e, no leucograma, neutrofilia e eosinofilia. O teste 4Dx positivou para *Ehrlichia canis*. No ultrassom, foram identificadas três estruturas sugestivas a vesículas embrionárias, mas não foram notados batimentos cardíacos dos possíveis fetos.

Então, para obter-se um diagnóstico definitivo, foi realizada celiotomia exploratória a fim de verificar o útero, para confirmar a presença dos fetos e outras possíveis alterações dos órgãos da cavidade abdominal, principalmente dos órgãos geniturinários. A cadela ficou internada, em fluidoterapia contínua de Ringer Lactato a 70ml/kg/dia, e, por se tratar de um caso de urgência, o procedimento foi realizado um dia após o atendimento (23/02/21). O protocolo anestésico utilizado foi:

1. Midazolam 0,2 mg/kg
2. Propofol 5 mg/kg
3. Manutenção com Isoflurano (1,5 – 2,5%)

Na cirurgia, realizada um dia após o atendimento (23/02/2021), foi confirmada a presença de três fetos, dois deles já macerados. A ovariohisterectomia (OSH) foi realizada como uma medida terapêutica, retirando o útero gravídico com os fetos mortos. As figuras 1 e 2 mostram o útero retirado através da OSH.

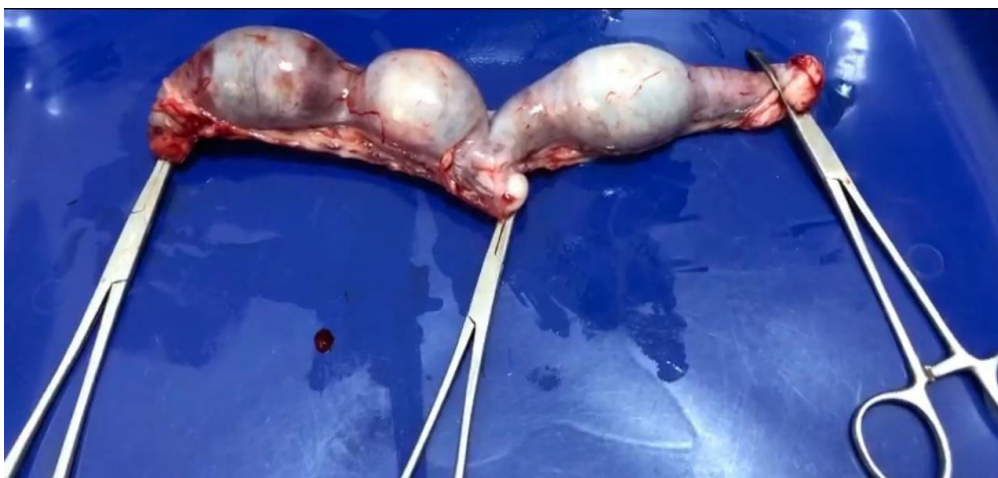


Figura 1-Útero gravídico com três bolsas gestacionais. Arquivo pessoal. 2021.



Figura 2 - Exposição dos fetos macerados. Arquivo pessoal. 2021.

Celiotomia é uma palavra derivada do grego e significa corte do abdômen. A técnica é descrita, segundo FOSSUM (2014), como uma incisão ventral mediana da pele, podendo iniciar desde o processo xifoide até caudalmente ao púbis, variando de acordo com o interesse cirúrgico. Após incisionar a pele, realiza-se a incisão do tecido subcutâneo até a fáscia externa do músculo reto do abdome. Com o músculo exposto e a linha alba identificada, eleva-se a musculatura e ocorre o corte. No processo da síntese, a sutura é realizada em três planos: primeiro a musculatura, depois o subcutâneo e, por último, a pele.

Após a cirurgia, a paciente recebeu fluidoterapia com a solução de Ringer Lactato 70ml/kg e, no dia 24/02/21, foi realizado o segundo hemograma, que está descrito na Tabela 2.

---

**Tabela 2 - Hemograma (24/02/21)****Eritrograma:**

	Resultado	Referência
<b>Eritrócitos (*10<sup>6</sup>/ l)</b>	3.35	5,5 – 8,5
<b>Hemoglobina (g/dl)</b>	6.90	12,0 a 18,0
<b>Hematócrito (%)</b>	24.00	37 a 55
<b>VCM (fl)</b>	71,6	60 a 77
<b>CHCM (%)</b>	28,8	30 – 35
<b>Leucograma:</b>	<b>Cels/ul)</b>	
<b>Leucócitos</b>	19.900	6.000 a 17.000
<b>Bastonetes</b>	398	0 a 300
<b>Segmentados</b>	17.313	3.000 a 11.500
<b>Monócitos</b>	0	150 a 1.350
<b>Plaquetas:</b>	284.000	175.000 a 500.000

---

Para o tratamento medicamentoso, foi prescrito:

1. Doxiciclina VO 10 mg/kg SID - 28 dias;
2. Tramadol IV 6 mg/kg - 3 dias;
3. Meloxicam IV 0,1 mg/kg - 3 dias
4. Pantoprazol IV 1 mg/kg - 10 dias.

Posteriormente, a cadela foi liberada e retornou dia 05/03/21 para acompanhamento e retirada dos pontos, quando também foi realizado o último hemograma, cujo resultado é apresentado na Tabela 3.

**Tabela 3 - Hemograma (05/03/21)**

Eritrograma:			Fonte
	Resultado	Referência	
Eritrócitos (*106/ l)	5.36	5,5 – 8,5	: SCH
Hemoglobina (g/dl)	11.30	12,0 a 18,0	ALM'
Hematócrito (%)	37.00	37 a 55	s
VCM (fl)	69,0	60 a 77	Veteri
CHCM (%)	30,5	30 – 35	nary
Plaquetas:	807.000	175.000 a 500.000	Hema tology (2000 ).

## DISCUSSÃO

Nas cadelas, o sangramento de origem vulvar pode ser ocasionado por diversas razões, podendo estar relacionado a patologias do próprio sistema genital e também a alterações sistêmicas, como de origem hormonal, processos inflamatórios e disfunção da cascata de coagulação (RODRIGUES, 2019). Sendo assim, é necessário fazer uma anamnese detalhada, identificando o início, o progresso e possíveis alterações que resultaram no extravasamento de líquido através da vulva, para que se possa reparar a causa base o mais rápido possível e interromper a perda de sangue, se for o caso. No exemplo relatado, a secreção advinha do processo de maceração, situação em que ocorrem corrimentos vaginais (RODRIGUES *et al.*, 2018).

Apatia e prostração são comportamentos indicativos de que a saúde do animal não se encontra em homeostase. Mas esses sinais podem estar presentes em diversas ocasiões, causados por doenças infecciosas, síndromes e podem até mesmo ter origem psíquica (FEITOSA, 2014). Portanto, não é possível tirar conclusões a partir desse sinal, sendo necessário correlacionar o histórico, exame físico e exames complementares para se chegar ao diagnóstico. Contudo, foi mediante esses sinais que o tutor levou o animal à clínica.

Segundo Feitosa (2014), uma anamnese bem conduzida, torna-se o principal recurso para o clínico fechar um diagnóstico. No caso atendido, as informações obtidas foram fundamentais para o decorrer da prática e para o sucesso na elaboração e sequenciamento de exames e condutas.



A informação relatada de que a cadela esteve em período reprodutivo aproximadamente trinta dias antes da consulta levantou a suspeita de uma possível gestação, visto que a fêmea tinha realizado a cópula. Não houve utilização de progestágenos nem antes e nem após o cio e, de acordo com o tutor, ela vivia em domicílio, mas nessa ocasião havia fugido. Sobre sua habitação, o animal tinha acesso a um quintal caracterizado como local oportuno para o desenvolvimento do ciclo de parasitas. Na anamnese, foi comunicado que o controle de ectoparasitas era ausente, o que constitui um grande perigo à saúde do animal devido à possibilidade de parasitismo, principalmente pelo *Rhipicephalus sanguineus*, o ectoparasita mais presente e relevante entre os cães por causar o desenvolvimento de importantes doenças (GUIMARÃES; LIMA; ROCHA, 2011).

No exame clínico, foi observada desidratação moderada mensurada em 7%. A desidratação é a perda total de água no organismo, podendo ser ocasionada por diversos fatores, desde a diminuição da ingestão de água, aumento de sua excreção, ou até distúrbios osmóticos (BALBINOT, 2007). Nesse caso, o sinal de prostração demonstra uma menor atividade, o que diminui a ingestão de água. Outro fator caracterizado é a perda de líquido, através da secreção sanguinolenta. Com a diminuição do volume circulante, as mucosas e periferias corpóreas recebem fluxo de sangue diminuído, por isso as mucosas se apresentam hipocoradas e o tempo de preenchimento capilar aumentado. Contudo, a coloração das mucosas não pode ser exclusivamente associada à diminuição de água, visto que a proteína hemoglobina é responsável pela coloração do sangue. Sendo assim, anemias também podem alterar a coloração das mucosas.

Um fator de risco importante para a gestação é o acontecimento de imaturidade fetal no momento do parto. Por essa razão, os neonatos caninos são extremamente vulneráveis a hipóxia, hipotermia, hipoglicemia, desidratação e infecções (SOUZA *et al.*, 2017). Sendo assim, a hidratação da gestante deve ser constantemente monitorada para garantir o correto desenvolvimento fetal durante a gestação e diminuir os riscos de problemas no neonato decorrentes da desidratação.

No caso relatado, as frequências cardíaca e respiratória, 128 e 32, respectivamente, estavam dentro dos padrões fisiológicos (FEITOSA, 2014). Na aferição da temperatura corporal, através da mucosa retal, considerada o padrão mais fidedigno (RODRIGUES; CUNHA, 2019), foram constatados 39,5°C,

temperatura um pouco elevada quando comparada ao padrão fisiológico da espécie (37,0 °C - 39,2°C). A linfonomegalia estava ausente, descartando uma infecção próximo aos linfonodos regionais palpáveis. Uma periodontite leve foi identificada, dado que corrobora os estudos de Garcia *et al.* (2008), que diz que até 85% dos cães apresentam algum grau de doença periodontal e, apesar da mínima ou de nenhuma interação com a sintomatologia atual, é sempre importante ressaltar a importância da prevenção e dos cuidados com a cavidade oral dos animais de companhia.

A anamnese e o exame clínico são as formas diretas de avaliar o paciente, são cruciais e de forma alguma devem ser dispensadas. Já os exames complementares são as formas indiretas para obter informações de todo o estado de saúde do animal. Com o avançar da tecnologia e da medicina, hoje existem diversos métodos e tipos de exames que contribuem para auxiliar no diagnóstico. Mas com a grande variedade de exames, é necessário que o médico veterinário conheça e saiba delimitar aqueles que serão mais importantes e quais são mais indicados em cada situação. Hoje, na medicina moderna, os resultados são muito fidedignos e confiáveis, pois auxiliam os profissionais a fecharem diagnósticos mais assertivos e assim permitem um tratamento correto, culminando na melhora clínica mais rápida (PIRES, 2010).

O hemograma é o exame complementar mais comum e mais utilizado na rotina clínica médica (GONZÁLEZ; SILVA, 2008). Pode-se dizer que ele é indispensável em qualquer atendimento, desde os mais simples até os mais complexos. Através dele, é possível obter um panorama geral de vários sistemas e da funcionalidade sistêmica do organismo. Ele é essencial tanto para ajudar no diagnóstico quanto para verificar progresso da doença ou o tratamento. No presente relato, foram realizados três hemogramas em três momentos distintos.

No hemograma representado na Tabela 1 foi identificada uma anemia moderada, normocitêmica e normocrômica, podendo ser não regenerativa ou início de regeneração (DRUMOND, 2013). Eosinofilia, neutrofilia e monocitopenia também foram alterações identificadas no exame, assim como trombocitopenia.

Geralmente, uma cadela parasitada por *Ehrlichia sp.* pode desenvolver um quadro de anemia grave, que pode ser responsável por causar hemólise e desencadear um quadro de trombocitopenia. Com isso, seus fetos não recebem a

carga de oxigênio devida em uma das mais importantes etapas da formação embrionária, incorrendo em má formação do feto. Devido à trombocitopenia, causada pela erliquiose, havia certo risco de hemorragia por conta do descontrole da cascata de coagulação.

Com o resultado e o histórico de ectoparasitismo sem controle, foi indicado o teste rápido para verificar exposição de patógenos hemáticos. O resultado positivo se fez presente para erliquiose, assim identificando a primeira patologia e uma possível explicação para o sangramento, devido ao distúrbio de coagulabilidade que ocorre nessa doença.

A sintomatologia clínica do animal infectado com *E. canis* tem relação com o período de incubação e com a forma de manifestação da doença (SILVA *et al.*, 2015). Diante disso, pressupõe-se que o animal relatado apresenta uma manifestação subclínica (AZEVEDO, 2012), devido à ausência de sintomas antes de iniciar a queixa principal: corrimento vaginal sanguinolento e alteração do comportamento natural. O patógeno é capaz de causar a destruição de hemácias (SILVA *et al.*, 2015) e gerar um déficit da presença de células vermelhas, que são essenciais para os mecanismos fisiológicos.

Foi realizada também, como exame complementar, a ultrassonografia abdominal. Segundo Sales; Braga; Braga (2019), o ultrassom é o principal recurso para identificar alterações nos sistemas reprodutivos e urinários, devido a sua alta capacidade de detalhar as estruturas. No exame, foram evidenciadas três estruturas que foram sugestivas de sacos gestacionais. Não foi possível confirmar a gestação, pois não havia batimentos cardíacos, mas devido ao histórico da cópula no período de fertilidade, ampliou-se a hipótese de gestação. Sendo assim, as especulações foram voltadas para possíveis complicações gestacionais.

O midazolam é um benzodiazepínico com característica de relaxamento muscular de ação central e ansiolítica. É bastante utilizado na clínica cirúrgica por apresentar grandes vantagens, como a mínima interação no sistema cardiorrespiratório. Pode ser administrado por via intramuscular e intravenosa, na dose de 0,2 – 0,4 mg/kg, quando associado a opioides, e 0,1 – 0,2 mg/kg, quando for coindutor. Possui grande capacidade de ligação nas proteínas plasmáticas e é metabolizado por via de glicuronidação no fígado, e os rins são responsáveis pela

excreção. Seu uso, quase sempre, é como um coindutor em associação com outros fármacos, nesse caso, o propofol (SOUZA, 2016).

O propofol é um anestésico geral utilizado em larga escala nas cirurgias de animais domésticos. A dose varia se houver medicação pré-anestésica (3,0 – 5,0 mg/kg) ou não (5,0 – 8,0 mg/kg). Possui rápida depuração e curto período de ação, resultando em uma recuperação anestésica rápida. Depressão respiratória e apneia transitórias são efeitos adversos comumente relatados após a administração, e geralmente são relacionados com a administração de doses elevadas. Estudos evidenciam que a coindução entre midazolam – propofol reduz a dosagem necessária de anestésico, principalmente a quantidade de propofol indicada para intubação (SOUZA, 2016).

O isoflurano é um anestésico geral inalatório com início de ação e recuperação anestésica rápidos. É minimamente metabolizado, por isso é o anestésico volátil mais utilizado. Para a indução, é preciso concentração entre 2,5 e 4,5% e, para manutenção, entre 1,5 e 2,5 %. Tem como efeito colateral a depressão respiratória e a hipotensão, portanto, é sempre viável que se inicie com as concentrações mínimas, tanto para indução quanto para manutenção (ALEXANDRE; COSTA; MASCARENHAS, 2008).

Durante a cirurgia, foi confirmada a presença de três fetos sem vida, dois deles em estado de maceração, o que explica a dificuldade de interpretação das imagens do ultrassom. Então, como medida terapêutica, foi realizada a ovariectomia para retirada dos fetos mortos e também para evitar outras possíveis doenças relacionadas ao sistema reprodutor da fêmea.

Ainda é pouco relatada e estudada a relação entre o patógeno e a formação dos fetos com o período gestacional, mas sabe-se que existem interferências nos processos metabólicos que culminam em distúrbios metabólicos na gestante e no feto. Melo *et al.* (2009) relataram fetos malformados e natimortos, sequela que se difere do caso relatado, em que houve mortalidade fetal progredindo para o processo de degeneração, como representado nas figuras 1 e 2.

Após o procedimento, a paciente permaneceu internada, ainda em infusão de Ringer Lactato. Como terapia medicamentosa, foram receitados os seguintes medicamentos:

1. Tramadol Via Oral - 4 mg/kg - BID - 3 dias

2. Meloxicam Via Oral - 0,1 mg/kg - SID - 3 dias
3. Doxiciclina Via Oral - 10 mg/kg - SID - 28 dias
4. Pantoprazol Via Oral - 0,5 mg/kg - SID - 10 dias

Para modular a dor após o procedimento cirúrgico, a droga de escolha foi o Tramadol, um hipnoanalgésico com receptores distribuídos principalmente no sistema nervoso central, mas também em outras áreas do corpo, que apresenta ótima resposta ao reduzir a sensação de dor sem perda da consciência (ALEIXO *et al.*, 2017). A dosagem indicada para cães é de 2 a 4 mg/kg (OURO FINO, 2018.)

O Meloxicam é um anti-inflamatório não esteroidal de larga utilização na clínica médica e cirúrgica da medicina veterinária. Ele atua como inibidor da COX-2 e possui ação anti-inflamatória, analgésica e antiexsudativa. Em cães, a dosagem indicada é 0,1 mg/kg (OURO FINO, 2018).

Para tratamento específico da hemoparasitose, foi utilizado a doxiciclina, antibiótico do grupo das tetraciclina. É o antibiótico mais efetivo contra a erliquiose segundo os estudos de Azevedo (2012), que evidenciaram que a dosagem de maior efetividade é de 20mg/kg. Contrapondo-se aos estudos, a dosagem utilizada no caso analisado foi de 10 mg/kg SID durante 28 dias.

O Pantoprazol é um inibidor da bomba de prótons que tem as características de protetor gástrico e de agente antiulcerogênico. A administração indicada é a dosagem de 0,5 a 1 mg/kg SID, por via oral (PEDILSON, 2018).

No dia posterior ao procedimento (24/02), a cadela foi submetida a um novo hemograma, representado na Tabela 2. Observado o curto prazo de intervalo entre os dois exames, houve uma melhora hematológica significativa na parcela vermelha das células. A anemia ainda se encontrava moderada, assim como a normocitose. Os leucócitos totais aumentaram devido à marginalização dessas células, por conta da resposta inflamatória causada no procedimento cirúrgico.

Considerando a estabilização dos parâmetros e tendo seu comportamento e suas atividades fisiológicas normais, a cadela foi liberada e encaminhada para a residência com os cuidados do tutor. O acompanhamento do caso foi continuado e a terapia medicamentosa apresentou boa resposta e melhora clínica. Não houve complicações no pós-cirúrgico.

No dia 05/03/2021 houve retorno para o acompanhamento e para realização de novo hemograma, representado na Tabela 3, que apresentou melhora

significativa no leucograma e eritrograma. A concentração de hemácias não indicava anemia, a medula possivelmente estaria sendo reativa e os leucócitos já não apresentaram nenhuma alteração. As plaquetas, nesse momento, se apresentaram elevadas devido ao sucesso da terapia medicamentosa.

Foi reforçada a importância de realizar o tratamento com a doxiciclina durante todo o período receitado (28 dias) e de sempre fazer o controle de ectoparasitas, tanto na forma de medicamentos quanto no ambiente. Não foi realizado outro teste SNAP 4Dx.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A erliquiose é capaz de interferir diretamente no metabolismo e na fisiologia da gestante, bem como nos processos embrionários do feto, causando, por exemplo, maceração fetal. Apesar de comum na rotina clínica, ainda existem poucos estudos e relatos acerca dessa correlação. Com isso, torna-se necessário realizar maiores pesquisas e estudos sobre essa doença, a fim de avaliar detalhadamente sua evolução concomitantemente com a gestação canina e sua interferência metabólica durante esse período.

## **REFERÊNCIAS**

ALEIXO, G. A. S.; TUDURY, E. A.; COELHO, M. C. O. C.; ANDRADE, L. S. S.; BESSA, A. L. N. G. **Tratamento da dor em pequenos animais: classificação, indicações e vias de administração dos analgésicos**. Universidade Federal Rural de Pernambuco. (Revisão de literatura: parte II). Recife, v.11, n. 1 (jan-mar), p. 29-40, 2017.

ALEXANDRE, N.; COSTA, M.; MASCARENHAS, R. **Anestesia volátil e monitoração anestésica** – Texto de apoio às aulas práticas de Anestesiologia. Universidade de Évora, Évora, Portugal, 2008.

AZEVEDO, F. D. **Protocolos terapêuticos no tratamento da erliquiose monocítica canina**. Orientador: Fábio Barbour Scott, 2012 40-50 f. Tese de Doutorado em Ciências Veterinárias, Sanidade Animal. Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

BALBINOT, P. Z. **Avaliação de soluções eletrolíticas comerciais administrada por via intravenosa em cães desidratados experimentalmente por restrição e poliúria**. Orientador: José Antônio Viana, 2007. 65-70 f. Dissertação de Mestrado Universidade Federal de Viçosa, MG, 2007.

BARRIO, M. A. M. Erliquiose monocítica (monocitotrófica) canina. Associação Nacional de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais; **PROMEvet**, Porto Alegre

(RS), Pequenos Animais: Programa de Atualização em Medicina Veterinária: Ciclo1. Porto Alegre, RS, 2016. p. 125-67.

DE SÁ, RITAMARIA; DE SÁ I. S; ALMEIRA, L. F; MIRANDA, G. S; GOMES, J. B; SANTOS, A. R. S. S; SILVA, K. F. M; ARAÚJO, M. S; LISBOA NETO, A. F. S; SILVA, J. C. F; OLIVEIRA, M. A. L; MACHADO, F. C. F; JUNIOR, A. A. N. M; SILVA FILHO M. L. Erliquiose Canina: Relato de caso. **PUBVET**, Maringá, Paraná, v.12, n.6, a118, p.1-6, Jun., 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.22256/pubvet.v12n6a118.1-6>>. Acesso em: 08/12/21 às 09:00.

DRUMOND, M. R. S. **Ocorrência, classificação e fatores de anemia em cães**. Orientador: Paulo Renato dos Santos. Dissertação de Mestrado, departamento em biotecnologia, diagnóstico e controle de doenças. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2013.

FEITOSA, F. L. **Semiologia veterinária: A Arte do Diagnóstico**. 3º edição. São Paulo, SP: Editora Roca LTDA, 2014.

FOSSUM, T. W. **Cirurgia de pequenos animais**. 4º edição. São Paulo: Elsevier Editora Ltda., 2015.

FRUET, C. L. **Erliquiose em cães**. Orientador: Sonia Terezinha dos Anjos Lopes. Monografia para obtenção de título de Especialista em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS. 2005.

GARCIA, C. Z.; FERNANDES, J. M. J.; ALMEIDA, M. F.; SIMAS, R. C.; GIMENEZ, T. F.; BERMEJO, V. J. Doença Periodontal em Cães. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, São Paulo, 2008.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. (Eds.) **Patologia clínica veterinária: Texto introdutório**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto-Alegre, RS, 2008.

GOMES, R. S. S; COLPANI, A; ALMEIDA, F; QUEIROZ, S. Maceração fetal em felino – relato de caso. **Scientia Rural**, Ponta Grossa, Paraná, 19º Ed./jan.-jul. 2019.

GUIMARÃES, A. M.; LIMA, B. S.; ROCHA, C. M. B. M. Ectofauna parasitária de cães urbanos domiciliados atendidos em clínicas veterinárias particulares na cidade de Lavras, MG. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia - GO, v. 12, n. 1, p. 172-177, jan. /mar. 2011.

ISOLA, J. G. M. P; CADIOLI, F. A; NAKAGE, A. P. Erliquiose canina – Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, São Paulo, 2012.

LUZ, M. R; FREITAS, P. M. C; PEREIRA, E. Z. Gestação e parto em cadelas: fisiologia, diagnóstico de gestação e tratamento das distorcias. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.29, n.3/4, p.142-150, jul. /dez. 2005.

MELO, R. G. A. S; SANTOS, C. R. O; AMORIM, M. J. A. A. L; SILVA, G. G. A. S; SANTIAGO, V. G. S; MELO, R. R. C. B; PESSOA, R. S. N; OLIVEIRA, J. M. R. P. B; SILVA, J. G; PAULA JUNIOR, A. R; Erliquiose como um fator agravante da gestação. **Resumos Jepex, Universidade Federal Rural de Pernambuco**, 2009.

Disponível em : <<http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0252-1.pdf>>. Acesso em: 08/12/21 às 08:00.

MENDONÇA, C. S; MUNDIM, A. V; COSTA, A. S; MORO, T. V; Erliquiose Canina: Alterações hematológicas em cães domésticos naturalmente infectados. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 21, n. 1, p. 167-174, jan. /abril 2005.

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia na medicina veterinária**. 2ª edição São Paulo Editora Roca LTDA, 2017.

OURO FINO. **Protocolo pré e pós-operatório: como garantir o bem-estar?**. 13/ Junho/ 2018. Disponível em: [https://vetsmart-parsefiles.s3.amazonaws.com/b6c431e5890e456ba399a7649a04af45\\_vetsmart\\_admin\\_pdf\\_file.pdf](https://vetsmart-parsefiles.s3.amazonaws.com/b6c431e5890e456ba399a7649a04af45_vetsmart_admin_pdf_file.pdf). Acesso em: 08/11 às 21:00.

PEIXOTO, C. S. **Alterações oculares e hematológicas em cães acometidos por Ehrlichia canis e co-infecções**. Orientador: Giane Regina Paludo. Dissertação de Mestrado em Ciências Animais, Universidade de Brasília, Brasília- DF, 2019.

PIRES, V. M. F. **Critérios na escolha dos diferentes exames complementares na obtenção de um diagnóstico em medicina veterinária do cão e do gato**. Orientador: Manuel A. Barradas Oliveira e José Manuel Chéu Limão. Dissertação de Mestrado. Lisboa, Portugal, 2010.

RODRIGUES, B. A. Sangramentos genitais em cadelas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Gramado – RS, v.43, n.2, p.209-215, abr./jun. 2019.

RODRIGUES, J. B; CORDEIRO, M. L. L; LEITE, A. G. P. M; CARVALHO, S. M. R; SILVA, T. S. Maceração fetal em cadela. **Ciência Animal**, Fortaleza, Ceará, v.28, n.4, p.53-55, 2018.

RODRIGUES, T. T. F.; CUNHA, G. N. Viabilidade das vias retal, axilar e oral para aferição da temperatura corporal de cães. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, SP, v.35, n.2, 043-049, 2019.

SALES, K. K. S; RODRIGUES, N. M; RUFINO, A. K. B; LUZ, P. M. S. Maceração fetal em gata: relato de caso. **PUBVET**, Maringá, Paraná, v.10, n.12, p. 909-912, Dez 2016.

SALES, R. O.; BRAGA, P. S.; BRAGA, C. T. F. A importância da ultrassonografia na Medicina Veterinária: Ensino. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, Ceará, v.13, n.2, p. 156 – 178 abr. – jun., 2019.

SILVA, I. P.M. Erliquiose canina – Revisão de Literatura. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, São Paulo, ano XIII-Número 24, periódico semestral, Janeiro de 2015.

SILVA, L. D. M; LIMA, D. B. C. Aspectos da fisiologia reprodutiva da cadela. **Anais do IX Congresso Norte e Nordeste de Reprodução Animal (CONERA 2018)**; Belém, PA, 10 a 12 de setembro de 2018.

SILVA, M. V. M.; FERNANDES, R. A.; NOGUEIRA, J. L.; AMBRÓSIO, C. E. Erliquiose canina: revisão de literatura. **Arq. Ciênc. Vet. Zool.**, Umuarama, Paraná, v. 14, n. 2, p. 139-143, jul./dez. 2011.



SOUZA, M. F. **Associação Propofol-Fentanil ou Propofol-Midazolam para indução anestésica em cadelas**. Orientador: Marta Fernanda Albuquerque de Silva. Dissertação de Mestrado, área de Patologia e Ciências Clínicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

SOUZA, T. D.; MOL, J. P. S.; PAIXÃO, T. A.; SANTOS, R. L. Mortalidade fetal e neonatal canina: etiologia e diagnóstico. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo-Horizonte, MG, v.41, n.2, p.639-649, abr./jun.2017.

VELOSO, J. F.; SAUER, L.; MELO, D. R.; ANDRADE, C. F. O.; OLIVEIRA, T. N. A.; GOMES, D. C.; CARLOS, R. S. A. Alterações do trato uveal associados à Erliquiose Monicítica Canina (EMC). **Research, Society and Development**, s.l., v.10, n.2, e34010212661, 2021.

## PERCEPÇÃO DOS CLIENTES DO HOSPITAL ESCOLA VETERINÁRIO UNIVÉRTIX SOBRE BEM-ESTAR ANIMAL DE CÃES E GATOS

**Acadêmicas:** Emanuella Bracks Fernandes Rodrigues e Jovana de Oliveira Pereira

**Orientadora:** Mayara Cristini Ferreira de Aguiar.

### RESUMO

A relação entre humanos e seus animais vem se tornando cada vez mais próxima, e para uma convivência saudável e harmônica, é necessário que os tutores estejam atentos às necessidades básicas dos seus *pets*, assegurando-lhes um manejo sanitário, nutricional e ambiental adequado. Para que isso seja possível, é necessário que haja posse responsável e conhecimento sobre bem-estar dessas espécies. Nesse trabalho objetivou-se avaliar o conhecimento dos tutores que frequentaram o Hospital Escola Veterinário Univértix sobre bem-estar animal. Utilizou-se uma pesquisa de campo por meio de aplicação de questionários em uma amostra de conveniência no período de 01 de outubro à 20 de outubro de 2021. Os resultados da pesquisa demonstraram que a maioria dos tutores possuem conhecimentos sobre as necessidades básicas dos seus animais; em que 96,66% (29) vacina e 76,66% (23) vermífuga adequadamente e a totalidade os mantém em local limpo, protegidos de intemperes e tendo a sua disposição água fresca; 76,66% (23) relatou saber que é fundamental permitir que eles expressem sentimentos; 100% da população entrevistada alegou saber o que é bem-estar e 90% (27) posse responsável. Porém muitas ações precisam ser melhoradas, como a promoção da castração como medida de controle populacional, redução do abandono e de zoonoses; implementação de atividade física na rotina dos animais, alimentação equilibrada; e idas mais frequentes ao veterinário.

**PALAVRAS-CHAVE:** Posse responsável; Cinco necessidades; Senciência; Maus tratos.

**LINHA DE PESQUISA:** Saúde Pública e Defesa Sanitária.

### INTRODUÇÃO

Com as mudanças ocorridas na sociedade, a relação entre humanos e seus animais de companhia também se modificou. Os animais passaram a ser considerados como membros da família, participando da rotina familiar (JORGE; BARBOSA; WOSIACKI; FERRANTE, 2018). Essa convivência cada vez mais afetiva beneficia tanto tutores como animais, mas traz também um maior comprometimento por parte deles para com seus animais de estimação. Isso implica na responsabilidade de se manter a guarda responsável, e assumir uma série de deveres centrados no atendimento das necessidades físicas, psicológicas, ambientais e na proteção de riscos e doenças (SOUZA, 2003).

O bem-estar está relacionado com as experiências de um animal e a forma como ele se sente, incluindo o seu estado físico e psicológico (CONCEA, 2018).

Em 2000, Broom e Johnson se basearam nessa correlação entre estado físico e psicológico pela qual passa um animal durante a vida como forma de definir bem-estar animal. O bem-estar físico está relacionado tanto ao estado corporal do animal, levando em consideração as comorbidades, o estado nutricional e como é cuidado, quanto ao bem-estar mental, levando em conta lado psicológico, os sentimentos vividos por ele (senciência), principalmente as emoções ruins como (medo, angustia, tristeza, tédio) e o sofrimento (CONCEA, 2018).

Um marco para proteção do bem-estar animal foi a Declaração Universal dos Direitos dos Animais, em 1978 proclamada pela UNESCO; nela todo animal possui direitos; e relaciona que o desconhecimento e o desprezo desses direitos levam o homem a cometer crimes contra os animais e contra a natureza (UNESCO, 1978).

Em 2006, as chamadas “Cinco Liberdades” foram adaptadas para as “Cinco Necessidades de Bem-Estar Animal”, aplicadas a todos os animais domésticos, proporcionando aos tutores diretrizes básicas de bem-estar animal, tais como: Necessidade de ambiente e dieta adequada; de poder manifestar padrões comportamentais específicos da espécie; de alojamento adequado com, ou afastado, de outros animais; e necessidade de ser protegido de doença, lesão, dor ou sofrimento. Essas diretrizes objetivam tanto o bem-estar físico quanto psicológico do animal; e para a sua aplicação, é necessário que os tutores conheçam as demandas da espécie em que seu animal está inserido (WSAVA, 2018).

O conhecimento dos requerimentos físicos e psicológicos dos cães e dos gatos por parte dos proprietários permite entendê-los e tratá-los melhor (VIEIRA, 2015), além de auxiliar no fortalecimento do comprometimento ético e legal para melhoria da vida dos animais (MENDONÇA, 2019).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o conhecimento dos tutores de cães e gatos, atendidos do dia 01/10/2021 à 20/10/2021 na Clínica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário da Faculdade Vértice/Univértix, sobre o tema bem-estar animal.

Trabalhos como este são de extrema importância, pois o conhecimento das necessidades básicas dos animais de companhia evita zoonoses, aparecimento de doenças comportamentais causadas pelo estresse, abandono animal e fornece

informações aos tutores sobre a importância do manejo correto para o bem estar do seu animal de estimação.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **BEM-ESTAR ANIMAL**

O bem-estar animal é uma ciência de avaliação complexa. É definido como a possibilidade dos animais conseguirem demonstrar hábitos e comportamentos naturais de acordo com sua espécie. Sentindo-se livres para expressar as suas emoções e interagir com o ambiente em que vivem (CALDERÓN, 2010).

Sendo um assunto amplamente debatido no mundo inteiro, a busca pelo conhecimento sobre o bem-estar animal vem do interesse por parte do ser humano em entender as suas necessidades. Esse interesse é explicado pelo vínculo familiar formado entre homem e animal, que permitiu despertar a consciência dos tutores para os anseios básicos e tão fundamentais para uma melhor qualidade de vida de seus animais (PINTO, 2018).

Um animal experimenta um alto grau de contentamento se ele estiver saudável, confortável, seguro, não sofrer de estados desagradáveis, como dor, medo e angústia. Mas, mesmo a vivência em um ambiente avaliado com alto grau de bem-estar não exime esse animal de desafios, mas significa que o indivíduo consegue interagir de forma positiva com as adversidades (BROOM; MOLENTO, 2004).

O conceito de bem-estar está diretamente relacionado com o direito do animal as cinco liberdades, sendo este um instrumento para avaliar se o animal encontra-se em um ambiente saudável, tanto no aspecto físico quanto psicológico (FIGUEIRA; NASCIMENTO; MOTA; LEONIDIO; ANDRADE, 2014).

### **AS CINCO NECESSIDADES**

Em 1965, o Comitê Brambell, composto por pesquisadores e profissionais da agricultura e pecuária do Reino Unido estabeleceu um conjunto de conceitos chamados de as “cinco liberdades” com intuito de melhorar os padrões de bem-estar para animais de todos os sistemas de produção. Esses conceitos foram aprimorados pela *Farm Animal Welfare Council* – FAWC em 1993, que estabeleceu as cinco liberdades usadas para avaliar o bem-estar animal das espécies pecuárias. Esse conceito se baseia em situações pelas quais os animais não devem passar, como:

fome, sede, medo, estresse, desconforto, dor, doença e privação da expressão de seu comportamento natural (PEREIRA *et al.*,2020).

As cinco liberdades foram adaptadas em 2016 para as “Cinco Necessidades” tendo como escopo ações que versem sobre o bem-estar de animais domésticos. Essa adaptação leva em conta as particularidades de cada espécie doméstica visando preservar a saúde física e psicológica dos animais através de uma alimentação equilibrada, ambiente adequado, convívio ou não com outros animais, respeitando o comportamento de cada espécie; mantendo esse animal protegido, livre de dor, sofrimento, lesões e doenças, repressão aos seus hábitos naturais. De acordo com o postulado no WSAVA (2018), as cinco necessidades voltadas para o bem-estar de animais domésticos são:

- **Ambiente adequado:** Esse local deve proporcionar ao cão ou gato segurança, espaço onde ele possa se alimentar tranquilamente, brincar, e que esse ambiente seja limpo e protegido contra intempéries.

- **Alimentação equilibrada:** essa dieta deve conter todos os nutrientes específicos para a espécie e deve ser fornecida respeitando a fisiologia, tamanho e a queima calórica diária de cada animal, para que ele viva com peso saudável e com energia para interagir com o meio em sua volta. Deve haver também à sua disposição água limpa e fresca.

- **Alojamento adequado em companhia ou não de outro animal:** conhecer o comportamento e hábitos característicos da espécie é fundamental para a saúde física e psicológica de um animal de estimação; uns vivem bem em grupo, como os cães; outros, como os gatos já têm um comportamento mais solitário, territorialista; e essas diferenças devem ser respeitadas para evitar um ambiente de disputa e estresse.

- **Liberdade para agir conforme a sua natureza:** o animal precisa de liberdade, espaço, ambiente limpo e livre de estresse, onde ele possa se comportar conforme as características da sua espécie.

- **Proteção contra dor, trauma e doenças:** como os humanos, os animais também sentem dor, adoecem e sofrem; por isso como os humanos precisam ser cuidados tanto de forma preventiva, por meio de vacinações, vermifugações e serem tratados adequadamente quando ficam doentes, evitando assim a aflição por dor e sofrimento desnecessários.

## **SENCIÊNCIA**

A senciência animal está relacionada à capacidade que o animal tem de sentir e experimentar emoções, sejam elas favoráveis ou desfavoráveis e também perceber o ambiente onde está inserido, respondendo a ele com comportamentos positivos, como alegria, confiança e comportamentos negativos, como medo, ansiedade e tristeza (WSAVA, 2018).

Animais sencientes demonstram consciência e as exprimem de diferentes formas; quando um cão, por exemplo, tem experiências positivas, como receber um tratamento atencioso, sendo através de um alimento ou carinho, ele sempre vai voltar para receber outros estímulos positivos; já o contrário também ocorre quando a experiência vivida é negativa, o animal se afasta e procura evitar o local onde sabe que não foi bem tratado. Senciência pode ser então entendida como a capacidade de reagir de forma consciente ao meio em que vive, com comportamentos positivos ou negativos; e só portam essa capacidade de reagir e responder a estímulos, seres vivos detentores de um sistema nervoso central que lhes permita agir conscientemente (DOMINGOS; SOUZA, 2019).

O entendimento que os animais são seres sencientes, exige dos humanos uma maior empatia para com eles, afinal de contas, ambos são seres providos de inteligência e memória, e passam por sentimentos como medo e alegria; portanto, não são objetos, não estando nesse mundo apenas para serem utilizados. Essa afinidade com animais só será possível através de informações que possibilitem conscientizar as pessoas que eles também sofrem e têm vontade própria (PRADA, 2016). A partir do momento que for entendido o que foi dito pelo físico Fritjof Capra (1991), que os humanos fazem parte desse mundo e não que são donos dele, só então se poderá usufruir da presença dos animais sem explorá-los.

## **POSSE RESPONSÁVEL**

Almeida (2014) definiu posse responsável como o conhecimento das necessidades básicas dos animais por parte dos seus tutores.

Esse conceito não envolve somente o tutor. O bem-estar animal e a sua posse consciente deve ser observado e respeitado também por médicos veterinários, poder público, e toda a sociedade (CAETANO; BOEING, 2019).

Um fator preocupante que leva a crer que essa posse responsável não está sendo bem exercida é o fato que somente 38% dos animais de estimação permanecem com os seus tutores; os restantes são abandonados, levados para abrigos ou entregues a outros donos. Esse comportamento acaba voltando-se contra a própria sociedade, através de doenças, muitas vezes zoonóticas (AMARAL, 2012).

Uma forma de reverter o quadro de abandono e conseqüentemente uma posse irresponsável é através de informação com ações conjuntas entre comunidade e o poder público, por meio de campanhas educativas, conscientizando a sociedade da responsabilidade que todos aqueles que adquirem um animal precisam ter; ensinando sobre as boas práticas de bem-estar necessárias para saúde física e psicológica para uma convivência harmônica entre animais e humanos (SANTOS *et al.*, 2014).

Conhecer as demandas básicas dos animais de estimação é de suma importância para que os tutores consigam exercer a posse responsável; essas necessidades vão desde possibilitar que esse animal conviva com a família e outros animais; brinque e se exercite constantemente; tenha sua saúde protegida através de consultas ao veterinário tendo como objetivo, vacinação, castração e prevenção de doenças (GOMES, 2015).

O primeiro passo para uma posse responsável, começa antes mesmo da aquisição de um animal de estimação e algumas perguntas devem ser respondidas, como: Todos da família querem esse animal? Existem condições financeiras, tempo, espaço em casa, para cuidar de um animal por no mínimo 10 anos? Se a resposta for sim, qual a raça se adapta melhor à rotina familiar? (MURARO; ALVES, 2014).

As conseqüências da posse irresponsável são muitas; os animais abandonados ficam à mercê de doenças, atropelamentos, e maus tratos nas ruas e aqueles que são resgatados, muitas vezes vão para abrigos superlotados sem condições de oferecer àquele animal às condições que ele precisa. Isso ocasiona tanto problemas comportamentais, como também diminuição da expectativa de vida

desses animais, uma vez que, apenas 19% dos cães são novamente adotados, sendo a maioria eutanasiados, como relatado por Amaral (2012).

## **CONSEQUÊNCIAS DA POSSE IRRESPONSÁVEL**

Apesar de serem considerados por muitos os melhores amigos dos seres humanos, pesquisas demonstram que existem cerca de 78,1 milhões de cães e gatos de rua no mundo, e esses animais sofrem com fome, sede, frio, doenças e maus tratos (IPB, 2019).

### **Maus tratos**

Maus tratos são atitudes que levam o animal a sentir dor, fome ou falta de cuidados; sejam esses atos praticados de forma consciente ou não (GALVÃO, 2010).

A resolução nº 1.236, de 26 de outubro de 2018 do Conselho Federal de Medicina Veterinária que versa sobre o que caracteriza maus tratos, leva em conta ações ou omissões, intencionais ou não, que causem aos animais qualquer desconforto desnecessário. É importante ressaltar que atos de imprudência, negligência e imperícia, também são abarcados por essa resolução. Já a crueldade é o ato intencional de promover dor e sofrimento ao animal, seja por ação ou omissão. Tanto maus tratos, como crueldade, acarretam danos físicos e psicológicos que marcam esse animal para o resto da vida (BRASIL, 2018).

Para o combate aos maus tratos, não basta cessar a agressão praticada contra aquele animal no momento da ação; faz-se necessária a denúncia sendo lavrado o boletim de ocorrência; retirando animal da situação de sofrimento e punindo os malfeitores (PEREIRA *et al.*, 2020).

### **Abandono**

Animais vítimas daqueles que lhes deveriam proteção são abandonados à própria sorte; tornam-se animais errantes, superpovoando cidades, transmitindo doenças, e definhando dia a dia por fome e doenças (SANTANA, 2004). Os que são resgatados estão muitas vezes fadados a serem submetidos à eutanásia, ou a



viverem em canis superlotados, à espera muitas vezes, em vão de uma família humana para adotá-los (CAETANO; BOEING, 2019).

### **Aumento populacional**

Cães e gatos conseguem se reproduzir facilmente e mesmo que haja condições desfavoráveis para a sua sobrevivência, isso será compensado com o número de animais que nascem todas as vezes que há a reprodução. A utilização de esterilização cirúrgica (castração) é o método mais eficaz para reduzir a densidade populacional em longo prazo, evitar o número de abandonos além de diminuir o risco de desenvolvimento de doenças reprodutivas, o que ajuda bastante no aumento do bem-estar (BRITO, 2016).

### **Transmissão de doenças**

As zoonoses podem ser tanto transmitidas diretamente entre animal doente e ser humano, como através da água e alimentos contaminados por fezes e urina de animais infectados. Por essa facilidade de contaminação e por falta de medidas sanitárias e controle populacional dos animais, a melhor forma de se evitar a transmissão de zoonoses é por meio do conhecimento aliado à prevenção, principalmente no que tange à posse responsável dos tutores para com seus animais. Tal atitude evitaria doenças como sarna sarcóptica, teníase, toxocaríase, leishmaniose, raiva, leptospirose e toxoplasmose (CAETANO; BOEING, 2019, AMARAL, 2012).

## **METODOLOGIA**

Com relação aos objetivos da pesquisa, ela se classifica como descritiva. Já a abordagem utilizada nesse trabalho foi a quantitativa; foram utilizados instrumentos padronizados, com perguntas pré-estabelecidas realizadas por meio de questionário, estruturado com perguntas claras e objetivas, garantindo a uniformidade do entendimento dos entrevistados.

O método de análise escolhido foi o hipotético dedutivo, devido à pesquisa girar em torno de uma hipótese e problema, em que a hipótese leva em

consideração o conhecimento ou não do tutor de animais domésticos sobre o tema bem-estar animal; e o problema leva em conta a consequência do desconhecimento a respeito do bem-estar dos animais domésticos por parte dos tutores.

A pesquisa foi realizada por meio de aplicação de questionário aos tutores que levaram seus animais, no período de 01/10/2021 à 20/10/2021 na Clínica de Pequenos Animais no Hospital Veterinário da Faculdade Univértix em Matipó – MG. Os tutores maiores de 18 anos que levaram os seus animais ao hospital veterinário nesse período, foram convidados a participar dessa pesquisa. Durante todo esse processo, todas as medidas de biossegurança referentes às questões da pandemia da Covid-19 foram tomadas. O número esperado de participantes foi de 30. A quantidade de questionários distribuídos se estabeleceu pela quantidade semanal de tutores que levaram seus animais para algum tipo de consulta no hospital veterinário nos horários de funcionamento de segunda à sexta-feira de 08 horas às 17 horas. O dado relativo ao fluxo dos pacientes atendidos foi obtido através de informações cedidas pela recepção da instituição.

Os participantes foram instruídos a ler o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (ANEXO 1) que estava incluso ao questionário. Concordando com os termos escritos, esses participantes assinaram e assim puderam responder às questões propostas. O presente trabalho não apresentou nenhum tipo de risco significativo para os voluntários, de modo que eles participaram apenas realizando o preenchimento do questionário (ANEXO 2). O participante teve todos os seus dados mantidos em sigilo e dessa forma não foi exposto em nenhum momento. Os benefícios envolvidos para os tutores estão relacionados com o pensamento crítico que pode ser desenvolvido nos indivíduos sobre o tema, de modo que eles ainda poderão analisar como anda o seu comportamento em relação ao seu *pet*.

Posteriormente, os participantes receberam a cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (ANEXO 1) e uma cartilha contendo informações sobre os cuidados, as necessidades dos animais, e explicação sobre o bem estar animal (ANEXO 3).

Para a pesquisa foi utilizado um questionário (ANEXO 2) validado que foi alterado conforme o objetivo da pesquisa e que apresentava 36 perguntas. Foram abordadas perguntas identificando os tutores, avaliação das necessidades psicológicas, comportamentais, sociais e avaliação das necessidades ambientais.

Nesse mesmo modelo também constam questões de assinalar “sim/não” e questões de múltipla escolha relacionadas ao bem estar animal, abordando perguntas como: “Você sabe o que é bem estar animal?”, “Você sabe o que é guarda responsável?”, “Você acha importante seu animal expressar o que sente?”, entre outras perguntas relacionadas ao tema.

Após a coleta de dados, eles foram digitalizados, organizados em uma planilha no programa *Microsoft Office Excel* 2010 e analisados através de análise descritiva.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Foram aplicados um total de 30 questionários aos tutores de cães e gatos que buscaram atendimento no Hospital Escola Veterinário Univértix, em Matipó-MG no período de outubro de 2021. Os dados foram avaliados de forma descritiva e expressos em porcentagem, objetivando avaliar o conhecimento sobre bem-estar animal de cães e gatos da população de tutores descrita acima.

Na Tabela 1 foi descrita a população entrevistada, sendo composta de 30 pessoas, 73,33% (22) eram do sexo feminino e 26,66% (8) sexo masculino, dados que podem ser explicados tomando como base o último censo feito pelo IBGE em 2010 com relação à população Matipoense, cuja maioria é feminina (IBGE, 2010). Diversos estudos também relatam uma maior percepção e comprometimento das mulheres com relação às necessidades e mudanças de comportamento demonstradas pelos animais de estimação (WESTGARTH *et al.*, 2007; DOTSON; HYATT, 2008; SLATER, 2008).

**Tabela 1:** Perfil sociocultural dos 30 tutores de cães e gatos que frequentaram o Hospital Escola Veterinário Univértix no período de 01 de outubro à 20 de outubro de 2021.

<b>VARIÁVEIS</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Sexo</b>		
Feminino	22	73,33%
Masculino	8	26,66%
<b>Idade</b>		
18 a 25 anos	21	70%
De 26 a 50 anos	7	23,33%
Acima de 50 anos	2	6,66%
<b>Estado Civil</b>		
Solteiro (a)	22	73,33%
Casado (a)	7	23,33%
Divorciado (a)	1	3,33%
<b>Escolaridade</b>		
Ensino Fundamental Completo	1	3,33%
Ensino Médio Completo	3	13,33%
Ensino Superior Incompleto	20	66,66%
Ensino Superior Completo	5	16,66%
<b>Moradia</b>		
Casa	12	40%
Apartamento	18	60%
<b>Bairro</b>		
Centro	12	40%
Exposição	7	23,33%
Kelé	1	3,33%
Outras Cidades	2	6,66%
Não Informado	8	26,66%

**Fonte:** Elaborado pelos autores.

Com relação à idade dos entrevistados, 70% (21) tinham entre 18 a 25 anos e a maioria, 22, eram solteiros correspondendo a 73,33%. Estudos semelhantes realizados por de Almeida (2018) e Torres (2017) também constataram uma maior participação de tutores solteiros, do sexo feminino nessa faixa etária. Quanto aos bairros onde residiam, notou-se uma mesclagem de respostas provenientes de diferentes áreas da cidade de Matipó. Dos 30 entrevistados, 60% (18) viviam com seus animais em apartamento. Pesquisa feita por Junqueira (2017) e Serafini *et al.* (2008) trouxe dados diferentes, com um maior número de participantes domiciliados em casas.

Perguntados sobre o nível de escolaridade, 20 participantes possuíam na época o ensino superior incompleto totalizando 66,66% dos entrevistados. Comparando com a pesquisa acerca do mesmo tema, de Almeida (2018) demonstrou que o nível de escolaridade dos participantes de Areia - PB foi mais expressivo entre

peças que terminaram o ensino médio, com 25,26% e os que terminaram o ensino superior, com 25,26%. Traçando um paralelo entre escolaridade e castração, observa-se que quanto mais esclarecido é o tutor, maior o índice de animais castrados.

Foi perguntado também quantos animais cada entrevistado tinha sobre sua guarda, e as respostas nesse sentido foram variadas. Os números mais expressivos foram: 36,66% (11) tinham apenas um cão, 10% (3) dois cães e 10% (3) dois gatos. Esses dados se mostraram positivos, pois a maioria dos entrevistados relataram ter no máximo dois animais, e isso é importante para a promoção do bem-estar, visto que em condições de alta aglomeração de animais, a saúde dos moradores e dos *pets* pode ser comprometida (TEIXEIRA; SILVA; SOARES, 2016).

Com relação às características dos cães e gatos dos tutores que levaram seus animais para atendimento no Hospital Escola Veterinário Univértix (TABELA 2), quanto espécie, sexo, idade e se eram ou não castrados; constatou-se que 73,33% (22) dos animais de estimação eram da espécie canina, com idades que variavam de 7 meses a 14 anos e em sua maioria fêmeas, 53,33% (16); os gatos, em menor número apareceram na pesquisa como 26,66% (8) das espécies, com idades entre 6 meses a 6 anos. Dos 30 tutores entrevistados, 14 relataram que seus animais eram castrados, representando 46,66% (14) contra 40% (12) de tutores de animais não castrados, os demais, 6,66% (2) de tutores que não informaram sobre a castração.

**Tabela 2:** Perfil dos animais levados ao Hospital Escola Veterinário Univértix no período de 01 de outubro à 20 de outubro de 2021.

<b>VARÍAVEIS</b>	<b>N</b>	<b>(%)</b>
<b>Espécie</b>		
Cão	22	73,33%
Gato	8	26,66%
<b>Sexo</b>		
Macho	7	23,33%
Fêmea	16	53,33%
Não informado	7	23,33%
<b>Castração</b>		
Castrados	14	46,66%
Não castrados	12	40%
Castrados e não castrados	2	6,66%
Não Informado	2	6,66%

**Fonte:** Elaborado pelos autores.

Avaliando os resultados acima apresentados observa-se que eles são achados esperados tomando como base a população atual de cães e gatos no Brasil, onde apesar de haver um crescimento de gatos como animais de estimação

(GEBRIM; TOBIAS; TEIXEIRA, 2019); os cães ainda são os animais domésticos em maior número nos lares brasileiros, com 55,1 milhões de cães e 24,7 milhões de gatos (ABINPET, 2019), colocando o Brasil somente atrás dos Estados Unidos, como segundo lugar mundial em número absoluto de cães e gatos (DOMINGUES; CESAR; FASSA; DOMINGUES, 2015). De acordo com Pellenz *et al.* (2016) essa preferência pelos cães pode ser explicada por ser uma relação de domesticação mais antiga, levando a uma maior afetividade, ampliada pela proteção e companhia fiel que traz um cão. Porém, os gatos ganham cada vez mais espaço no ambiente familiar pela sua lealdade, independência, fácil manejo e hábitos de higiene individual. Inclusive por conta da pandemia causada pela Covid-19, as pessoas tiveram que permanecer mais tempo em casa. Em 2020 a população *pet* mundial cresceu liderada pelos gatos (IPB, 2021). Mas é importante ressaltar que a densidade populacional canina e felina difere de cidade para cidade, de região para região e de bairro para bairro, fatores esses ligados ao perfil socioeconômico de cada local (REICHMANN; PINTO; NUNES, 1999).

Um resultado positivo foi acerca da maioria dos tutores entrevistados já terem castrado seus animais; são dados que não demonstram a realidade da maior parte dos hospitais veterinários, cuja maioria não são castrados; mesma realidade demonstrada em pesquisa realizada por Kamal, Vasques e Romani (2021), em que 58,3% dos animais eram inteiros. Mas mesmo que a maioria dos pesquisados tenham proporcionado a castração de seus animais, 40% (12) não o fizeram, o que colabora para um descontrole populacional entre os animais, comprometendo seu bem-estar, aumentando ainda a ocorrência de doenças infectocontagiosas, maus tratos, abandono, entre outras consequências que levam ao sofrimento do animal (MOLENTO *et al.*, 2005). Outro ponto positivo sobre a castração é relatado por Lima e Luna (2010), como sendo uma cirurgia segura e com baixa mortalidade quando realizada corretamente. Observa-se poucos efeitos adversos comparados aos benefícios trazidos para o animal e a população em geral, em que se consegue um aumento da sobrevivência do animal (ARAUJO *et al.*, 2014), e diminuição da ocorrência de doenças venéreas. A esterilização cirúrgica também traz benefícios profiláticos reduzindo os casos de neoplasias entre as espécies canina e felina (FONSECA; DALECK, 2000).

Na avaliação sanitária (TABELA 3), os entrevistados demonstraram um ótimo conhecimento das ações preventivas que são fundamentais para a saúde dos animais, em que a maioria 36,66% (11) declarou levar seu animal a cada 6 meses ao médico veterinário e 30% (9) só os levam quando adoecem; esses resultados vão de encontro a pesquisa realizada por Torres (2017) na qual a grande maioria dos tutores (55,72%) responderam que só levam seus animais ao veterinário quando doentes; e esses dados corroboram mais fidedignamente com a rotina diária dos atendimentos realizados no Hospital Escola Veterinário Univértix, onde se observa uma demora por parte do tutor em procurar ajuda médica para seu animal, dificultando ou impossibilitando muitas vezes a recuperação do paciente.

**Tabela 3:** Nível de entendimento dos 30 tutores de cães e gatos que frequentaram o Hospital Escola Veterinário Univértix no período de 01 de outubro à 20 de outubro de 2021, sobre as necessidades físicas básicas dos animais.

<b>VARIÁVEIS</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Ida ao médico veterinário</b>		
A cada 6 meses	11	36,66%
Anualmente	10	33,33%
Somente quando adoecer	9	30%
<b>Vacinação</b>		
Sim	29	96,66%
Não	1	3,33%
<b>Tipos de vacina</b>		
Polivalente	2	6,66%
Antirrábica	2	6,66%
Polivalente e antirrábica	19	63,66%
Polivalente e outras	1	3,33%
Polivalente, antirrábica e outras	3	10%
Outras	3	10%
<b>Quem aplica a vacina</b>		
Médico Veterinário	29	96,66%
Alguém na minha casa	1	3,33%

**Fonte:** Elaborado pelos autores.

Não é recomendado que se leve o animal a consulta apenas quando ele adoecer, o ideal é leva-lo no mínimo uma ou duas vezes ao ano, para realização de exames preventivos, que auxiliarão em caso de doença, em um diagnóstico precoce, aumentando as chances de um tratamento eficaz (MENDONÇA, 2019). Essa prática além de favorecer um melhor controle vacinal e de desvermifugação, será acompanhado por um profissional, o que é o ideal; também sendo fundamental para prevenção de zoonoses (MATOS *et al.*, 2012).

As respostas sobre vacinação também se mostraram muito positivas, em que 96,66% das vacinas foram dadas por um médico veterinário, anualmente, e a grande maioria, 63,66% (19) relataram ter fornecido vacinas antirrábica, polivalente e vacina específica para gatos (V3, V4 e V5), demonstrando que os tutores que participaram da pesquisa sabem da importância dessa forma preventiva contra inúmeras doenças como cinomose, parvovirose e raiva. De acordo com estudo realizado por Junqueira (2017), o Brasil apresenta uma cobertura vacinal para raiva de (70,43%), sendo a cobertura vacinal de gatos (59,31%) inferior a de cães (75,13%).

Questionados também sobre as vermifugações e controle de ectoparasitas, 76,66% (23) dos tutores informaram realizar esses cuidados, sendo 76,66% (23) fazendo de forma adequada por trimestre, repetindo a vermifugação após 15 a 21 dias e 20% (6) controlam pulgas e carrapatos através de banhos com produtos carrapaticidas e 16,66% (5) afirmaram não realizar qualquer controle (TABELA 4). Pesquisa semelhante foi realizada por Santos (2021), em que 37,7% dos participantes vermifugavam seus animais trimestralmente. Ressalta-se a importância da regularidade de controle das parasitoses para a saúde dos cães e gatos, com redução da contaminação ambiental e proteção da saúde humana contra zoonoses (XAVIER, 2006).



**Tabela 4:** Nível de entendimento dos 30 tutores de cães e gatos que frequentaram o Hospital Escola Veterinário Univértix no período de 01 de outubro à 20 de outubro de 2021, sobre as necessidades físicas básicas dos animais.

<b>VARIÁVES</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Vermifugação</b>		
A cada 3 meses	23	76,66%
Anualmente	6	20%
Nunca vermifugo	1	3,33%
<b>Repetição da dose depois de 15 a 21 dias</b>		
Sim	22	73,33%
Não	8	26,66%
<b>Controle de ectoparasitas</b>		
Banhos com produtos carrapaticidas	6	20%
Banhos com produtos carrapaticidas/Spray carrapaticida	1	3,33%
Coleiras carrapaticidas	6	20%
Coleiras carrapaticidas/Banhos com produtos carrapaticidas	2	6,66%
Coleiras carrapaticidas/Spray carrapaticida	2	6,66%
Pipetas na pele na região de pescoço	4	13,33%
Pipetas na pele na região do pescoço/Banhos com produtos carrapaticidas	3	10%
Não faço	5	16,66%
Não informado	1	3,33%

**Fonte:** Elaborado pelos autores.

Diante das respostas obtidas relacionadas à nutrição (TABELA 5), observou-se que a maior parte dos tutores de cães, 53,33% (16) tem o costume de alimentar seus animais 1 a 2 vezes ao dia. Em contrapartida, 26,66% (8) dos tutores de gatos fornecem de 3 a mais refeições diárias a eles, e 20% (6) dos entrevistados proporciona esse mesmo número de refeições para seus cães.

**Tabela 5:** Nível de entendimento dos 30 tutores de cães e gatos que frequentaram o Hospital Escola Veterinário Univértix no período de 01 de outubro à 20 de outubro de 2021, sobre as necessidades nutricionais dos animais.

<b>VARIÁVEIS</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Alimentação diária</b>		
1 vez ao dia	3	10%
1 a 2 vezes ao dia	16	53,33%
3 ou mais	11	36,66%
<b>Troca diária da água</b>		
Sim	30	100%
Não	0	0%
<b>Tipo de alimento</b>		
Ração	23	76,66%
Ração e comida caseira	7	23,33%
Comida caseira	0	0%

**Fonte:** Elaborado pelos autores.

Com relação a água, todos os participantes informaram realizar a troca diária. Em pesquisa, Santos (2021) obteve resultados parecidos com seu questionário, no qual 55% dos cães eram alimentados até 2 vezes por dia e os gatos em sua grande maioria 76,2% tinham diariamente de 3 a 4 refeições; e mais de 80% disseram fornecer água limpa todos os dias. Segundo Ribeiro (2019) os gatos demandam serem alimentados mais vezes ao dia para que consigam manter a sua glicemia e atividade metabólica estável.

A ração foi a opção alimentar mais oferecida aos cães e gatos, com 76,66% (23) das respostas, sendo que 23,33% (7) dos participantes tinham o hábito de fornecer além da ração, comida caseira. Dados similares, porém mais expressivos foram apresentados por Santos (2021), em que 85% dos entrevistados forneciam somente a ração. Outra pesquisa, agora realizada por Da Silva *et al.* (2020), demonstra mais claramente o costume que muitos guardiões ainda têm de alimentar seus animais indiscriminadamente, com comida caseira, muitas vezes restos que sobram dessa alimentação; em que 42% dos pesquisados relataram colocar para os seus *pets* a mesma comida que comem. Essa prática perigosa pode acarretar prejuízos sérios para a saúde dos animais; muitos alimentos humanos são tóxicos para eles, como por exemplo, cebola e alho (PEREIRA; SCHERAIBER, 2015). É importante que os alimentos fornecidos aos cães e gatos sejam específicos e balanceados de acordo com as necessidades de cada espécie (RIBEIRO, 2019), permanecendo ainda como melhor opção, uma ração de qualidade, que fornece aos animais todos os nutrientes que eles precisam (MACIEL, 2018).

As condições ambientais do lugar em que o animal vive também estão relacionadas ao bem-estar. Esse local deve ser limpo, espaçoso e protegido de sol e chuva (PRADA; MALDONADO, 2009). Todos os indivíduos tomados na amostra foram questionados sobre esses temas, e as respostas apresentadas superaram as expectativas (TABELA 6).

**Tabela 6:** Nível de entendimento dos 30 tutores de cães e gatos que frequentaram o Hospital Escola Veterinário Univértix no período de 01 de outubro à 20 de outubro de 2021, sobre as necessidades ambientais dos animais.

<b>VARIÁVEIS</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Espaço para exercício</b>		
Sim	28	93,33%
Não	2	6,66%
<b>Ambiente em que o animal permanece por maior tempo</b>		
Solto no quintal	8	26,66%
Amarrado no quintal	0	0%
Dentro de casa	21	70%
Canil	1	3,33%
<b>Limpeza diária do ambiente</b>		
Sim	30	100%
Não	0	0%
<b>Local de descanso protegido do sol</b>		
Sim	30	100%
Não	0	0%

**Fonte:** Elaborado pelos autores.

Todos os tutores disseram que seus animais viviam em locais limpos e protegidos, a maior parte deles viviam em local espaçoso (93,33%) e dentro de casa (70%). É importante que o animal tenha um cantinho confortável e seguro só dele, onde possa descansar e se alimentar tranquilamente (AMARAL, 2012). Adaptações dentro de casa e apartamentos precisam ser feitas para evitar acidentes, muitas vezes fatais, que podem ocorrer com piso escorregadio, escadas íngremes e janelas sem telas (MURARO; ALVES, 2014).

Concernente às necessidades psicológicas, comportamentais e sociais (TABELA 7), todos os entrevistados relataram saber da importância dos animais expressarem sentimentos naturais da sua espécie.

**Tabela 7:** Nível de entendimento dos 30 tutores de cães e gatos que frequentaram o Hospital Escola Veterinário Univértix no período de 01 de outubro à 20 de outubro de 2021, sobre as necessidades psicológicas, comportamentais e sociais.

<b>VARÍAVEIS</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Passeio</b>		
Sim	23	76,66%
Não	7	23,33%
<b>Contato com animais de outros donos</b>		
Sim	10	33,33%
Não	13	43,33%
Raramente	7	23,33%
<b>Brinquedos</b>		
Sim	24	80%
Não	6	20%
<b>Tempo que o animal fica sozinho</b>		
1 hora	8	26,66%
Mais de 1 hora	5	16,66%
Meio dia	14	46,66%
O dia todo	2	6,66%

**Fonte:** Elaborado pelos autores.

A maioria dos tutores demonstraram atenção às questões de bem-estar animal ao responderem que passeavam e forneciam brinquedos. Uma pequena parcela admitiu deixá-los sozinhos o dia todo, mas a maioria os deixa por cerca de 12 horas; período longo em que o animal fica privado de exercícios e de interação social, levando a uma diminuição de serotonina, hormônio relacionado ao bem-estar, o que pode desencadear com isso, problemas comportamentais, psicológicos e agressividade (TORRES, 2017); causas relacionadas ao abandono e maus tratos (PAIXÃO; MACHADO, 2015). Os donos de gatos, também os deixam longos períodos sozinhos, e relatam não passear com os seus animais. Uma evidência preocupante, pois eles também formam ligações sociais e podem sofrer, como os cães de ansiedade por separação (TEIXEIRA, 2009). Os passeios em horário e temperatura adequados, bem como as brincadeiras, são de fundamental importância para a saúde física e psicológica do animal, estimulam prática de exercício, que deve ser diária e a sociabilização; mas tais práticas só podem ser estimuladas após a realização do protocolo vacinal (HORWITZ; MILLS, 2009). Questões relacionadas a esses temas também foram abordadas na pesquisa de Torres (2017) e as respostas foram em sua totalidade semelhantes.

Já avaliados se permitiam ou não contato com outros animais, a maioria respondeu não permitir, e entre os donos de gatos essa resposta se mostrou ainda

mais evidente; diferente do resultado obtido por Torres (2017) em sua pesquisa, em que a maioria permitia esse contato.

Quanto aos indicadores do bem-estar animal (TABELA 8), mencionados pelos entrevistados, todos apontaram saber o que é bem-estar (100%) e que os animais também sentem dor (100%).

**Tabela 8:** Nível de entendimento dos 30 tutores de cães e gatos que frequentaram o Hospital Escola Veterinário Univértix no período de 01 de outubro à 20 de outubro de 2021, sobre bem-estar animal.

<b>VARÍAVEIS</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Conhecimento sobre guarda responsável</b>		
Sim	27	90%
Não	3	10%
<b>Conhecimento sobre zoonoses</b>		
Sim	30	100%
Não	0	0%
<b>Conhecimento sobre ser senciante</b>		
Sim	23	76,66%
Não	7	23,33%
<b>Conhecimento sobre cirurgias mutilantes</b>		
Sim	29	96,66%
Não	1	3,33%

**Fonte:** Elaborado pelos autores.

Gomes (2015) como Dzieciol e Bosa (2011) também trazem números parecidos em suas pesquisas. Os animais demonstram dor de diversas formas, evitando estímulos dolorosos, alterando a postura diante uma lesão, ficando mais quietos e diminuindo o apetite (ROPPA, 2020). E o tutor só terá condições de perceber essas alterações comportamentais e de proporcionar bem-estar ao seu animal, se tiver consciência e informação do seu papel como guardião, exercendo uma guarda responsável ao oferecer a ele um ambiente saudável, com nutrição adequada, proteção, carinho, liberdade para demonstrar comportamentos naturais, cuidar para que eles fiquem livres de dor, medo e leva-lo periodicamente ao médico veterinário (DA SILVA *et al.*, 2020).

Os números continuam positivos demonstrando que esses tutores têm um ótimo conhecimento acerca do enfoque da pesquisa e, surpreendentemente, sabem em sua maioria, o que é guarda responsável - 90% (27) e senciência animal - 76,66% (23). Torres (2017) abordou os mesmos tópicos em sua pesquisa e alguns resultados não foram tão positivos, pois apenas 22,90% disseram saber o que é

guarda responsável e 54,19% o que era senciência. A consciência não é uma característica intrínseca do ser humano, os animais também são seres sencientes e semelhantes aos humanos demonstram ter memória, dor, angústia e instinto de sobrevivência (DE ALMEIDA, 2018).

A totalidade dos entrevistados disseram saber também que os animais são causadores de doenças que acometem humanos. Esse esclarecimento sobre as zoonoses é fundamental para preservar a saúde humana, pois 75% das doenças infecciosas nas últimas décadas foram transmitidas por animais (JUNQUEIRA, 2017). Índices parecidos foram demonstrados por Da Silva *et al.* (2020) constatando que 96,5 % dos pesquisados tinham conhecimento do tema.

Os participantes se mostraram cientes também da proibição de cirurgias mutilantes de cunho estético como a caudectomia e conchectomia com 96,66% (29) das respostas. O conselho de Medicina Veterinária na resolução de nº 877 em seu artigo 7º proíbe cirurgias desnecessárias de cunho estético e aquelas que impeçam o animal de expressar seu comportamento natural, como a cirurgia de oniectomia em gatos (BRASIL, 2008).

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os resultados obtidos na pesquisa foram positivos. Foi possível observar que os participantes possuem conhecimento sobre as necessidades básicas dos animais e que grande maioria realiza tais ações. Isso predispõe uma convivência mais harmônica e saudável entre homem e o animal, tendo como consequências a diminuição do abandono, de zoonoses e melhor controle populacional, reduzindo também a transmissão de doenças entre os animais.

## **REFERÊNCIAS**

ABINPET - **Associação Brasileira Da Indústria De Produtos Para Animais De Estimação**. 2019. Disponível em: <http://abinpet.org.br/mercado/>. Acesso em: 16 de outubro de 2021.

AGUILAR, R. M. S. S. **Ética, Moral e Direito dos Animais na Pesquisa e Produção Animal**. Santo Ângelo, Rio Grande do Sul, ed. 1, vol. 200, 160 p., 2014.

ALMEIDA, E. H. P. Maus Tratos Contra Animais. **Âmbito Jurídico**. n. 122. São Paulo, março de 2014. Disponível em: <https://ambitojuridico.com.br/cadernos/direito-ambiental/maus-tratos-contras-animais/>. Acesso em: 27 de junho de 2021.

ARAUJO, K. A. M.; ALVES, N. D.; RODRIGUES, A. M. B.; PINHEIRO, A. G.; ARAUJO, J. N. G.; AMORA, S. S. A.; PAULA, G. G.; FEIJO, F. M. C. Bem estar Animal Versus Alterações Comportamentais Após Esterilização Visando Controle Reprodutivo de Cães e Gatos. In: III Congresso de Bioética e Bem-estar Animal. **Anais do III Congresso de Bioética e Bem-estar Animal**, Curitiba, 2014.

AMARAL, R. M. A. Bem-estar de cães e gatos. Cadernos Técnicos de Medicina Veterinária e Zootecnia, **FEPMVZ Editora**, Belo Horizonte, n. 67, p. 42-50, dezembro, 2012.

BRASIL, **Diário Oficial da União**. Resolução nº 1.236, de 26 de outubro de 2018. edição 208, seção 1, página 133. Disponível em: [https://www.in.gov.br/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/47542721/do1-2018-10-29-resolucao-n-1-236-de-26-de-outubro-de-2018-47542637](https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/47542721/do1-2018-10-29-resolucao-n-1-236-de-26-de-outubro-de-2018-47542637). Acesso em: 27 de junho de 2021.

BRITO, M.C.P. **Controle Populacional e Bem-Estar de Cães e Gatos na cidade de Cabaceiras – Paraíba**. Orientador: Dr. Luiz Eduardo Carvalho Buquera. 2016. 64 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Areia, Paraíba, 2016.

BROOM, D.M.1; MOLENTO, C.F.M. Bem-Estar Animal: Conceito e Questões Relacionadas – Revisão. **Archives of Veterinary Science**, [S.l.], vol. 9, n. 2, p. 1-11, 2004.

CAETANO, R; BOEING, C. H. S. **Bem Estar Animal E Posse Responsável No Contexto Da Sociedade Brasileira**. Orientadora: Carolina Hoeller da Silva Boieng. 2019. 16 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Serviço Social) – Universidade do Sul de Santa Catarina, Santa Catarina, 2019.

CALDERÓN, N. Bienestar Animal. **Revista Academia Colombiana de Ciencias Veterinarias**, Colômbia, vol. 01, n. 02, p. 50, março, 2010.

CAPRA, F.; STEINDL-RAST, D.; MATUS, T. Pertencendo ao Universo. Exploração nas fronteiras da ciência e da espiritualidade. **Editora Cultrix Ltda**, São Paulo, 193 p., 1991.

CFMV – **Conselho Federal de Medicina Veterinária**. Resolução nº 877, de 15 de fevereiro de 2008, artigo 7. Disponível em: [https://wp.ufpel.edu.br/direitosdosanimais/files/2020/09/RESO-CFMV-877\\_2008-3.pdf](https://wp.ufpel.edu.br/direitosdosanimais/files/2020/09/RESO-CFMV-877_2008-3.pdf). Acesso em: 20 de outubro de 2021.

CONCEA - Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal. 2018. **Bem-estar animal**. Orientação técnica disponível em: <https://www.ceua.ufv.br/wp-content/uploads/2018/05/ORIENTACAO-TECNICA-N%C2%BA-12.pdf>. Acesso em: 03 de Abril de 2021.

DA SILVA, P. H.; MOURA, W. S.; OLIVEIRA, Y. R.; DE ABREU, M. C.; DA SILVA, E. L.; FERREIRA, P. M. P.; PACHECO, A. C. L. Nível de Conhecimento dos Acadêmicos do Curso de Biologia da Universidade Federal do Piauí Sobre Bem-Estar de Pequenos Animais Domésticos (Cães e Gatos). **Research, Society and Development**, Piauí, vol. 9, n. 7, 2020.

DE ALMEIDA, L. R. **Conhecimento dos Usuários do Hospital Veterinário da Universidade Federal da Paraíba Sobre Guarda Responsável, Bem-estar Animal e Zoonoses**. Orientador: Prof. Dr. Luiz Eduardo Carvalho Buquera. 2018. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, janeiro, 2018.

DOMINGOS, R. O. C.; SOUZA, E. L. D. O Critério de Senciência dos Animais Humanos e Não Humanos e sua Condição como “Sujeito de Direito”. **Anais Colóquio Estadual de Pesquisa Multidisciplinar & Congresso de Pesquisa Multidisciplinar**, Mineiros, Goiás, p. 1-8, 2019.

DOMINGUES, L. R.; CESAR, J. A.; FASSA, A. C.; DOMINGUES, M. R. Guarda Responsável de Animais de Estimação na Área Urbana do Município de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, Pelotas, vol. 20, n. 1, p. 185-192, 2015.

DOTSON, M. J.; HYATT, E. M. Understanding Dog-Human Companionship. **Journal of Business Research**, [S.l.], vol. 61, n. 5, p. 457-466, maio, 2008.

DZIECIOL, M. E.; BOSA, C. R. O programa de Guarda Responsável de Animais de Curitiba e Sua Aplicação no Acantonamento Ecológico. **Revista Monografias Ambientais (REMOA)**, Santa Maria, vol. 4, n. 4, p. 877-886, 2011.

FIGUEIRA, S. V.; NASCIMENTO, G. M.; MOTA, B. P.; LEONÍDIO, A. R. A.; ANDRADE, M. A. Bem-Estar Animal Aplicado a Frangos de Corte. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, vol. 10, n. 18, p. 643-663, 2014.

FONSECA, C. S.; DALECK, C.R. Neoplasias Mamárias em Cadelas: Influência Hormonal e Efeitos da Ovário-histerectomia Como Terapia Adjuvante. **Ciência Rural**, Santa Maria, vol. 30, n. 4, p. 731-735, 2000.

GALVÃO, P. Os animais têm direitos? Perspectivas e argumentos. **Dina livro**, Lisboa, Portugal, ed. 1, 240 p., 2010.

GEBRIM, M.S.; TOBIAS, G. C.; TEIXEIRA, C. C. Cobertura das Campanhas de Vacinação Antirrábica Animal. **Revista de Atenção à Saúde**, São Caetano do Sul, vol. 17, n. 61, p. 13-20, julho/setembro, 2019.

GOMES, V. C. P. S. **Relação entre Padrão Socioeconômico e Variáveis Ligadas ao Bem-estar e Guarda Responsável de Cães e Gatos em Areia – PB**. Orientador: Prof. Dr. Luiz Eduardo Carvalho Buquera. 2015. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2015.

HORWITZ, D. F.; MILLS, D. S. BSAVA Manual of Canine and Feline Behavioural Medicine. **British Small Animal Veterinary Association (BSAVA)**, Reino Unido, ed. 2, 324 p., 2009.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2020. População Estimada Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mg/matipo/panorama>. Acesso em: 08 de Maio de 2021.



IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2010. População Residente – Sexo. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mg/matipo/panorama>. Acesso em: 16 de outubro de 2021.

IPB - Instituto Pet Brasil, 2019. Disponível em: <http://institutopetbrasil.com/imprensa/censo-pet-1393-milhoes-de-animais-de-estimacao-no-brasil/>. Acesso em: 30 de julho de 2021.

IPB – Instituto Pet Brasil. 2021. População Pet Mundial Cresce Liderada por Gatos. Disponível em: <http://institutopetbrasil.com/fique-por-dentro/populacao-pet-mundial-cresce-liderada-por-gatos/>. Acesso em: 21 de outubro de 2021.

JORGE, S. S.; BARBOSA, M. J. B.; WOSIACKI, S. R.; FERRANTE, M. Guarda Responsável de Animais: Conceitos, Ações e Políticas Públicas. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, vol. 15, n. 28, p. 578-594, 2018.

JUNQUEIRA, A. N. N. **Características da População de Cães e Gatos Domiciliados do Brasil**. Orientadora: Paula Diniz Galera. 2017. 38 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) - Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

KAMAL, A. E. G.; VASQUES, G. M. B.; ROMANI, I. Guarda Responsável de Cães e Gatos em Maringá - Paraná / Brasil. **Research, Society and Development**, [S.l.], vol. 10, n. 6, 2021.

LIMA, A.; LUNA S. Algumas Causas e Consequências da Superpopulação Canina e Felina: Acaso ou Descaso?. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, São Paulo, vol.10, n. 1, p. 32-38, 2012.

MACIEL, Y. K. L. A. **Levantamento do Manejo Nutricional do Escore de Condição Corporal de Cães em Boa Vista**. Orientador: Prof. Dr. Wilson Gonçalves de Faria Junior. 2018. 62 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2018.

MATOS, L. V. S.; TEIXEIRA, W. F. P.; BREGADIOLI, T.; DE AQUINO, M. C. C.; VIOL, M. A.; BRESCIANI, K. D. S. Orientação Sobre Posse Responsável Em Uma Área Endêmica Para Leishmaniose Visceral Canina. **Revista Ciência em Extensão**, São Paulo, vol. 8, n. 3, p. 34-41, 2012.

MENDONÇA, A. T. A. **Bem-Estar Animal: Conceitos, Importância e Aplicabilidade para Animais de Companhia e Produção**. Orientador: Prof. Dr. Rinaldo Batista Viana. 2019. 52 f. Monografia (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém, 2019.

MOLENTO, C. F. M.; INOE, A. P.; REGO, M. I. C.; LAGO, E.; MEZA, S. K. L.; LEME, M. C.; MOLENTO, M. B. Controle Populacional de Cães e Gatos em Dez Vilas Rurais do Paraná, Brasil. **Arquivos Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, Paraná, vol. 8, n. 1, p. 25-31, janeiro/junho, 2005.

MURARO, C. C.; ALVES, D. N. **Maus tratos de cães e gatos em ambiente urbano, defesa e proteção aos animais**. 2014. Disponível em: <https://carollinasalle.jusbrasil.com.br/artigos/163211587/maus-tratos-de-caes-e->

[gatos-em-ambiente-urbano-defesa-e-protecao-aos-animais](#). Acesso em 28 de junho de 2021.

PAIXÃO, R. L.; MACHADO, J. C. Conexões entre o Comportamento do Gato Doméstico e Casos de Maus-tratos, Abandono e Não Adoção. **Revista Brasileira de Direito Animal**, Salvador, vol. 10, n. 20, p. 137-168, 2015.

PELLENZ, J.; ZIMMERMANN, J. A. R.; BREMM, T.; AGUIAR, C.; BRUM, D. S.; CARVALHO, N. C. Percepção da População Uruguaianense Sobre Posse Responsável de Animais no Município. In: **8º Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão** – Universidade Federal do Pampa, Bagé, Rio Grande do Sul, p. 1-2, 2016.

PEREIRA, K. C. A. F.; MENDONÇA, F. R.; SANTOS, T. S.; SCHIMITT, C. I.; PEGORARO J. R.; ZIMERMANN, E. A.; CORCINI, C. D. Maus-tratos animal e as cinco liberdades: percepção e conhecimento da população de Pelotas/RS. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, vol. 6, n. 2, p. 7503-7515, fevereiro, 2020.

PEREIRA, A. C. F.; SCHERAIBER. Principais Alimentos Tóxicos Para Cães e Gatos. **Biociências, Biotecnologia e Saúde**, Curitiba, n. 12, p. 43-45, maio/agosto, 2015.

PINTO, N.S. **Bem-Estar Animal: Relação Homem – Animal no Conceito da Humanização de Animais**. Orientadora: Ms. Priscila Mara Rodarte Lima e Pieroni. 2018. 50 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Centro Universitário de Formiga (UNIFOR), Formiga, 2018.

PRADA, I. L. S. Os Animais São Seres Sencientes. **I Simpósio Multidisciplinar sobre relações harmônicas entre seres humanos e animais – SIMHAnimal**. Uberlândia, p. 10-13, 2016.

PRADA, F.; MALDONADO, N. A. C. Guarda de Animais em Unidade Municipal. **Programa de Controle de Populações de Cães e Gatos do Estado de São Paulo**, São Paulo, vol. 6, p. 107-119, 2009.

REICHMANN, M.; PINTO, H.B.; NUNES, V.F.P. Vacinação Contra Raiva de Cães e Gatos. **Manual Técnico do Instituto Pasteur**, São Paulo, n. 3, 40 p., 1999.

RIBEIRO, R. S. **Percepção dos Tutores a Respeito da Alimentação Oferecida Para Seus Animais de Companhia na Região do Brejo Paraibano**. Orientador: Dr. Ricardo Romão Guerra. 2019. 50 f. Dissertação (Pós Graduação em Ciência Animal) - Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2019.

ROPPA, P. M. **A Responsabilidade Social e Científica Para Com os Seres Não Humanos: Por uma Dignidade Animal**. Orientadora: Dr<sup>a</sup> Anna Paula Bagetti Zeifert. 2020. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Direito) – Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2020.

SANTANA, H. J. Abolicionismo Animal. **Revista de Direito Ambiental**, São Paulo, vol. 9, n. 36, p. 85-109, 2004.

SANTOS, M. A. **Tutores e Cuidados Realizados com Cães e Gatos em Rio Verde – Goiás**. Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fabiana Ramos Dos Santos. 2021. 42 f. Trabalho

de Conclusão de Curso (Bacharelado em Zootecnia) – Instituto Federal Goiano, Rio Verde, 2021.

SERAFINI, C. A. V.; ROSA, G. A.; GUIMARÃES, A. M. S.; DE MORAIS, H. A.; BIONDO, A.W. Survey of Owned Feline and Canine Populations in Apartments from a Neighbourhood in Curitiba, Brazil. **Zoonoses and Public Health**, Curitiba, vol. 55, p. 402-405, 2008.

SLATER, M. R. The Role of Veterinary Epidemiology in The Study of Free-Roaming Dogs and Cats. **Preventive Veterinary Medicine**, [S.I.], vol. 48, n. 4, p. 273-286, 2001.

SOUZA, M. F. A. e (org). Resumo da Primeira Reunião Latino-americana de especialistas em posse responsável de animais de companhia e controle de populações caninas. In **Primeira Reunião Latino-americana de especialistas em posse responsável de animais de companhia e controle de populações caninas**, de 01 a 03 de setembro de 2003, Rio de Janeiro, 2003.

TEIXEIRA, E. P. **Desvios Comportamentais nas Espécies Canina e Felina Panorama Actual e Discussão de Casos Clínicos**. Orientador: Dr. Luís Grandvaux Barbosa. 2009. 100 f. Dissertação (Mestrado em Clínica e Cirurgia de Pequenos Animais) – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.

TEIXEIRA, G. N. R. F.; SILVA, J. A. M. C.; SOARES, D. N. F. M. Acumuladores de Animais. Cadernos Técnicos de Medicina Veterinária e Zootecnia, **FEPMVZ Editora**, Belo Horizonte, n. 83, p. 60-69, dezembro, 2016.

TORRES, C, M. **Discernimento Sobre Bem-Estar de Cães e Gatos na Comunidade de Médicos Veterinários e de Tutores da Cidade de João Pessoa – PB**. Orientadora: Ivia Carmem Talieri. 2017. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, fevereiro, 2017.

UNESCO – Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura. **Declaração Universal dos direitos dos animais**. Bélgica, 27 de janeiro de 1978. Disponível em: <https://www.crmv-ce.org.br/images/PDF/DECLARAO-UNIVERSAL-DOS-DIREITOS-DOS-ANIMAIS.pdf>. Acesso em: 04 de Abril de 2021.

VIEIRA, A.M.L. Manejo de populações de cães e gatos como estratégia sanitária contra zoonoses urbanas. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife, vol. 18, n. 12, p.11-14, maio/agosto, 2015.

XAVIER, G.A. **Prevalência de Endoparasitos em Cães de Companhia em Pelotas – RS e Risco Zoonótico**. Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Nara Amélia da Rosa Farias, 2006. 74 f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2006.

WESTGARTH, C.; PINCHBECK, G. L.; BRADSHAW, J. W.; DAWSON, S.; GASKELL, R. M.; CHRISTLEY, R. M. Factors associated with dog ownership and contact with dogs in a UK community. **BMC Veterinary Research**, [S.I.], vol. 3, n. 1, p. 1-9, abril, 2007.

WSAVA – Global Veterinary Community, **Diretrizes para o bem-estar animal da WSAVA**, 2018. p. 15. Disponível em: <https://wsava.org/wp-content/uploads/2020/01/WSAVA-Animal-Welfare-Guidelines-2018-PORTUGUESE.pdf>. Acesso em: 04 de Abril de 2021.

## ANEXOS

### ANEXO 1:



FACULDADE VÉRTICE – UNIVÉRTIX  
SOCIEDADE EDUCACIONAL GARDINGO LTDA. – SOEGAR  
CURSO: MEDICINA VETERINÁRIA – 2021/02

#### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

O Sr.(a) está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa **“PERCEPÇÃO DOS CLIENTES DO HOSPITAL ESCOLA VETERINÁRIO UNIVÉRTIX SOBRE BEM-ESTAR ANIMAL DE CÃES E GATOS”**. Nesta pesquisa pretendemos avaliar o conhecimento dos tutores de cães e gatos a respeito do Bem-Estar animal. Assuntos como este são de extrema importância, pois o conhecimento das necessidades básicas dos animais de companhia evita zoonoses, aparecimento de doenças comportamentais causadas pelo estresse, abandono animal e fornece informações aos tutores sobre a importância do manejo correto para o bem estar do seu animal de estimação. O questionário disponibilizado sob o formato impresso será de acesso aos tutores de cães e gatos que foram ao Hospital Veterinário Gardingo no período de 01/10/2021 a 20/10/2021 no horário de funcionamento (segunda a sexta-feira de 08 horas às 17 horas). Os dados serão contabilizados e tabelados.

O questionário será composto por 36 perguntas objetivas, visando analisar os conhecimentos dos tutores acerca de questões sobre as necessidades psicológicas, comportamentais, sociais e avaliação das necessidades ambientais. A análise estatística será descritiva.

Os riscos envolvidos na pesquisa são mínimos, consistindo em risco psicológico durante a aplicação do questionário, no qual poderá sentir-se constrangido (a) frente a alguma questão e preferir não se manifestar, tendo o direito de responder apenas as perguntas que desejar, minimizando assim esse risco psicológico. Durante todo este processo, todas as medidas de biossegurança referente às questões da pandemia do Covid-19 foram tomadas.

Para participar deste estudo o Sr.(a) não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, diante de eventuais danos, identificados e comprovados, decorrentes da pesquisa, o Sr.(a) tem assegurado o direito à indenização. O Sr.(a) tem garantida plena liberdade de recusar-se a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem necessidade de comunicado prévio. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que o Sr.(a) é atendido(a) pelo pesquisador. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. O(A) Sr.(a) não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar. Seu nome ou o material que indique sua participação não serão liberados sem a sua permissão.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, na Faculdade Vértice – UNIVÉRTIX e a outra será fornecida ao Sr.(a).

Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos após o término da pesquisa. Depois desse tempo, os mesmos serão destruídos.

Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo e confidencialidade, atendendo à legislação brasileira, em especial, à Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, e utilizarão as informações somente para fins acadêmicos e científicos.

Eu, \_\_\_\_\_, contato \_\_\_\_\_, fui informado(a) dos objetivos da pesquisa **“PERCEÇÃO DOS CLIENTES DO HOSPITAL ESCOLA VETERINÁRIO UNIVÉRTIX SOBRE BEM-ESTAR ANIMAL DE CÃES E GATOS”** de maneira clara e detalhada, e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar. Declaro que concordo em participar. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer minhas dúvidas.

**Nome do Pesquisador Responsável:** Mayara Cristini Ferreira de Aguiar.

Endereço: Rua Augusto Bertoldino Magalhães, 64, Exposição, Matipó.

E-mail: [mayara.cristini@gmail.com](mailto:mayara.cristini@gmail.com)

**Nome do Pesquisador Responsável:** Emanuella Bracks Fernandes Rodrigues.

Endereço: Praça Cordovil Pinto Coelho, 106, Centro, Manhuaçu.

E-mail: [brackse@yahoo.com.br](mailto:brackse@yahoo.com.br)

**Nome do Pesquisador Responsável:** Jovana de Oliveira Pereira.

Endereço: Rua Professora Zélia Rodrigues, 30, Retiro, Matipó.

E-mail: [jovanaol@hotmail.com](mailto:jovanaol@hotmail.com)

Em caso de discordância ou irregularidades sob o aspecto ético desta pesquisa, você poderá consultar:

CEP/UNIVÉRTIX – Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos

Faculdade Vértice – UNIVÉRTIX

Rua Bernardo Torres, nº180, Bairro Retiro, Bloco C, térreo, sala 05

Faculdade Vértice – UNIVÉRTIX

Telefone: (31) 3873-2199, ramal 213

E-mail: [cep.univertix@gmail.com](mailto:cep.univertix@gmail.com)

Matipó, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_.

---

Assinatura do Participante

---

Assinatura do Pesquisador

## ANEXO 2:

### QUESTIONÁRIO

#### IDENTIFICAÇÃO DOS TUTORES

1. Sexo:  
 feminino  masculino
2. Idade:  
 12 a 17 anos  
 18 a 25 anos  
 de 26 a 50 anos  
 acima de 50 anos
3. Bairro onde reside:
4. Nível de escolaridade:  
 ensino fundamental I incompleto  
 ensino fundamental I completo  
 ensino fundamental II incompleto  
 ensino fundamental II completo  
 ensino médio incompleto  
 ensino médio completo  
 ensino superior incompleto  
 ensino superior completo  
 pós-graduação
5. Moradia:  
 casa  
 apartamento  
 outro
6. Estado civil:  
 solteiro  
 casado  
 viúvo  
 divorciado
7. Quantos animais possui?  
(especificar se é cão ou gato):

#### IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS

8. Espécie:  cão  gato
9. Sexo:  macho  fêmea
10. Idade:
11. O seu animal é castrado?  
 sim  não

#### AVALIAÇÃO SANITÁRIA

12. Você leva seu animal ao médico veterinário?  
 a cada 6 meses  
 anualmente  
 somente quando adocece
13. Seu animal é vacinado todo ano?  
 sim  não
14. Qual vacina seu animal recebe?  
(se necessário marque mais de uma alternativa)  
 antirrábica  polivalente ou antiviral  
 outras
15. Quem vacina seu animal?  
 médico veterinário  vendedor da loja de ração  alguém na minha casa
16. Qual o intervalo de tempo que você vermífuga seu animal?  
 nunca vermífugo  
 a cada 3 meses  
 anualmente
17. Quando você vermífuga o seu animal, costuma repetir a dose após 15 a 21 dias?  
 sim  não
18. Qual a medida de controle de ectoparasitas (pulgas, piolhos, carrapatos) você faz no seu animal?  
(se necessário marque mais de uma alternativa)  
 não faço  
 pipetas na pele da região do pescoço  
 coleiras carrapaticidas  
 banhos com produtos carrapaticidas  
 spray carrapaticida

#### AVALIAÇÃO NUTRICIONAL

19. Quantas vezes por dia você alimenta o seu animal?

( ) 1 vez ( ) de 1 a 2 vezes ( ) 3 ou mais

20. Você troca a água do seu animal todos os dias?

( ) sim ( ) não

21. Qual o tipo de alimento você fornece ao seu animal?

( ) ração ( ) comida caseira ( ) ração e comida caseira

### **AVALIAÇÃO DAS NECESSIDADES PSICOLÓGICAS, COMPORTAMENTAIS E SOCIAIS**

22. Você acha importante o seu animal expressar o que sente?

( ) sim ( ) não

23. Você leva seu animal para passear?

( ) sim ( ) não

24. Seu animal tem contato com os animais de outros donos?

( ) sim ( ) não ( ) raramente

25. Seus animais têm brinquedos?

( ) sim ( ) não

26. Quanto tempo seu animal fica sozinho?

( ) 1 hora ( ) mais de 1 hora ( ) meio dia ( ) o dia todo

### **NECESSIDADES AMBIENTAIS**

27. Seu animal tem espaço para exercitar-se?

( ) sim ( ) não

28. Onde seu animal passa a maior parte do tempo?

( ) solto no quintal  
( ) amarrado no quintal  
( ) dentro de casa  
( ) canil

29. O ambiente em que seu animal vive é limpo diariamente?

( ) sim ( ) não

30. Seu animal tem um local para descansar fora do sol?

( ) sim ( ) não

### **CONHECIMENTO SOBRE BEM-ESTAR ANIMAL**

31. Você sabe o que é bem-estar animal?

( ) sim ( ) não

32. Você sabe que os animais sentem dor?

( ) sim ( ) não

33. Você sabe o que é guarda responsável?

( ) sim ( ) não

34. Você sabe que os animais podem transmitir doenças ao ser humano?

( ) sim ( ) não

35. Você sabe o que é um ser senciente?

( ) sim ( ) não

36. Você sabe que corte de cauda e corte de orelha são cirurgias mutilantes?

( ) sim ( ) não



## ANEXO 3:

### BEM-ESTAR ANIMAL DOS ANIMAIS DOMÉSTICOS



O bem-estar é definido como a capacidade dos animais em demonstrarem os seus hábitos e comportamentos que são naturais para a sua espécie.

Para avaliar o bem-estar dos cães e gatos, foi criada a regra das **CINCO NECESSIDADES**, sendo elas:

- Livre de fome e sede;
- Livre de desconforto;
- Livre de dor, de ferimentos ou doenças;
- Livre de medo e de estresse;
- Livre para expressar seu comportamento natural.

**Sempre que você supre essas necessidades, o bem-estar do seu pet é garantido!**

### Posse Responsável

É o conhecimento por parte dos tutores sobre as necessidades básicas dos animais.

O primeiro passo para uma posse responsável, começa antes mesmo da aquisição de um animal de estimação.

Algumas perguntas devem ser respondidas, como: Todos da família querem esse animal? Existem condições financeiras, tempo, espaço em casa, para cuidar de um animal por no mínimo 10 anos?

As consequências da posse irresponsável são muitas, sendo elas:

- **Abandono**
- **Maus tratos**
- **Aumento populacional**
- **Transmissão de doenças**

### Senciência

Você acha que o seu pet possui sentimentos? Se você pensou que sim, é verdade! Assim como nós humanos, os animais também sentem medo, dor, solidão e alegria!

Essa capacidade de sentir e experimentar emoções é chamada de **senciência**.

### PROTOCOLO DE VACINAÇÃO



**Cães filhotes:**  
**V8 ou V10**  
1ª dose: 6-8 semanas  
2ª dose: 10-12 semanas  
3ª dose: 14-16 semanas  
**Antirrábica**  
1ª dose: 120 dias  
**Cães adultos:**  
**V8 ou V10**  
A partir de 1 ano de idade: 2 doses com intervalo de 21 dias entre a 1ª e 2ª dose  
\*Reforço anual  
**Antirrábica**  
>12 semanas  
\*Reforço anual

**Gatos filhotes:**  
**V4 ou V5**  
1ª dose: 6-8 semanas  
2ª dose: 10-12 semanas  
3ª dose: 14-16 semanas  
**Antirrábica**  
1ª dose: 120 dias  
**Gatos adultos:**  
**V4 ou V5**  
1ª dose: >120 dias  
2ª dose: 21-30 dias após a 1ª dose  
\*Reforço anual  
**Antirrábica**  
>120 dias  
\*Reforço anual

### PROTOCOLO DE VERMIFUGAÇÃO



**Gatos filhotes:**  
1ª dose aos 14 dias de vida  
2ª dose no desmame (30 dias)  
Repetições a intervalos de 3 a 4 semanas até os 6 meses de idade  
Repetições a cada 3 a 4 meses por toda a vida  
**Gatas prenhes:**  
Tratar antes da cobertura  
Repetir 10 dias do parto  
Posteriormente deve ser tratada com os filhotes, na 2ª e 4ª semana pós-parto  
Repetições a cada 3 a 4 meses por toda a vida

**Cães filhotes:**  
1ª dose aos 14 dias de vida  
Repetições a intervalos de 3 a 4 semanas até os 6 meses de idade  
Repetições a cada 4 a 6 meses por toda a vida  
**Cadelas prenhes:**  
Deve ser tratada antes da cobertura  
Vermifugar a partir de 45 dias de gestação  
Posteriormente deve ser tratada simultaneamente com os filhotes, no 14º dia pós-parto

# **PESQUISA DE CONTAMINAÇÃO DE MORTADELA POR *Listeria monocytogenes* EM AMOSTRAS COLETADAS NA REGIÃO DA ZONA DA MATA MINEIRA**

**Acadêmicas:** Paula Capobiango Sena e Thais Do Carmo Viana

**Orientador:** Ítalo Stoupa Vieira

## **RESUMO**

A *Listeria monocytogenes* é considerada um dos agentes bacterianos mais patogênicos relacionados a surtos alimentares. A contaminação dos alimentos pode ocorrer através do solo, água e excrementos de animais. A listeriose nos humanos é causada principalmente pelo consumo de alimentos contaminados, levando em consideração que o patógeno tem a capacidade de contaminar uma extensa variedade de produtos, além de conseguir sobreviver em condições adversas como alta concentração de sal, alta acidez e congelamento. Os produtos cárneos emulsionados, como as mortadelas, representam um significativo segmento da industrialização de carnes por serem bastante consumidos, tanto dentro de casa como no mercado de alimentação rápida. A presença de *L. monocytogenes* em produtos cárneos cozidos é provavelmente resultado de contaminação cruzada no processamento, que pode ocorrer durante o manuseio adicional, como fatiar e reembalar. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a possível contaminação por este patógeno em mortadelas fatiadas produzidas no Brasil, por meio de um experimento no laboratório de microbiologia do Hospital Veterinário da Faculdade Vértice – Univértix. As amostras de mortadela foram coletadas, foi realizado o primeiro enriquecimento seletivo, seguido do segundo enriquecimento seletivo, o isolamento, a prova de catalase, teste de coloração de Gram e Vermelho de Metila. Os resultados mostraram que 100% (4) das amostras coletadas apresentaram resultados positivos para *Listeria* spp., o que pode ser um indicativo de que a indústria de alimentos ainda apresenta falhas no controle deste patógeno e é necessário que haja melhorias nas condições de produção e manipulação do produto após seu processamento e armazenamento.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Listeria* spp.; mortadela; *Listeria monocytogenes*; listeriose.

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

## **INTRODUÇÃO**

Segundo Rodrigues *et al.* (2017), a listeriose foi reconhecida no ano de 1920 como uma infecção causada por uma bactéria Gram positiva que posteriormente recebeu o nome de *Listeria monocytogenes*. Após o primeiro surto da doença no Canadá na década de 80, esta bactéria passou a ser considerada de extrema importância para a saúde pública mundial.

Com a globalização e as mudanças evidenciadas nas últimas décadas relacionadas ao crescimento da ingestão de alimentos prontos para o consumo, a

população urbana passou a ser tão exposta à *L. monocytogenes* quanto a população do meio rural. A listeriose é observada principalmente nos países mais industrializados, tendo em vista as alterações nos hábitos alimentares e as condições de armazenamento de alimentos que nestes se praticam (DIAS *et al.*, 2017; MATEUS *et al.*, 2017). A bactéria *L. monocytogenes* é considerada um dos agentes bacterianos isolados mais patogênicos quando relacionados a surtos alimentares, e a contaminação dos alimentos pode ocorrer através do solo, água e excrementos de animais (DIAS *et al.*, 2017).

A listeriose é uma doença infecciosa que causa danos principalmente em mulheres grávidas, crianças recém-nascidas, idosos e indivíduos imunossuprimidos, podendo causar aborto, meningite e septicemia. Apesar de sua baixa incidência, o quadro clínico é grave e a taxa de mortalidade elevada, variando entre 15% e 30% dos indivíduos afetados (RODRIGUES *et al.*, 2017).

Esta doença nos humanos é causada principalmente pelo consumo de alimentos contaminados, levando em consideração que o patógeno tem a capacidade de contaminar uma extensa variedade de produtos, além de conseguir sobreviver em condições adversas como alta concentração de sal, alta acidez e congelamento (VINHA *et al.*, 2019).

Apesar da *L. monocytogenes* ser geralmente sensível à maioria dos antibióticos, ela apresenta resistência às cefalosporinas e fosfomicinas. E, com a utilização indiscriminada de antimicrobianos na criação de animais de produção em todo o mundo, há uma preocupação quanto à resistência bacteriana às drogas se tornar cada vez mais comum (PALMA *et al.*, 2016).

Tendo em vista os riscos envolvidos na contaminação de alimentos por *L. monocytogenes*, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a contaminação por este patógeno em mortadelas fatiadas adquiridas em supermercado da Zona da Mata Mineira.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **Características microbiológicas da *Listeria***

O gênero *Listeria* compreende as seis espécies: *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. innocua*, *L. welshimeri* e *L. grayi*, sendo considerada patogênica para o homem apenas a *L. monocytogenes*, mesmo com relatos

ocasionais de infecções por *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri* e *L. ivanovii* (BARANCELLI *et al.*, 2011).

A *L. monocytogenes* é um microrganismo descrito como pequeno bastonete gram-positivo, não formador de esporos. São psicrotróficos, se multiplicam com crescimento ótimo entre 30-37°C, mas crescem em uma ampla faixa de temperatura (1-45°C), são catalase positivos, oxidase negativos e não produtores de ácido sulfídrico (LIMA e ARAÚJO, 2020). São bactérias anaeróbias facultativas e, por causa da presença de flagelos peritríquios, são móveis a 30°C, sobrevivem a uma variação de pH ampla (4,7-9,2), resistem à baixas temperaturas (-0,4 a 50°C), além de possuir atividade de água ótima >0,97. O solo é muito importante para sua resistência e transmissão para plantas e animais, devido sua característica de ser um microrganismo ubíquo, o que é muito favorável para a contaminação de alimentos (MOURA, 2018).

Este patógeno é caracterizado como intracelular facultativo de animais e humanos, e ele consegue atravessar a barreira intestinal, a barreira hematoencefálica e a barreira materno-fetal, sendo isto possível porque o microrganismo resiste à morte intracelular quando é fagocitada pelos macrófagos e possui a capacidade de invadir diversos tipos de células, geralmente não fagocitárias, e isto, através de muitos fatores de virulência produzidos pelo mesmo (ALHO, 2012).

Moura (2018) descreveu que existem 13 diferentes sorotipos de *L. monocytogenes*, mas apenas três (1/2a, 1/2b, 4b) têm sido frequentemente isolados em doenças humanas.

## **Mortadela**

Segundo Steffens *et al.* (2015), os produtos cárneos emulsionados, como as mortadelas, representam um significativo segmento da industrialização de carnes por serem bastante consumidos tanto dentro de casa como no mercado de alimentação rápida.

Obtida por meio de uma emulsão das carnes de animais de açougue, a mortadela é um produto cárneo industrializado que na sua formação são adicionados ingredientes, pode ser acrescentado toucinho ou não, é embutido em revestimento natural ou artificial, e passa por um tratamento térmico adequado (BRASIL, 2000).

Algo que pode ser notado ao observar a mortadela fatiada, é que este tipo de produto cárneo possui alto teor de lipídeos. E a gordura é considerada fonte de ácidos graxos essenciais, carreadora de vitaminas lipossolúveis e fonte de energia (YUNES, 2010).

O cozimento da mortadela tem por objetivo promover a coagulação das proteínas, a cor e a pasteurização, portanto, a qualidade final do produto depende de forma direta deste processo. Caso este processo seja conduzido de forma errada, com elevadas temperaturas, pode ocorrer má formação de gelatina e separação da gordura (STEFFENS *et al.*, 2015).

### **Principais DTA'S**

As doenças transmitidas por alimentos (DTA's) são de grande importância na saúde pública devido aos problemas que podem causar e são doenças de origem infecciosa ou tóxica, causadas pelo consumo de água ou alimentos contaminados (SILVA *et al.*, 2016).

Malacrida *et al.* (2017) evidenciaram que há somente uma pequena parcela de casos de DTAs registrados nos bancos oficiais dos sistemas da Vigilância Sanitária, algo que traz desafios para o estudo dessas doenças e que está relacionado ao problema de subnotificação.

Por se tratarem de doenças que causam sinais dos mais leves aos mais graves e por possuírem um potencial de propagação elevado, as DTA's são muito preocupantes para a saúde pública (SILVA e RIBEIRO, 2021). A listeriose é uma DTA que apesar de sua baixa ocorrência, segundo Dias *et al.* (2017), apresenta na maioria dos casos o condicionamento clínico de moderado a grave e uma elevada taxa de mortalidade, sendo considerada uma das doenças mais sérias entre as transmitidas por alimentos.

As bactérias são os agentes causadores de DTA mais frequentes, porém também existem outros agentes como parasitos, vírus, toxinas e substâncias tóxicas. A aparência dos alimentos contaminados por esses agentes geralmente é normal, como odor e sabor. As DTA's mais comuns são causadas por *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria* spp., *Shigella* spp., *Bacillus cereus* e *Clostridium perfringens* (MALACRIDA *et al.*, 2017).

### **Dados de produção de POA**

Segundo o IBGE (2020), o valor de produção dos principais produtos de origem animal no país alcançou R\$ 59,3 bilhões em 2019, apontando um aumento de 9,0% em relação ao ano de 2018. A produção de leite concentrou 72,8% de todo o valor de produção, o equivalente a R\$ 43,14 bilhões, seguida pela produção de ovos de galinha (25,6% ou R\$ 15,15 bilhões), mel (0,8% ou R\$ 493,7 milhões), ovos de codorna (0,6% ou R\$ 346,9 milhões), lã (0,1% ou R\$ 75,4 mil) e casulos de bicho da seda (0,1% ou R\$ 59 mil).

Para que se ofereça alimentos em quantidade e qualidade, faz-se necessário um acompanhamento deste produto desde o início de sua cadeia produtiva até a industrialização, envolvendo a transformação da matéria prima em alimento, seu armazenamento, transporte, comércio e consumo (GOMIDE *et al.*, 2006).

De acordo com Brasil (2019), o Serviço de Inspeção Federal (SIF) tem como responsabilidade assegurar o cumprimento das normas sanitárias e dos padrões de identidade e qualidade dos produtos de origem animal, comestíveis ou não, destinados aos mercados interno e externo.

A Inspeção de Produtos de Origem Animal no âmbito do Ministério da Agricultura é da competência do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – DIPOA, que é de responsabilidade da Secretaria de Defesa Agropecuária – SDA. Cabe ao DIPOA a coordenação, em nível nacional, da aplicação das leis, normas regulamentadas e critérios para a garantia da qualidade e a da segurança dos produtos de origem animal (BRASIL, 2021).

O Programa Nacional de Controle de Patógenos tem como objetivo reduzir a prevalência de agentes patogênicos nos produtos de origem animal fiscalizados pelo SIF, é responsável por avaliar as ações de controle adotadas pelos estabelecimentos e gerenciar os riscos com o intuito de preservar a segurança do alimento (BRASIL, 2020).

O controle oficial da *L. monocytogenes* foi instituído por meio da Instrução Normativa SDA/MAPA nº 9, de 8 de abril de 2009, com o objetivo de analisar a presença deste microrganismo em produtos de origem animal prontos para consumo. Sendo que os procedimentos oficiais de controle compreendem a colheita oficial de amostras e a inspeção do processo de produção dos produtos de origem animal prontos para o consumo e dos registros gerados (BRASIL, 2009).

A Instrução Normativa SDA/MAPA nº 9, de 8 de abril de 2009, também diz que se passarem por procedimento que assegure a destruição da *Listeria*

*monocytogenes*, aqueles produtos de origem animal prontos para o consumo que forem positivos para este patógeno podem ser reprocessados, e devem passar por uma análise microbiológica que garantam a ausência deste microrganismo. Caso não haja possibilidade de reprocesso ou o reprocessamento não assegure a eliminação da *L. monocytogenes*, os produtos devem ser inutilizados (BRASIL, 2009).

De acordo com a Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019, a cada 5 amostras (25g ou ml/amostra) de alimentos prontos para o consumo, todas elas devem apresentar valor menor que 100 microrganismos, e em um plano amostral de 10 amostras (25g ou ml/amostra) de alimentos prontos para o consumo, destinados a lactentes ou para fins especiais nenhuma pode ser positiva para *L. monocytogenes* (BRASIL, 2019).

### **Importância da higiene e inspeção de POA**

Nos últimos anos têm se tornado crescente a importância de garantir a qualidade e segurança alimentar, essa tem sido uma preocupação da população e dos líderes governamentais mundiais. Devido a vários erros causados durante o processo de produção e manipulação dos alimentos como, por exemplo, as contaminações que causam sérios danos à saúde do consumidor. Por essa razão houve a adoção de medidas de segurança aos alimentos por parte das indústrias e governos, com o intuito de minimizar os danos causados à saúde pública (DE AGUIAR FREIRE, 2020).

Segundo Santos *et al.* (2007), para se obter alimentos de qualidade é necessário que haja um acompanhamento desde a matéria-prima até sua industrialização. O Médico Veterinário responsável pela fiscalização é o inspetor sanitário e que tem a responsabilidade de decidir sobre o que é apropriado para consumo, além de condenar o que é impróprio, verificar as condições higiênico-sanitárias dos estabelecimentos e realizar um relatório final sobre os produtos inspecionados.

O médico Veterinário tem a responsabilidade de passar orientações adequadas ao produtor rural sobre manejo sanitário, tratamento e prevenção de doenças e boas práticas de higiene e manejo com a ordenha, para que a matéria prima chegue em boas condições na indústria (LEBLANC *et al.*, 2006; HOGVEEN, 2012).

Nas usinas e fábricas, o Médico Veterinário está relacionado ao cargo de Responsável Técnico (RT) e agente fiscal, podem ser de âmbito municipal, estadual ou federal. Na indústria ou posto de refrigeração deve-se manter a higiene das instalações, equipamentos e dos colaboradores, seguir os procedimentos operacionais padrão de higiene, processamento, estocagem e transporte do produto acabado até o comércio, além de evitar contaminação física, química e microbiológica dos produtos (SANTOS e CARVALHO, 2013).

É dever do RT fazer a empresa seguir as Boas Práticas de Fabricação (BPF), Procedimento Padrão de Higiene Operacional, Análise de Perigos e de Pontos Críticos de Controle da empresa e normas ambientais. É dever do fiscal realizar inspeção periódica para preservar a saúde do consumidor (SANTOS e CARVALHO, 2013). O não cumprimento dessas normas pode gerar multas e altos de infração e até mesmo o fechamento do estabelecimento (BRASIL, 1952; 1989).

### **Formas de contaminação de POA por *Listeria***

*Listeria* são amplamente distribuídas na natureza, estudos relatam que já foram isoladas em fezes humanas e de diversos animais também em diferentes tipos de solos, plantas e ambientes aquáticos, assim como em alimentos de origem animal e vegetal. As espécies são consumidas por meio de alimentos, bebidas (incluindo leite pasteurizado) e água, frequentemente em grandes quantidades (TROXLER *et al.*, 2000).

Além de ter a capacidade de poder contaminar diversos tipos de produtos advindos das indústrias de alimentos, como carnes cruas e processadas, leites e queijos e outros alimentos prontos para o consumo, em razão da sua capacidade de aderir em superfícies como aço inoxidável, polietileno e vidro, este é um microrganismo que pode permanecer por anos dentro da indústria, o que propicia a ocorrência de contaminação cruzada (SILVA e RIBEIRO, 2021).

Segundo LIMA e ARAÚJO (2020), condições sanitárias deficientes durante o abate dos animais, a falta de higiene no preparo dos produtos, o cozimento e armazenamento realizados de forma inadequada são alguns fatores que contribuem para que ocorra a contaminação de produtos cárneos por *L. monocytogenes*.

Moura (2018) relatou que a *L. monocytogenes* é formadora de biofilme, que são agrupamentos estruturados de bactérias aderidas umas às outras por meio de uma matriz extracelular, que é tida como estrutura fundamental do biofilme. A



formação do biofilme torna as bactérias mais resistentes aos materiais que são utilizados para a limpeza e sanitização, além de servir como proteção para mudanças ambientais como exposição à radiação ultravioleta, à ácidos e à dessecação.

O acúmulo de materiais orgânicos e inorgânicos em superfícies favorece o desenvolvimento de biofilme, que se aderem fortemente à superfície e partes deles podem se desprender, contaminando outras superfícies e alimentos (OLIVEIRA *et al.*, 2010). Além disso, a dificuldade em conter o foco de origem bacteriana é um problema quando se trata de eliminar a contaminação do ambiente de trabalho por esta espécie, pois matéria-prima crua de origem animal ou vegetal, utensílios provenientes de outro ambiente, equipamentos, plantas processadoras de alimentos, superfícies de trabalho podem ser contaminados por bactérias presentes em calçados e vestimentas dos trabalhadores (LIMA e ARAÚJO, 2020).

Já entre os produtos lácteos, é mais comum encontrar queijos de alta e média umidade contaminados por esta bactéria, o que é bastante preocupante devido aos longos períodos de armazenamento sob refrigeração destes produtos que serão consumidos sem aquecimento prévio (LIMA e ARAÚJO, 2020).

Como a maioria dos produtos prontos para consumo são tratados termicamente, há uma redução significativa ou eliminação de microrganismos e isto faz com que um alimento contaminado por *L. monocytogenes* posteriormente a estes tratamentos tenha sua multiplicação facilitada em temperaturas de refrigeração devido à falta de competidores. Além disto, o fato deste patógeno poder sobreviver por mais tempo em condições ambientais adversas, torna a sua eliminação muito mais difícil por todas as etapas desde a fabricação até a embalagem dos alimentos (DIDONET, 2018).

### **Aspectos da doença listeriose em seres humanos**

A listeriose pode se manifestar de duas formas distintas, e isto está diretamente ligado ao estado de saúde de cada pessoa, existe a forma invasiva e a não invasiva. Os sintomas gerais da doença são febre alta, tremores, dor de cabeça grave, rigidez no pescoço e náusea, e a forma não invasiva normalmente é uma gastroenterite febril, que manifesta sinais como de um resfriado (SILVA *et al.*, 2016).

Apesar da forma mais comum de contaminação por *L. monocytogenes* ser através da ingestão de alimentos que estão contaminados pela mesma, ela também

pode ser contraída pelas vias: ocular, cutânea, respiratória e urogenital. De qualquer forma, o trato gastrointestinal é a principal porta de entrada para o patógeno no hospedeiro, ele se adere à mucosa intestinal (DIDONET, 2018).

Segundo Barancelli *et al.* (2011), de modo geral, os indivíduos conseguem superar o ataque inicial e elimina a bactéria pelas fezes, porém o grande problema é que os indivíduos imunossuprimidos não conseguem reagir da mesma forma e acabam por desenvolver a forma invasiva da doença.

Um grande desafio em conseguir mensurar o real impacto que este patógeno possui sob a população é o fato de ser uma doença subnotificada no Brasil, principalmente devido ao fato de que os sintomas se assemelham com os de gripe ou diarreias e vômitos discretos, o que leva o paciente a não procurar um médico (MALACRIDA *et al.*, 2017).

Os grupos mais atingidos pela listeriose são as mulheres grávidas, fetos e neonatos (infecções perinatais e neonatais), indivíduos imunodeprimidos, idosos, pacientes com câncer, portadores do vírus HIV, pessoas com diabetes, cirrose, asma e colite ulcerativa (SILVA e RIBEIRO, 2021).

As manifestações clínicas da listeriose podem se apresentar em quadros de gastroenterites, septicemia em adultos (sendo baixo grau no período pré-natal), meningite, meningoencefalite, síndrome de mononucleoses, pneumonia, endocardites, abscessos localizados, lesões cutâneas papular ou pustular, conjuntivites, uretrites, sinais de gripe e outras afecções. Mesmo que o período de latência seja desconhecido para as formas graves, estima-se que seja entre poucos dias a três semanas (DIDONET, 2018). Segundo Dias *et al.* (2017), há relatos de ocorrência de quadros abortivos em gestantes, partos prematuros e natimortos, e de a septicemia ser muito comum em neonatos afetados pela infecção vertical.

## **METODOLOGIA**

### **Coleta de amostras**

Foram coletadas 4 amostras de mortadela fatiada de diferentes marcas, classificadas em A, B, C, D em um supermercado da região da Zona da Mata Mineira. As amostras de mortadelas foram armazenadas em caixa de isopor até o laboratório de microbiologia do Hospital Veterinário da Faculdade Vértice – Univértix, localizado na cidade de Matipó onde foi realizado o experimento.

### **Primeiro enriquecimento seletivo**

Foi acrescentado à alíquota de 25 gramas da amostra em 225 ml de caldo *Listeria* Enrichment Broth base (Oxoid), adicionado de seu suplemento *Listeria* selective enrichment supplement (Oxoid). Homogeneizados e incubados a 30°C ± 1°C por 24 horas.

### **Segundo enriquecimento seletivo**

A seguir realizou-se o enriquecimento seletivo secundário, transferindo-se 0,1 ml do caldo *Listeria* Enrichment Broth (Oxoid) para tubos contendo 10 ml de caldo Half Fraser (Oxoid), incubados a 30°C por 48 horas.

### **Isolamento**

Tanto do enriquecimento seletivo primário como do enriquecimento seletivo secundário, foi retirado uma alíquota de 0,1 ml e semeados por espalhamento em superfície, com auxílio da alça de Drigalsky em *Listeria* Selective Agar Base (Oxford formulation – Oxoid) com o suplemento *Listeria* selective supplement (Oxford formulation - Oxoid), sendo as placas incubadas a 35°C por 48 horas.

### **Prova da catalase**

Com auxílio de alça de platina foi retirada uma alíquota do cultivo *Listeria* Selective Agar Base (Oxford formulation - Oxoid) depositada em uma lâmina de microscopia. Em seguida adicionado 1 gota de peróxido de hidrogênio a 3%. Das culturas catalase positivas, foi realizado um esfregaço para coloração de Gram.

### **Coloração de Gram**

Foram feitos esfregaços em lâminas de microscopia, posteriormente coradas e analisadas no microscópio para pesquisa de *Listeria* spp., que se apresenta na forma de bastonete curto ou cocobacilo Gram positivo.

### **Vermelho de Metila**

Com o auxílio de uma alça de platina, foi retirado uma amostra do meio *Listeria* Selective Agar Base (Oxford formulation - Oxoid) e adicionado à 10 ml do meio MR-VP (Metil Red Vogues-Proskauer) e encubado a 37° C durante 5 dias.

Após esse período foi retirado 2 ml desse meio adicionado a outro tubo e acrescentado 5 gotas de Vermelho de Metila, sendo a coloração amarela negativo e vermelho positivo.

### Análise de Dados

De acordo com os resultados obtidos através do experimento, foi feita uma análise descritiva com as reações que cada amostra apresentou perante os testes realizados.

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

Verificou-se que as 4 amostras de mortadela fatiada analisadas apresentaram resultado positivo para *Listeria* spp. e presuntivamente positivo para *L. monocytogenes* (TABELA 1). Vinte e quatro horas após a inoculação do segundo enriquecimento seletivo representado na Tabela 1 como D2, o meio antes observado em coloração amarela, passou a apresentar uma coloração mais escura, em tom de café.

**Tabela 1:** Interpretação de resultados dos testes realizados para confirmação de *Listeria* spp.

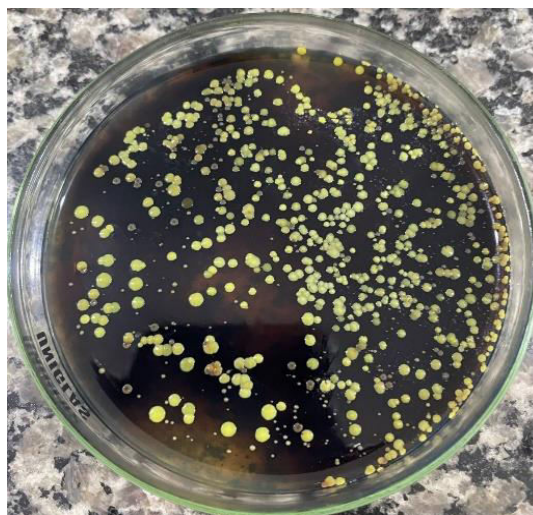
Amostra	Enriquecimento seletivo	Isolamento	Catalase	Coloração de Gram	Vermelho de Metila
D1/A	—	Colônias verde-oliva com halo preto (+)	Positivo	Bastonete curto/cocobacilo Gram +	Positivo
D1/B	—	Colônias verde-oliva com halo preto (+)	Positivo	Bastonete curto/cocobacilo Gram +	Positivo
D1/C	—	Colônias verde-oliva com halo preto (+)	Positivo	Bastonete curto/cocobacilo Gram +	Positivo
D1/D	—	Colônias verde-oliva com halo preto (+)	Positivo	Bastonete curto/cocobacilo Gram +	Positivo
D2/A	Coloração em tom café (+)	Colônias verde-oliva com halo preto (+)	Positivo	Bastonete curto/cocobacilo Gram +	Positivo
D2/B	Coloração em tom café (+)	Colônias verde-oliva com halo preto (+)	Positivo	Bastonete curto/cocobacilo Gram +	Positivo
D2/C	Coloração em tom café (+)	Colônias verde-oliva com halo preto (+)	Positivo	Bastonete curto/cocobacilo Gram +	Positivo
D2/D	Coloração em tom café (+)	Colônias verde-oliva com halo preto (+)	Positivo	Bastonete curto/cocobacilo Gram +	Positivo

Fonte: Elaborado pelos autores

**D1= primeiro enriquecimento seletivo**

## D2= segundo enriquecimento seletivo

Na etapa de isolamento, usando o meio *Listeria* selective agar base (Oxford), em D1 e D2 após 24 horas de incubação, foi possível observar a formação de colônias verde-oliva cercadas por um halo preto (FIGURA 1). Após 48 horas, elas se tornaram mais escuras com um centro preto recortado e circundado por áreas pretas.



**Figura 1:** Colônias típicas de *Listeria* spp., verde-oliva com formação de halo preto ao redor.

Fonte: elaborado pelos autores.

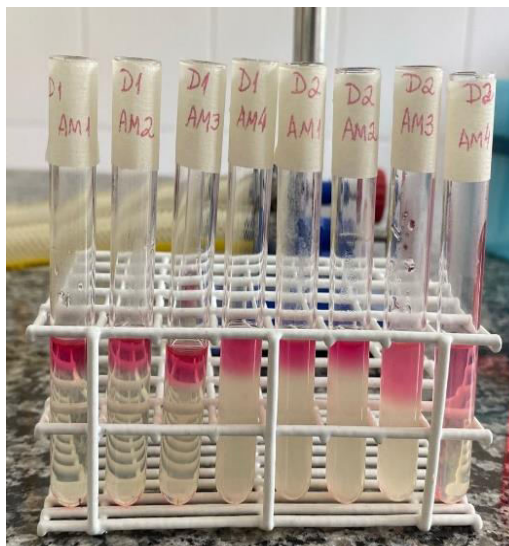
A presença de catalase se traduz por desprendimento de borbulhas de oxigênio, que foi observado em todas as colônias cultivadas no isolamento e demonstrou que são catalase positiva. Notou-se na coloração de Gram a presença de cocobacilos e bastonetes curtos Gram positivos (FIGURA 2).



**Figura 2:** Lâminas com borbulhas de oxigênio desprendidas.

Fonte: elaborada pelos autores.

O teste Vermelho de Metila, último realizado para confirmação de contaminação por *Listeria* spp., se mostrou positivo indicando que são bactérias produtoras de ácido e comprovando os resultados anteriores de que todas amostras estavam contaminadas (FIGURA 3).



**Figura 3:** Teste Vermelho de Metila positivo, apresentando coloração avermelhada.

Fonte: elaborada pelos autores.

Apesar do meio *Listeria* Selective Agar Base (Oxford formulation - Oxoid) utilizado na etapa de isolamento ser sugestivo para *L. monocytogenes*, seria necessário a realização de um teste sorológico ou bioquímico confirmatório para afirmar que o resultado foi realmente positivo para este patógeno.

Em um estudo realizado por Nalério *et al.* (2009) em frangos na região do Rio Grande do Sul, a prevalência de *Listeria* spp. foi de 38,3% (93/243) das amostras utilizadas no estudo. Outro estudo realizado no município de São Paulo por Bersot (2000) em mortadela, 37,6% (11/30) das amostras obtidas foram positivas para *Listeria* spp.

Em um estudo realizado por Cesar (2008) em salsichas na cidade de Goiana, 63,3% (19/30) das amostras apresentaram resultado positivo para *Listeria* spp. Já Novaes *et al.* (2014) realizou um estudo em Nitérois utilizando carpaccio e obteve resultado no experimento A de 20% (6/30) das amostras apresentaram resultado positivo para *Listeria* spp. e no experimento B 35% (7/20) das amostras testaram positivo para listeria. Segundo estudo realizado por Gomes *et al.* (2019) 35,7% (5/14) das amostras de mortadela estavam contaminadas com *Listeria* spp. e 7,1% (1/14) com *L. monocytogenes*.

Conforme observadas, as diferentes pesquisas realizadas com *L. monocytogenes* em produtos de origem animal e os resultados terem apresentado valores bastante variados quando comparados aos encontrados no presente estudo, Bersot (2000) indica que esses resultados podem variar de acordo com as condições de produção, a manipulação do produto após seu processamento assim como também a sensibilidade de detecção abordada por cada autor.

O perigo de uma contaminação biológica pode decorrer de falhas durante as etapas de recebimento e estocagem tanto de matérias-primas, insumos e embalagens, manipulação inadequada, contaminação cruzada, equipamentos e ambientes inadequados por descumprimento de normas estabelecidas pelo órgão de fiscalização (BARRETO *et al.*, 2016).

A presença de *L. monocytogenes* em produtos cárneos cozidos é provavelmente resultado de contaminação cruzada no processamento, que pode ocorrer durante o manuseio adicional, como fatiar e reembalar. Estudos apontam um maior índice de contaminação em alimentos fatiados, possivelmente devido à manipulação inadequada dos produtos durante o fatiamento ou até mesmo o próprio fatiador (LIMA, 2020). Segundo Bersot (2000), nos alimentos termo processados essas variações também podem se dar por resistência no tratamento térmico inicial.

## CONCLUSÃO

De acordo com os dados obtidos nesse trabalho, pode-se concluir que foram encontrados altos índices de contaminação por *Listeria* spp. nas amostras analisadas. Conclui-se que a indústria de alimentos ainda apresenta falhas no controle deste patógeno e é necessário que haja melhorias nas condições de produção, manipulação do produto após seu processamento e armazenamento.

## REFERÊNCIAS

ALHO, M. P. **Caracterização molecular, susceptibilidade a antibióticos e pesquisa de factores de virulência em *Listeria* spp. de alimentos e superfícies.** Orientadora: Dra. Teresa Maria Leitão Semedo Lemsaddek e Profa. Dra. Lélia Mariana Marcão Chambel, 2012. 54 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) – Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2012.

BARANCELLI, G. V.; SILVA-CRUZ, J. V.; PORTO, E.; OLIVEIRA, C. A. F. *Listeria monocytogenes*: ocorrência em produtos lácteos e suas implicações em saúde pública. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 78, n.1, p. 155-168, jan./mar., 2011.

BARRETO E. H; STOCCO C. W; ALMEIDA L.; NASCIMENTO F. R. BITTENCOURT M. V. J. Parâmetros de qualidade no processamento de mortadelas. **Revista Espacios**. v. 38 n. 24 p. 2, 2017. Acessado 10 novembro 2021. Disponível em: <<http://www.revistaespacios.com/a17v38n24/a17v38n24p02.pdf>. 2017>.

BERSOT L. S. **Frequência de *Listeria monocytogenes* em mortadelas e comportamento durante o processo industrial de estocagem**. Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Tereza Destro, 2000. 79 f. Dissertação (Mestrado em ciência e Tecnologia dos Alimentos), Universidade de São Paulo ciências farmacêuticas. São Paulo, maio 2000.

BRASIL. Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989. Dispõe sobre inspeção sanitária e industrial dos produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**, Presidência da República, Brasília, DF, 24 dez. 1989.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Anuário dos Programas de Controle de Alimentos de Origem Animal do DIPOA**, vol. 6, 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/anuario-dos-programas-de-controle-de-alimentos-de-origem-animal-do-dipoa/anuario-dos-programas-de-controle-de-alimentos-de-origem-animal-volume-6.pdf>>. Acessado em: 30 de jun. 2021.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 4 de 31 de março de 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha. **Diário Oficial da União**, Brasília, 5 de abril de 2000, Seção 1.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 60 de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos prontos para oferta ao consumidor. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 de dezembro de 2019, Seção 1.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 9 de 8 de abril de 2009. Instituir os Procedimentos de Controle da *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para o consumo. **Diário Oficial da União**, Brasília, 9 de abril de 2009, Seção 1.

BRASIL. Presidência da República. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952. Dispõe sobre o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA. Brasília: SDA, 1952. p.124.

CESAR R. P. A. ***Listeria spp.* e *Listeria monocytogenes* na produção de salsichas tipo hot dog e hábitos de consumo**. Orientador: Dr. Cristiano Sales Prado, 2008.108 f. Dissertação (Mestrado em ciências animais), Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, dez. 2008.

CONHEÇA O DIPOA. **Site do governo federal**, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/conheca-o-dipoa>. Acesso em: 30 de junho de 2021.



DIAS, V. H. C.; MALACRIDA, A. M.; KOVACS, T. A. S. LISTERIOSE E SUAS IMPLICAÇÕES NO CONTEXTO DA SAÚDE PÚBLICA. **Revista De Ciência Veterinária E Saúde Pública**, Maringá, v. 4, p. 173-177, maio 2017.

DIDONET, F. P. **Estudo sobre a utilização de saneantes na indústria alimentícia para controle de *Listeria monocytogenes***. Orientadora: Fernanda da Cunha Pereira, 2018. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Engenharia Química – Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2018.

FREIRE, C. E. C. A.; SHECAIRA, C. L. A importância da rastreabilidade dos alimentos de origem animal frente aos surtos alimentares: Revisão. **PUBVET**, Maringá, v. 14, n. 11, p. 01-08, nov. 2020.

GOMES, D. R.; HARTGERS, L. V.; MARINI, T.; MARQUEZINI, M. G.; BROMBERG, R. Ocorrência de *Listeria* spp., *L. monocytogenes* e clostrídios sulfito redutores em produtos cárneos cozidos e curados. **Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC**, v. 13, p. 1-12, jul. 2019. Acessado 10 novembro 2021. Disponível em: [http://www.ciic.net.br/resumos\\_2019/ITAL/RE19214\\_Renata%20Bromberg.pdf](http://www.ciic.net.br/resumos_2019/ITAL/RE19214_Renata%20Bromberg.pdf)

GOMIDE L. A. M.; RAMOS E. M.; FONTES P. R. **Tecnologia de Abate e Tipificação de Carcaças**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2014.

HOGVEEN, H. The perception of veterinary herd health management by Dutch dairy farmers and its current status in the Netherlands: A survey. **Preventive Veterinary Medicine**, v.104, n.3-4, p.207-215, 2012.

LEBLANC, S. J.; LISSEMORE, K. D.; KELTON, D. F.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E. Major advances in disease prevention in dairy cattle. **Journal of Dairy Science** [s.l.], v.89, p.1267- 1279, 2006.

LIMA, I. C. B.; ARAÚJO, L. R. S. a importância da *Listeria monocytogenes* NA indústria alimentícia. **Fundamentos e Atualidades em Tecnologia e Inspeção de Alimentos**, Fortaleza, v. 1, p. 5-14, 2020.

MALACRIDA, A. M.; DIAS, V. H. C.; LIMA, C. L. perfil epidemiológico das doenças bacterianas transmitidas por alimentos no Brasil. **Revista De Ciência Veterinária E Saúde Pública**, Maringá, v. 4, p. 158-162, maio 2017.

MATHEUS, T. L.; ROCHA, H.; MAIA, R. L.; TEXEIRA, P. *Listeria* e *Listeria monocytogenes* em alimentos. **Revista TecnoAlimentar**, Porto, n. 12, p. 56-59, 2017.

MOURA, F. M. L. **formação de biofilme e perfil de resistência a antimicrobianos e sanitizantes de *Listeria monocytogenes* isoladas de leite de tanques de expansão**. Orientadora: Profa. Dra. Elizabeth Sampaio de Medeiros, 2018. 85 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal Tropical) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2018.

NALÉRIO, S. E; ARAÚJO, R. M; MENDONÇA, K. S.; BASSANI, T. M.; SILVA, W. P; *Listeria monocytogenes*: monitoramento desse perigo biológico na cadeia produtiva de frangos do sul do Rio Grande do Sul. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 29, n. 3, p. 626-630, nov. 2009.

NOVAES, S. F.; ALVES, V. O.; LANZARIN, M.; RITTER, D. O.; FRANCO, R. M. *Listeria* spp. em carpaccio de carne e perfil de resistência aos agentes antimicrobianos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 81, n.4, p. 309-314, 2014.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; PICCOLI, R. H. Biofilmes microbianos na indústria de alimentos: uma revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.3, p.277-284, 2010.

PALMA, J. M. *et al.* Molecular characterization of *Listeria monocytogenes* from beef samples and cattle slaughterhouses located in the Federal District, Brazil. **Revista Brasileira de Pesquisa Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 10, p. 957-964, oct. 2017.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. PPM 2019: após dois anos de queda, rebanho bovino cresce 0,4%, **Agência IBGE notícias**, 2020. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=noticias-e-releases>. Acesso em 30 de junho de 2021.

RODRIGUES, C. S.; DE SÁ, C. V. G. C.; DE MELO, C. B. An overview of *Listeria monocytogenes* contamination in ready to eat meat, dairy and fishery foods. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, Santa Maria, v. 47, n. 2, p. 01-08, 2017.

SANTOS, L. M. *et al.* Importância do médico veterinário na produção de alimento de origem animal, para a sociedade: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Uberlândia, v. 4, n. 8, p. 1-4, jan. 2007.

SANTOS, T. S.; CARVALHO, D. A. Atuação e importância do médico veterinário na cadeia produtiva do leite. **Revista veterinária em foco**, São Paulo, v. 10, n. 2, 2013.

SILVA, F. R. G.; RIBEIRO, L. F. *Listeria monocytogenes* e sua importância na indústria de alimentos. **Revista GETEC**, Monte Carmelo, v. 10, n. 28, p. 75-83, 2021.

SILVA, H. R.; GIANOGLU, F. M.; CAMPOS, M. F.; GRACIANO, E. M. A.; TOLEDO, R. C. C. Listeriose: uma doença de origem alimentar pouco conhecida no Brasil. **Higiene Alimentar**, Ituiutaba, v. 30, n. 262/263, p. 17-20, 2016.

STEFFENS, C.; ORSOLIN, D.; ROSA, C. D.; STEFFENS, J. Reduction of mortadella cooking time and evaluation of the final product quality. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 16, n. 4, p. 589-597, out./dez. 2015.

TROXLER, R.; VON GRAEVENITZ, A.; FUNKE, G.; WIEDEMANN, B.; STOCK, I. Natural antibiotic susceptibility of *Listeria* species: *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L.*

monocytogenes, L. seeligeri and L. welshimeri strains. **Clinical Microbiology and Infection** [s.l.], v. 6, n.10, p. 525-535, out. 2000.

VINHA, M. B.; PINTO, C. L. O.; VANETTI, M. C. D.; CHAVES, J. B. P. *Listeria* spp. em queijos Minas Frescal e avaliação das condições higiênicossanitárias de produção e comercialização em Viçosa, MG, Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 78, p. 146-152, 2019.

YUNES, J. F. F. **Avaliação dos efeitos da adição de óleos vegetais como substitutos de gordura animal em mortadela**. Orientador: Prof. Nelcindo Nascimento Terra, 2010. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

# **PESQUISA DE *Listeria monocytogenes* EM MUÇARELA COMERCIALIZADA EM MATIPÓ, MG**

**Acadêmicas:** Amanda da Silva Silveira e Emily Moreira Tavares

**Orientador:** Leandro Silva de Araújo

## **RESUMO**

O queijo muçarela é um dos produtos derivados do leite amplamente comercializados no Brasil, e podem servir de fonte de contaminação de *Listeria monocytogenes*. Esta bactéria é causadora da listeriose, uma doença grave que afeta principalmente gestantes, neonatos, idosos e imunodeprimidos. O objetivo deste trabalho foi verificar a presença de *L. monocytogenes* em amostras de queijo muçarela fatiado, adquiridas no comércio varejista de Matipó (MG). Foram analisadas 6 amostras do produto no Laboratório de Pesquisa da Faculdade Univértix, para a pesquisa da presença do agente. Foi observado que todas as amostras (100%) apresentaram crescimento presuntivo positivo para *L. monocytogenes*. Os resultados evidenciam a necessidade de maior monitoramento desses produtos, além da adoção de medidas higiênico-sanitárias ao longo do processamento por parte das indústrias.

**Palavras-chave:** *Listeria monocytogenes*, listeriose, queijo muçarela.

## **INTRODUÇÃO**

Segundo o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento “O queijo é um produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes” (BRASIL, 1996).

Dentre as variedades de queijos, a muçarela é o tipo de maior produção no Brasil, devido seu consumo amplamente difundido, principalmente na culinária, graças às suas possibilidades de fatiamento e derretimento fácil (REGINATO, 2019). A muçarela é um queijo famoso mundialmente, com um sabor suave e de massa macia, é composto por 46 a 49% de umidade. A maior fabricação encontra-se principalmente no sul da Itália. Antes era feito somente com leite de búfala, mas com o passar do tempo foi-se usando também o leite de vaca. (GONÇALVES, 2017).

Para a efetiva fabricação industrial do queijo, o leite deve ser pasteurizado com o objetivo de eliminar os microrganismos patogênicos em atendimento a legislação vigente. No entanto, é observado falhas no processo de obtenção da matéria-prima, na fabricação, na conservação ou na distribuição podendo acarretar em contaminação do produto, com possibilidade de ocasionar intoxicações e toxinfecções de origem alimentar (SILVA, 2017).

Os patógenos presentes nos alimentos são microrganismos capazes de infectar os seres humanos pelo consumo de alimentos, como carnes, peixes defumados, saladas, leite e produtos derivados não pasteurizados nomeadamente queijos de pasta mole e águas contaminadas, provocando diversos sintomas diferentes (náuseas, vômitos, diarréia, mal-estar, febre e dores abdominais) que em alguns casos podem evoluir e originar sequelas mais graves, por vezes fatais (GONÇALVES, 2017).

A listeriose é um distúrbio causado pela ingestão de alimentos contaminados por *Listeria monocytogenes* e que é particularmente grave em indivíduos imunodeprimidos (MATEUS, 2018). Esta espécie pode originar quadros clínicos de septicemia, gastroenterite, meningite e encefalite. Os grupos de maior risco incluem crianças, indivíduos imunodeprimidos, grávidas e idosos (GONÇALVES, 2017).

O controle de qualidade dos alimentos, como o queijo, é atualmente bastante divulgado e se mostra necessário, pois, com a infinidade de infecções provocadas pela má manipulação dos alimentos é indispensável que se pense e se discuta a respeito (SILVA *et al*, 2017). Portanto, o objetivo deste trabalho foi fazer a uma pesquisa da presença de *Listeria monocytogenes* em queijos muçarela fatiados em comércios no município de Matipó, MG.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **QUEIJO MUÇARELA**

Segundo a PORTARIA N ° 364, DE 04 DE SETEMBRO DE 1997, entende-se por queijo muçarela o queijo que se obtém por filagem de uma massa acidificada, (produto intermediário obtido por coagulação de leite por meio de coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas), complementada ou não pela ação de bactérias lácticas específicas (BRASIL, 1997).

Entre os derivados do leite, o queijo é um dos produtos que mais tem destaque no mercado, marcado pela sua alta demanda de consumo. É um

concentrado proteico-gorduroso, cuja obtenção é feita mediante a coagulação do leite e a posterior retirada do soro (FILHO, 2011).

Apesar da produção do queijo do tipo muçarela incluir etapas que contribuem para redução da carga microbiana (pasteurização, preparo do leite para coagulação, tratamento da massa, agitação e cozimento da massa, filagem, enformagem e resfriamento, salga, embalagem e armazenamento), posteriormente, o mesmo sofre intensa manipulação até a etapa final de produção, que se não for realizada mediante boas práticas de fabricação e higiene favorece a sua contaminação (REGINATO, 2019).

O leite constitui uma excelente fonte de nutrientes para as bactérias que o contaminam, dessa forma os queijos podem conter microrganismos desejáveis e indesejáveis. Os desejáveis irão fornecer características ao produto, como sabor e aroma e envolve o grupo de microrganismos iniciadores, composto por bactérias ácido-lácticas dos gêneros *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, também o grupo de microrganismos secundários (RESENDE, 2010).

Os microrganismos desejáveis utilizam a lactose como fonte de energia produzindo ácido láctico. Quando uma quantidade suficiente de ácido é produzida, a principal proteína do leite, caseína, coagula no seu ponto isoelétrico (pH 4,6), dando origem a um gel que prende a gordura do leite e a fase aquosa, por isso a qualidade do leite para processamento de queijos influencia diretamente no produto final. Contudo, é necessário que haja um controle sobre a matéria-prima a fim de garantir a qualidade dos produtos ao consumidor (LEMBI, 2020).

Segundo Resende (2010), a microbiota secundária desempenha papel significativo na fase de maturação de queijos. Esse grupo inclui as não iniciadoras, como espécies mesofílicas dos gêneros *Pediococcus* e *Lactobacillus*, e outros microrganismos, como o *Micrococcus*, *Brevibacterium*, bactérias propiônicas, bactérias corineformes, bolores e leveduras. Alguns patogênicos e deteriorantes, que além de desempenhar um efeito negativo na qualidade sensorial do queijo, em alguns casos estes contaminantes podem provocar doenças (PEREIRA, 2006).

Uma das principais fontes de contaminação do queijo é o leite, que pode apresentar patógenos oriundos de diversos meios como os animais, os manipuladores e equipamentos. As práticas higiênicas insatisfatórias durante a ordenha, a estocagem, o transporte e o processamento do produto também estão diretamente relacionados com as fontes de contaminação.

## **DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS**

A alimentação possui requisitos básicos para a proteção e promoção da saúde, propiciando assim um potencial de qualidade de vida para cada indivíduo (MARTINS, 2010). Contudo, os alimentos podem sofrer contaminações ao longo das etapas de elaboração, facilitando o desenvolvimento de enfermidades de origem alimentar (FLORES & MELO, 2015).

As síndromes, provenientes da ingestão de alimentos contaminados são conhecidas como Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA). Existem cerca de 250 tipos de doenças alimentares, que são responsáveis por causar problemas de saúde pública, como também perdas econômicas (OLIVEIRA *et al.*, 2005). O desenvolvimento de sinais e sintomas entéricos é uma de suas principais características, podendo resultar em surtos de variadas proporções (DIAS *et al.*, 2011).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) as doenças transmitidas por alimentos são aquelas de natureza infecciosa ou tóxica causadas pela ingestão de alimentos ou água contaminados por agentes biológicos, químicos e físicos, representando um sério risco à saúde (BRASIL, 2010).

Entre os meios de contaminação, o contato das mãos do manipulador com o alimento é muito importante para a ocorrência. Outrossim, a preparação dos alimentos com antecedência ou em grandes quantidades, exposição prolongada à temperatura ambiente e o descongelamento inadequado, induzem a proliferação dos agentes. O aquecimento ou reaquecimento insuficientes podem ainda cooperar com a sobrevivência dos patógenos (OLIVEIRA, 2005; SIRTOLI & CAMARELLA, 2018).

A contaminação dos alimentos pode ocorrer através de perigos químicos e físicos, como também por agentes biológicos (SILVA *et al.*, 2010). Dentre os contaminantes de natureza química estão os metais pesados, agrotóxicos, antibióticos e toxinas de animais ou plantas, os contaminantes físicos podem ser pedaços de vidro ou fragmentos metálicos e a contaminação de natureza biológica, apontada como a mais importante para a saúde pública, é atribuída às bactérias, vírus, fungos e parasitas (BRASIL, 2010).

As DTA's se manifestam através de 3 formas. Toxinfecção, que procede da ingestão de alimentos contaminados com microrganismos patogênicos, na qual produzem ou liberam toxinas após serem ingeridos (MALACRIDA *et al.*, 2017).

Infecção, resultante da ingestão e posterior multiplicação do patógeno no intestino, com invasão da mucosa ou penetração de tecidos (GONÇALVES *et al.*, 2017). Intoxicação, provocada pela ingestão de toxinas microbianas produzidas no decorrer de sua multiplicação nos alimentos (PIZZOLITO *et al.*, 2007).

As DTA's podem apresentar-se de forma branda, desde indisposições momentâneas à situações mais graves com necessidade de cuidados hospitalares, e até mesmo vir a ser fatal (MARTINS, 2010). Os sintomas mais presentes são náuseas, vômitos e diarreias, com a presença ou não de febre (BRASIL, 2010). Além dos sintomas digestivos, pode afetar meninges, rins, fígado, sistema nervoso central, terminações nervosas periféricas, dependendo do agente envolvido (MALACRIDA *et al.*, 2017).

As bactérias fazem parte do grupo microbiano que apresenta maior incidência, com ampla diversidade e virulência, sendo muito importante diante de sua capacidade de provocar danos à saúde humana (SILVA *et al.*, 2017).

### ***Listeria sp.***

Bactérias deste gênero são bastonetes Gram positivos pequenos, com extremidades arredondadas, anaeróbios facultativos, móveis, não esporulados, com 0,5 µm de diâmetro e 1 a 2 µm de comprimento, em média. Suas células podem ser vistas isoladas ou em cadeias pequenas em forma de Y ou V (CAURIO, 2020).

Atualmente são estudadas 10 espécies: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. grayi* e *L. ivanovii* e mais recentemente *L. marthii*, *L. rocourtiae*, *L. fleischmannii*, e *L. weihenstephanensis*, sendo que os casos de infecção em humanos e quase exclusivamente causados pela espécie *L. monocytogenes* (CAURIO, 2020).

Dentre as espécies de listéria, a *L. monocytogenes* é o patógeno de importância para os humanos. É capaz de se multiplicar em intervalos de temperatura entre 2,5°C e 44°C, em concentrações entre 10,5% e 30,5% de NaCl. Portanto, é capaz de se multiplicar em temperaturas de refrigeração, sendo o intervalo de pH ótimo de 6 a 8, mas essa espécie pode crescer entre 5 e 9. O fator de virulência mais significativo associado com *L. monocytogenes* é a listeriolisina O (JAY, 2005).



*L. monocytogenes* é um patógeno intracelular facultativo, bastonete, gram-positivo que sobrevive e se prolifera em macrófagos, enterócitos e outras células. A bactéria é móvel devido à presença de flagelos, sendo este um ponto importante para a sua virulência, porém não formadora de esporos, e tem a capacidade de crescer em temperaturas entre 0 a 42 °C, sendo que em temperaturas abaixo de 20°C o crescimento é lento (PIETRA, 2010).

Os alimentos contaminados são as maiores fontes de transmissão do microrganismo, sendo assim, o trato gastrointestinal (TGI) é o principal ponto de entrada do patógeno e foco de colonização. No TGI, o microrganismo sobrevive às condições como a acidez estomacal, a alta osmolaridade e a presença de sais biliares no intestino delgado. Diversos fatores cooperam para a colonização por *L. monocytogenes* no hospedeiro: a ausência de células natural killers e linfócitos T do sistema imune intestinal, falha na integridade do epitélio intestinal e a carga microbiana presente no alimento contaminado. A *L. monocytogenes* pode se manifestar através de duas formas clínicas: infecção não invasiva limitada ao intestino e infecção invasiva localizada ou sistêmica (CRUZ, MARTINEZ & DESTRO, 2008).

Este patógeno é extremamente resistente às condições ambientais adversas e podem sobreviver por anos no solo, material fecal, água e alimento contaminado. Pode ser encontrada em uma grande variedade de alimentos, tanto crus como processados, como: leite e queijos, carnes e seus produtos, vegetais frescos, salsichas de carne crua fermentada, frutos do mar e produtos de pescado. *L. monocytogenes* é responsável por infecções oportunistas afetando indivíduos imunodeprimidos, incluindo mulheres grávidas, recém-nascidos e idosos (PONTAROLO, 2014).

De acordo com sua natureza ubíqua frequentemente contamina produtos crus, e através de contaminação cruzada pode infectar outros alimentos. Os produtos de laticínios são os mais envolvidos na transmissão de *L. monocytogenes*, devido ao leite cru ser contaminado, mesmo com o processo de pasteurização não é possível eliminar todo o risco de contaminação, sendo que algumas linhagens de *L. monocytogenes* podem residir por meses e até anos em indústrias de alimentos (GUIMARÃES, 2017).

Desta forma, os queijos são excelentes substratos para o crescimento do microrganismo, pois apresentam média e alta umidade, o que significa um teor de

água livre maior no alimento. Logo, são produtos susceptíveis aos fenômenos bioquímicos e microbiológicos que afetam as suas características de qualidade, rendimento e durabilidade apresentando uma vida de prateleira curta, mesmo sob condições adequadas de refrigeração (NALDINI, 2002).

Durante a fabricação de queijos, o leite cru pode ser uma fonte de introdução de *L. monocytogenes*, e uma vez infectado, a presença da bactéria é preocupante, pois são produtos armazenados sob refrigeração, o que pode favorecer a multiplicação das mesmas, além disso são consumidos sem aquecimento prévio, como o queijo tipo muçarela (GUIMARÃES, 2017).

## **LISTERIOSE**

A ocorrência de listeriose associada ao consumo de alimentos contaminados foi demonstrada pela primeira vez num surto ocorrido em províncias marítimas do Canadá em 1981, relacionado com o consumo de vegetais contaminados (SILVA, 2018).

No que diz respeito às listerioses transmitidas por produtos lácteos, um dos mais antigos acontecimentos ocorreu na Alemanha, na década de 1950, associado ao leite cru (SEELIGER, 1961), e em 1983 em Massachusetts, associado ao leite pasteurizado contaminado que afetou 49 pessoas, causando 14 mortes (FLEMMING, 1985).

No Brasil a *L. monocytogenes* na espécie humana provoca graves infecções, mas até o momento a notificação de casos não é compulsória no país, o que nos reflete a falta de dados que possibilita um grande problema. Os registros mais graves incluem 3 casos de meningite no Distrito Federal (HOFER, *et al.*, 1998) 5 casos de bebês com meningite em São Paulo (LANDGRAF, *et al.*, 1999), pacientes transplantados renais, (HOFER, *et al.*, 1999) casos de pneumonia (DE SÁ, *et al.*, 2004) e peritonite bacteriana em idosos portadores de cirrose (TOYOSHIMA, *et al.*, 2006).

Estima-se que a dose infecciosa da doença varia entre  $10^4 - 10^5$  UFC  $g^{-1}$  de alimento ingerido, podendo ser inferior ( $0.3$  UFC  $g^{-1}$ ) para o caso de indivíduos pertencentes a grupos de risco (SILVA, 2018).

Na fase inicial os sintomas são semelhantes àqueles em outras gastroenterites de origem alimentar (listeriose não invasiva). Porém a capacidade para atravessar barreiras fisiológicas como a placenta, o intestino e a barreira

hematoencefálica aumenta a severidade da doença (listeriose invasiva). O período de incubação da doença pode ser longo, estando descrito na literatura por diferentes autores, um período médio de 8 dias para a listeriose invasiva, mas podendo variar de 1 a 67 dias (GONÇALVES, 2017).

A listeriose, apesar de rara, é considerada de grande importância para a saúde pública, devido à seriedade dos agravos que pode causar aos seres humanos. Na Europa ela é a segunda maior causa de óbitos, resultantes das Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs), ficando atrás somente da salmonelose (REGINATO, 2019). A listeriose apresenta um período longo de incubação, podendo chegar até 30 dias, o que dificulta a identificação do agente causador (BARANCELLI, 2010).

A contaminação se dá após a penetração e multiplicação nos enterócitos, onde a bactéria é fagocitada pelos macrófago, envolvendo-a num vacúolo. A expressão de Listeriolisina O (LLO) pela bactéria, possibilita o rompimento do vacúolo sendo este um dos fatores mais importantes de virulência da bactéria. No citoplasma começam a se multiplicar e infectar outras células contíguas, através da ação de uma proteína sintetizada pelo gene *actA*, que promove a polimerização dos filamentos de actina da célula do hospedeiro, formando caudas em uma das extremidades da célula, dessa forma a bactéria se movimenta, possibilitando o seu deslocamento no citoplasma (CRUZ, 2018).

A bactéria é ainda capaz de atravessar a barreira placentária, causando infecções no feto levando até ao aborto, ou infecções como meningite, encefalite, septicemia neonatal (PARIDA, *et al.*, 1998). A principal defesa do organismo contra a listeriose é a imunidade mediada por células, assim pessoas que apresentam alguma disfunção das células T são mais passíveis de contrair a doença (BARANCELLI, 2010).

## **LEGISLAÇÃO PERTINENTE**

No Brasil, a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) N° 331 e a INSTRUÇÃO NORMATIVA N° 60, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019, definem como padrão microbiológico de *Listeria monocytogenes* em alimentos prontos para o consumo a identificação em nenhuma unidade amostral ( $c=0$ ) com resultado maior que  $10^2$  UFC por grama (m) (BRASIL, 2019).

Segundo o Ministério da Agricultura (BRASIL, 2009) Pecuária e Abastecimento, os procedimentos de Controle da *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para o consumo tem como objetivo monitorar e assegurar a inocuidade destes produtos em relação a este patógeno, e aplicam-se aos estabelecimentos que fabricam produtos de origem animal.

## **METODOLOGIA**

Este trabalho trata-se de um estudo transversal quantitativo elaborado com o objetivo de pesquisar *Listeria* sp. em amostra de queijo muçarela fatiada comercializada na cidade de Matipó, MG.

## **AMOSTRAS**

Foram adquiridas no comércio local da cidade de Matipó – MG, em padarias e supermercados uma amostra em cada estabelecimento totalizando 06 amostras de queijo muçarela fatiado, essas foram transportadas acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo em suas respectivas embalagens de armazenamento originais de venda até o laboratório de Microbiologia Veterinária da Faculdade Univertix.

## **ISOLAMENTO**

### ***Primeiro enriquecimento seletivo***

Acrescentou-se à alíquota de  $25 \pm 0,2$  g da amostra, 225 mL de caldo Listeria Enrichment Broth base adicionado de seu suplemento Listeria selective enrichment supplement. Homogeneizou-se as alíquotas e então foram incubadas a  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 horas.

### ***Segundo enriquecimento seletivo***

A seguir realizou-se o enriquecimento seletivo secundário, transferindo-se 0,1 mL do caldo do primeiro enriquecimento para tubos contendo 10 mL de caldo Fraser (Oxoid), incubados a  $30^\circ\text{C}$  por 48 horas.

### ***Isolamento***

Tanto do enriquecimento seletivo primário como do enriquecimento seletivo secundário, foi retirado uma alíquota de 0,1mL e semeados por espalhamento em

superfície, com o auxílio de um bastão em “L”, em Listeria ágar e em Listeria Selective Agar Base (Oxford), sendo as placas incubadas a 35°C por 24-48 horas.

### **Seleção**

Foram selecionadas para testes de confirmação as colônias tóxicas que apresentavam coloração verde oliva com halo preto.

### **Prova da catalase**

Em uma placa de Petri, foi depositado 1 gota de peróxido de hidrogênio 3%. Com auxílio de alça de platina, retirou-se uma alíquota do cultivo e misturou-se com a gota do reagente. A presença de catalase se traduz por desprendimento de bolhas de oxigênio (catalase positiva). Das culturas catalase positivas, foi feito um esfregaço para coloração de Gram.

### **Coloração de Gram**

Das culturas catalase positivas, foi feito um esfregaço para coloração de Gram nas quais a morfologia esperada eram bastonetes curtos Gram positivos.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

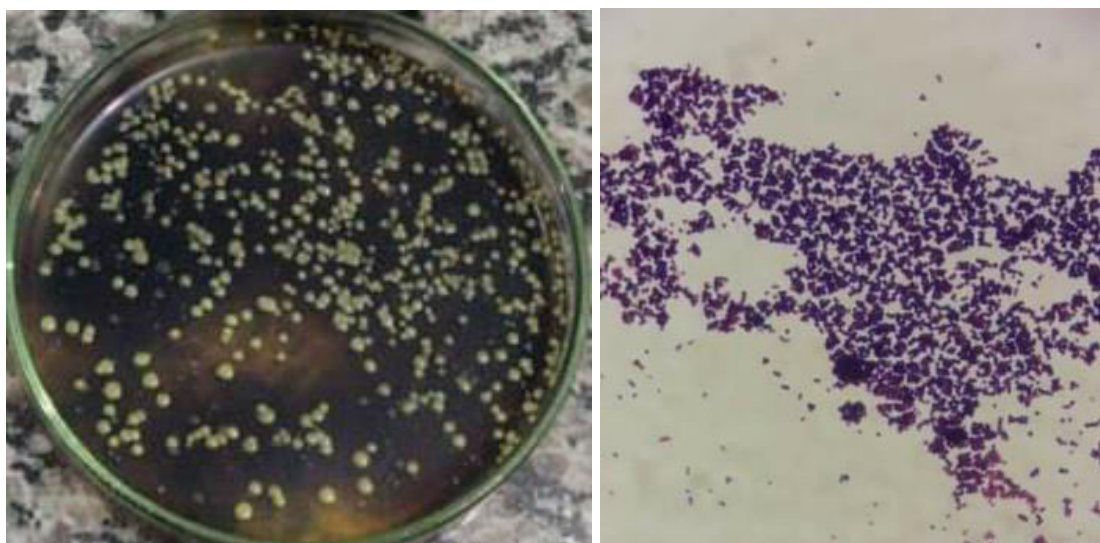
No presente estudo, foram avaliadas 06 amostras de queijo muçarela fatiados, nas quais identificou-se em todas, a presença de *Listeria monocytogenes* (TABELA 1).

**Tabela 1:** Resultados para avaliação da presença de *L. monocytogenes* em amostras de queijo muçarela fatiado comercializado na cidade de Matipó, MG.

<b>AMOSTRA</b>	<b>PRESENÇA DE <i>L. monocytogenes</i></b>
1	POSITIVO (+)
2	POSITIVO (+)
3	POSITIVO (+)
4	POSITIVO (+)
5	POSITIVO (+)
6	POSITIVO (+)

Fonte: autoria própria

Os resultados foram confirmados pela identificação de colônias típicas com halo preto ao redor, e pelos testes bioquímicos de confirmação e coloração de gram onde identificou-se bastonetes curtos gram positivos (Figura 1). Não foi realizada a contagem bacteriana do agente, não sendo possível verificar a adequação das amostras dentro do limite estabelecido que é de nenhuma amostra com contagem acima de  $10^2$  UFC/g (BRASIL, 2019).



**Figura 1:** Colônias típicas no Listeria Selective Agar Base (coloração verde oliva com halo preto ao redor) à esquerda e resultado da coloração de Gram -bastonetes curtos gram positivos à direita.

**Fonte:** A autoria própria.

Frequentemente têm sido relatados diversos estudos sobre a ocorrência de *L. monocytogenes* em diferentes tipos de alimentos ao redor do mundo. No que refere-se aos queijos, a bactéria já foi isolada de muitas variedades em inúmeros países, inclusive no Brasil. Os surtos de listeriose concernentes a queijos contaminados com a bactéria têm sido relatados desde a década de 1980 (BRASIL, 2009; OLIVEIRA, 2005).

A contaminação por *L. monocytogenes* nas amostras de queijo muçarela fatiado avaliadas neste presente estudo foi mais alta que a encontrada em outros estudos realizados em nosso país, de queijos fatiados ou não, como no trabalho de Abrahão *et al.* (2008), onde foram analisadas 90 amostras de diferentes tipos de queijo e 60 amostras de sorvete, no estado do Paraná. Dentre as amostras de sorvete, nenhuma apresentou contaminação por bactérias do gênero *Listeria*,

enquanto que 12,20% das amostras de queijo foram positivas para *Listeria* sp., sendo 6,7% *L. monocytogenes*.

Ratti (2006), em Ribeirão Preto, SP, analisou 30 amostras de queijo muçarela fatiado, 30 amostras de presunto cozido fatiado e 30 amostras de superfície de equipamento de fatiar. Três (3,34%) das 90 amostras avaliadas continham *L. monocytogenes*. Dentre os isolados de *L. monocytogenes* detectados, dois eram provenientes de alimento (presunto) e um do equipamento de fatiar, uma vez que o patógeno não foi encontrado em queijo muçarela. Em São Paulo, Martins e Germano (2010), observaram uma maior contaminação por *L. monocytogenes* em amostras de salame (6,2%) que em amostras de presunto (0,8%), enquanto que Sant'Ana *et al.* (2012), também em São Paulo, encontraram contaminação por *L. monocytogenes* em 3,1% das amostras de verduras e/ou legumes embalados prontos para consumo analisadas. Silva *et al.* (1998), avaliaram a presença de *Listeria* spp. em queijos tipicamente brasileiros adquiridos de mercados da cidade do Rio de Janeiro, na qual foi encontrado contaminação por *L. monocytogenes* em 10,68% das amostras.

A possível causa para todas as amostras estarem infectadas, pode ser devido a esses produtos passarem pelo processo de fatiamento antes de serem embalados, uma vez que os fatiadores nem sempre se encontram em condições adequadas de higiene, resultando em uma contaminação cruzada envolvendo equipamentos, superfícies e manipuladores. Além disso, ao se fracionar qualquer produto sólido, aumenta-se sua superfície exposta, o que pode também aumentar os riscos de contaminação (MARINHEIRO *et al.*, 2015).

Por meio dos resultados obtidos, observou-se que apesar do controle sanitário realizado pelos órgãos de fiscalização, ainda são presenciados nos comércios produtos acabados fora dos padrões de qualidade, especialmente os fatiados. Ressalta-se a importância de um maior cuidado na elaboração e aplicação dos programas de autocontrole da indústria, em especial no que se relaciona à higiene dos manipuladores e à limpeza e desinfecção de equipamentos e superfícies que entram em contato com o alimento, e maior rigidez na fiscalização pelos órgãos de inspeção oficial, com intuito de reduzir a comercialização de produtos contaminados.

## **CONCLUSÃO**

O queijo muçarela é um alimento importante no Brasil, sendo assim, o isolamento de *L. monocytogenes* em queijos fatiados é extremamente preocupante do ponto de vista de saúde pública. Os resultados obtidos mostraram que apesar do controle sanitário realizado pelos órgãos de fiscalização, ainda são encontrados no comércio produtos acabados com desvios em relação aos padrões de qualidade, especialmente os fatiados, mostrando a presença de *Listeria monocytogenes* em todas as amostras. Sendo assim, faz-se necessário que haja uma maior fiscalização da manipulação de queijo muçarela nos estabelecimentos comerciais, com o objetivo de reduzir a comercialização de produtos contaminados.

## REFERENCIAS

ABRAHÃO, W. M.; ABRAHÃO, P. R. S.; MONTEIRO, C. L. B.; Occurrence of *Listeria monocytogenes* in cheese and ice cream produced in the State of Paraná, Brazil. Braz J Pharmaceut Sci. 2008; 44(2):125-129

BARANCELLI, G. V. **Ocorrência e caracterização sorológica e genotípica de *Listeria monocytogenes* em indústrias de queijo do Estado de São Paulo.** Universidade de São Paulo. Pirassununga. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Aprova os regulamentos técnicos de Identidade e Qualidade dos produtos lácteos. **Portaria nº 146 de 07 de março de 1997.** Diário Oficial da União, Brasília, 1996. Seção 1, p. 39-77.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. **Instrução Normativa nº 9, de 9 de abril de 2009.** Institui os Procedimentos de Controle de *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal, prontos para o consumo. Brasília (Brasil). 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 331, de 23 de Dezembro de 2019. Diretoria Colegiada. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, n. 96 – E, 26 de Dezembro de 2019.

CAURIO, D. L., L. DORNELLES, and A. S. Motta. **Avaliação do potencial de formação de biofilme por espécie de *Listeria* sp. Isoladas de amostras de alimentos.** 2020.

CRUZ, C. D.; MARTINEZ, M. B; DESTRO, M. T. ***Listeria monocytogenes*: UM AGENTE INFECIOSO AINDA POUCO CONHECIDO NO BRASIL.** Araraquara v.19, n.2, p. 195-206, abr./jun. 2008.

DA SILVA, M. C. D; HOFER E; TIBANA A. **Incidence of *Listeria monocytogenes* in cheese produced in Rio de Janeiro, Brazil.** J Food Protect 1998; 3:354-356.



DE SÁ, F.R.N. **Listeria monocytogenes pneumonia in a cirrhotic chil.** *International Journal of Clinical Practice*. Surrey, v.58, n.5, p.536-538, 2004.

FILHO, JULIO MESQUITA. **A geografia do queijo artesanal.** Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de Geociências e Ciências Exatas do Campus de Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista, 2011. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/>. Acesso em: 1 nov. 2021.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, Mariza. **Microbiologia dos Alimentos**. 1º edição, editora Atheneu, p.46-50, São Paulo, 1996.

GONÇALVES, Magda *et al.*; **Presença de Listeriamonocytogenes em Queijos de Pasta Mole da Região a Sul do Tejo.** *Port J Public Health* 2017; 35:37–43 2017.

HOFER, C.B., MELLE, C.E.A., HOFER, E. **Listeria monocytogenes** in renal transplant recipients. *Revista do instituto de medicina tropical*. São Paulo, v.41,n.6, p.375-377, 1999.

JAY, J.M. **Modern food microbiology**. 6nd ed. Gaithersbur: Aspen Publishers. 2000.

KULDEEP, Dhama *et al.* **Listeriosis in animals, its public health significance (food-borne zoonosis) and advances in diagnosis and control:** a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*, 35(4), 211–235.

LEMBI, Michelle Karine dos Santos *et al.*, **Análise microbiológica de queijo industrializado do tipo muçarela e condutas para obtenção de qualidade no seu processamento.** *Brazilian Journal of health Review Curitiba*, v. 3, n. 3, p.4951-4964 may./jun. 2020.

FONTANETTI, Marinheiro, *et al.* **Qualidade microbiológica de queijo muçarela em peça e fatiado Semina:** Ciências Agrárias, vol. 36, núm. 3, Maio-Junho, 2015, pp. 1329-1334. Universidade Estadual de Londrina Brasil.

MARTINS, E. A. **Listeria monocytogenes em produtos fatiados do tipo ready-to-eat, presunto cozido e salame, comercializados no município de São Paulo:** Ocorrência, quantificação e sorotipagem [thesis]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública/USP; 2010.

MATEUS, Teresa Letra *et al.* **Listeria e Listeriamonocytogenes em alimentos.** *TecnoAlimentar* 12 (2018): 56-59.

NALDINI, M. C. M. **Comportamento diferencial de Listeriamonocytogenes em queijo Minas Frescal elaborados pelo método convencional e por acidificação direta.** Campinas, 2002, 72p. Dissertação apresentada para Obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, 2002.

OLIVEIRA, A; PAMPULHA M, FERREIRA M. **Prevalence and characterization of Listeria monocytogenes isolated from soft cheese.** *Food Microbiol* 2005; 22(1):79-85.

PIETRA, Luiza. **Investigação da presença de *listeria spp.* e *listeria monocitogenes* em equipamentos e utensílios da indústria de laticínios.** Universidade federal do Rio Grande do Sul, instituto de ciências e engenharia de alimentos. Porto Alegre, 2010.

RATTI, R. P. ***Listeria monocytogenes* em alimentos fatiados e equipamentos: ocorrência, formação de biofilme e controle.** Ribeirão Preto: Faculdade de Ciências Farmacêuticas/USP; 2006.

REGINATO, Alexandra Marcela *et al.* **Avaliação microbiológica de queijo tipo muçarela fatiado comercializado em supermercados do município de Ji-Paraná – Rondônia.** Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal (v.13, n.1) p. 89 – 97 jan – mar (2019).

SANT'ANA, A. S, *et al.* **Prevalence, populations and pheno- and genotypic characteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat vegetables marketed in São Paulo, Brazil.** Int J Food Microbiol 2012; 155: 1-9.

SILVA, Francisco Regis *et al.* **Conservação e controle de qualidade de queijos: Revisão.** Pubvet , Maringá v.11, n.4, p.333-341, Abr. 2017.

## **DOENÇA DO TRATO URINÁRIO INFERIOR DO FELINO ASSOCIADA A FATORES DE ESTRESSE - RELATO DE CASO**

**ACADÊMICAS:** Ana Luiza Moreira Salgado e Jamile Mendes de Souza

**ORIENTADORA:** Mayara Cristini Ferreira de Aguiar

### **RESUMO**

Nos últimos anos tem-se observado uma maior prevalência no atendimento de felinos que desenvolvem a Doença do Trato Urinário Inferior dos Felinos, mais conhecida como DTUIF. Essa afecção é uma síndrome de causas variadas e muitas vezes desconhecidas, que podem se agravar devido a alguns fatores predisponentes, como o estresse. Desse modo, o atual trabalho teve como objetivo relatar e analisar, com foco em fatores estressantes, um caso, que ocorreu em junho de 2021, no Hospital Veterinário da Faculdade Univértix e se tratava de um felino, sem raça definida, macho, castrado, de vida semi domiciliar, 1 ano e 9 meses de idade, pesando 5,500kg, que desenvolveu a DTUIF na sua forma obstrutiva. O caso constituiu-se em ruptura da vesícula urinária e extravasamento de urina para a cavidade abdominal, sendo necessário cistorrafia de emergência para recuperar a integridade da bexiga e realização de lavagem da cavidade abdominal. O animal obteve uma boa recuperação pós-cirúrgica,mas após um mês teve uma recidiva branda da doença que foi rapidamente controlada.

**PALAVRAS-CHAVE:** DTUIF, ruptura vesical, fatores predisponentes, estresse, obstrução.

**LINHA DE PESQUISA:** Clínica e Cirurgia Animal

### **INTRODUÇÃO**

O aumento da população de felinos tem se tornado uma fonte importante de demanda quanto ao atendimento clínico médico veterinário de animais de companhia, principalmente no que tange às alterações de trato genitourinário, tal como a Doença do Trato Urinário Inferior dos Felinos (DTUIF). Essa afecção tem grande recorrência na rotina do clínico (FONSECA, 2019), sendo definida como um transtorno etiológico de causas variadas (DE SOUSA *et al.*, 2021).

Dentre os diversos sinais clínicos observados estão a polaciúria, disúria, estrangúria e hematúria acompanhados ou não de obstrução uretral sendo capaz de gerar uma certa dificuldade de micção. No entanto, o animal também pode apresentar modificação no comportamento, como lambedura nos órgãos genitais, tenesmo e vacalização (FONSECA, 2019).

Alguns fatores podem predispor a DTUIF, como o diâmetro e a elasticidade uretral reduzida dos felinos machos e a tendência ao sedentarismo, condições como alteração do pH urinário, estresse, idade, sexo, ingestão e qualidade de água, predisposição genética e estado reprodutivo (DE SOUSA *et al.*, 2016).

Como forma de controlar os fatores predisponentes ao surgimento do DTUIF, deve-se fazer manejo ambiental adequado para melhorar o bem estar animal e assim evitar possíveis recidivas de doenças do trato urinário e outras enfermidades (DE SOUSA *et al.*, 2021).

Considerando a importância clínica da Doença do Trato Urinário Inferior do Felino (DTUIF) e seu impacto na qualidade de vida e saúde dos felinos domésticos, objetivou-se o atual trabalho relatar um caso em que um felino teve a doença descrita e associá-lo com a literatura.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **Fisiopatologia**

Alguns termos podem ser utilizados como denominação de enfermidades no trato urinário inferior dos felinos associada a vários fatores, como Doença do Trato Urinário Inferior dos Felinos (DTUIF) e Síndrome Urológica Felina (SUF). Ganham esse título doenças que afetam a bexiga ou a uretra do gato doméstico (PORTELA, 2016).

Felinos que apresentam DTUIF podem manifestar a doença de duas formas distintas, sendo divididos em dois grupos, em que animais que apresentam inflamação do trato urinário conjugada com formação de cristais e/ou cálculos mineralizados sofrem a forma obstrutiva da doença e se encaixam no primeiro grupo. No segundo grupo se enquadram portadores da forma não obstrutiva, ou seja, o transtorno é causado por lesão, fatores neoplásicos, agentes infecciosos, por fatores desconhecidos ou alterações de caráter neurogênico (DE SOUSA *et al.*, 2021; PORTELA, 2016).

Com relação às alterações de caráter neurogênico, pode-se citar a inflamação neurogênica tendo início no cérebro, gerando assim uma excitação do sistema nervoso simpático e ativação de fibras amielinizadas, presente na parede da submucosa da bexiga, responsáveis pela dor e denominada fibras C. Logo após a substância P (neurotransmissor) é liberada para potencializar a inflamação, levando a excitação da parede da bexiga, resultando em ampliação da permeabilidade

vesical e das paredes dos vasos, contratilidade da musculatura, levando a dor, degranulação de mastócitos, liberação de mediadores inflamatórios e alteração da camada superficial da mucosa de glicosaminoglicanos (GAGs). Uma vez que esses estímulos se repetem e o meio em que o animal vive se torna um fator estressante, a doença irá se intensificar (OLIVEIRA, 2020).

### **Fatores Predisponentes**

Alguns fatores podem predispor o animal a desenvolver a doença, como idade, sexo e manejo, sendo que sobrepeso, castração, sedentarismo e estresse são as causas mais comuns. Em relação à idade, pode ocorrer uma alta incidência por volta dos 12 aos 48 meses e anômalo em animais com idade inferior a 12 meses e superior 10 anos, sendo comum é a doença aparecer com mais frequência em felinos de 2 a 6 anos. Ambos os sexos podem apresentar esse distúrbio, sendo que, de acordo com alguns estudos, a forma obstrutiva acomete mais os gatos machos que se alimentam com ração seca de qualidade inferior e que ingerem uma quantidade de água menor ao recomendado à espécie (LANDIM, 2019; SIQUEIRA,2020). Feltrin (2021) explicou que os gatos machos possuem a uretra mais estreita, tortuosa e longa quando comparados às fêmeas da espécie. Além disso, o gênero masculino possui as glândulas bulbouretrais no início do pênis, fazendo com que a uretra dos machos tenha um menor diâmetro.

Deve-se pontuar que a falta de interação homem x animal, o confinamento em ambientes sem um enriquecimento ambiental adequado e a interação com outros animais são condições estressantes, que podem provocar a doença (LANDIM, 2019; SIQUEIRA,2020).

### **Sinais Clínicos**

Em geral, a sintomatologia clínica de animais com distúrbios urinários é comum a várias doenças, por que podem ter desenvolvimento agudo ou crônico e terem origem do próprio trato urinário ou de outros órgãos que afetam o funcionamento normal dessa região (PORTUGAL; GUILHERME, 2015).

Além disso, de acordo com Lopes (2018), os sinais clínicos da DTUIF podem se manifestar em relação às formas não obstrutivas ou obstrutivas (parcial ou total), das quais em ambas as situações a vesícula urinária pode apresentar distensão, dor

ao palpar e espessamento de sua parede e se agravar em ruptura, devido à dificuldade de esvaziamento.

Pacientes que desenvolvem a forma não obstrutiva tendem a desenvolver lambedura excessiva da região urogenital, poliúria, disúria, estrangúria, hematúria, pênis hiperemico, poliúria com polidipsia compensatória e noctúria, sendo que o animal também pode apresentar polaciúria, ajudando a fechar o diagnóstico de DTUIF (LOPES, 2018).

Os felinos obstruídos de forma parcial, inicialmente apresentam sinais semelhantes à forma não obstrutiva.(ELIMINAR A VÍRGULA E COLOCAR PONTO) Contudo, ainda pode ocorrer a exposição do pênis, polaciúria seguida de oligúria e hematúria e agravamento dos sinais comportamentais, como aumento da frequência de miados. Já na obstrução total, os sinais já são preocupantes pois pode ser formada azotemia pós-renal em cerca de dois dias, levando o animal a quadros de emese e conseqüente aumento na desidratação, o que acarreta depressão, anorexia, fraqueza, hipotermia, acidose com hiperventilação, choque, podendo ter um prognóstico ruim (DE SOUSA *et al.*, 2016).

## **Diagnóstico**

Em geral, a anamnese e o histórico do animal são pontos chaves para o diagnóstico da DTUIF, juntamente com o tempo de evolução da doença e a solicitação de exames complementares que são feitos após a estabilização do paciente (SIQUEIRA, 2020).

De acordo com Oliveira (2020), os métodos que auxiliam são o diagnóstico por imagem, incluindo exames radiográficos e ultrassonográficos, também exames laboratoriais, que servem para acompanhar a afecção e evolução do paciente. Oliveira citou que a aplicação da radiografia abdominal, permite a observação do o diâmetro da uretra pélvica juntamente com a uretra peniana para eliminar a suspeita da presença de urólitos radiopacos e tampões uretrais cristalinos. Sendo assim, em alguns casos mais complicados como neoplasias, cálculos radiotransparentes ou até mesmo a obstrução uretral é recomendado fazer a radiografia contrastada.

Os exames laboratoriais, como hemograma, perfil eletrolítico (sódio, cloreto, cálcio, potássio), hemogasometria, avaliação glicêmica e perfil bioquímico renal, contendo exame de ureia e creatinina são utilizados com a finalidade de avaliar o quadro do animal (XAVIER JÚNIOR, 2019).

## **Tratamento**

Para se estabelecer o protocolo adequado, o clínico deve avaliar o histórico do paciente quanto aos parâmetros, alterações laboratoriais e presença de obstrução uretral. Como os casos de obstrução uretral trazem mais riscos ao animal, as ocorrências desse tipo são consideradas emergência. O clínico deve começar a implementar métodos menos invasivos, como massagem peniana para retirada de cálculos ou tampões presentes na uretra, sendo que uma delicada compressão da bexiga pode auxiliar na desobstrução. Nos casos em que a obstrução é crônica, deve-se optar por métodos mais invasivos, como a fixação de sonda uretral conectada a um sistema fechado para coletar a urina e, se necessário realizar a lavagem da vesícula urinária com solução salina. Quando a obstrução é persistente, pode-se optar pela realização da cistocentese como forma de decompressão imediata, considerando-se que esse método pode levar à ruptura da bexiga na condição de distensão por tempo prolongado (FONSECA,2019). Na ocasião em que esses métodos não são bem sucedidos, deve-se recorrer a tratamentos cirúrgicos, como a cistotomia e/ou a uretostomia perineal (DE SOUSA *et al.*, 2016).

Por ser uma doença que possui vários fatores, que podem ampliar as chances dos felinos à afecção, a literatura diz que não há um tratamento específico para tal síndrome, mas como citado no estudo de Garbini (2020), o tratamento medicamentoso se baseia na analgesia, controle da inflamação e de infecções secundárias. Para controle da inflamação pode-se utilizar dexametasona (0,1 mg/kg, SID) e em casos de azotemia é indicado o uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), como o meloxicam (0,1 mg/kg). Na analgesia, dipirona (25 mg/kg, TID) e tramadol (1-3 mg/kg, TID) possuem uma boa resposta. Quando necessário pode se fazer o uso de antibióticos como a amoxicilina + clavulanato de potássio (15-20 mg/kg, BID), ampicilina (10-30 mg/kg, BID) e cefalexina (20-30 mg/kg, BID).

Feltrin (2021), sugeriu o uso de feromônios sintéticos, tais como produtos análogos ao hormônio facial felino (F3), como estratégia no manejo ambiental nos casos em que o felino apresenta problemas comportamentais e estresse.

## **Prevenção**

Algumas medidas podem ser tomadas para a prevenção da DTUIF, sendo que o manejo ambiental bem feito é uma das principais formas de evitar o agravamento ou até mesmo a recidiva, uma vez que leves modificações da rotina podem intensificar o estresse do animal. Critérios devem ser tomados para evitar esse tipo de situação como ter um ambiente mais atrativo para o animal, consequentemente estimulá-lo a praticar atividade física com o auxílio de brinquedos, esconderijos e brincadeiras com o tutor. Estimular a ingestão de água com a presença de água fresca, fontes e recipientes limpos, ofertar quantidade adequada de caixas de areia equivalente ao número de gatos é de suma importância. Também é importante ter lugares tranquilos e arejados, alimento livre e de boa qualidade, pois diferente de outras espécies os gatos gostam de comer várias porções ao longo do dia (ROSA, 2010).

### **Prognóstico**

O prognóstico do paciente com DTUIF dependerá de como a doença progrediu e se a origem problema foi encontrada e solucionada (SIQUEIRA, 2020), e uma vez que ocorra recidivas, a forma não obstrutiva possui um prognóstico favorável, pois em alguns casos o próprio organismo consegue se reequilibrar e solucionar os primeiros sinais, fazendo com que a doença não progrida. Já nos casos de obstrução uretral, o prognóstico pode ser ruim, devido à condição corpórea do animal, ao grau dos sinais clínicos e às alterações nos exames complementares, por que podem ocasionar um quadro reservado a desfavorável, ao ponto de levar o paciente a óbito (LOPES, 2018).

### **RELATO DE CASO**

Em junho do ano de 2021, foi atendido no Hospital Veterinário da Faculdade Univértix, um felino, sem raça definida, macho, castrado, de vida semi domiciliar, 1 ano e 9 meses de idade, pesando 5,500kg. A tutora relatou que, por havia cerca de um mês, o paciente vinha urinando fora do lugar de costume com frequência, sendo que algumas vezes foi visto presença de hematúria. A tutora explicou que o animal era ativo, às vezes agressivo, territorialista, se estressava com outros gatos que residiam na mesma propriedade e era muito apegado a ela. Juntamente relatou outros fatos que poderiam ter desencadeado a apresentação da doença: ela estudava em uma cidade e o animal ficava na casa dos pais, em uma cidade



distinta, apesar de próxima. Assim ela voltava todo final de semana para visitá-los. Um outro fator foi que nesse mesmo ano, mais ou menos no mês de abril, ela havia resgatado outras duas gatas, que permaneciam separadas do paciente apenas por uma porta de vidro. Foi relatado que ele ficava estressado ao ponto de sentir o cheiro dos animais na tutora e ficar agressivo com ela.

No dia da primeira consulta o paciente apresentava meneio de cabeça, prurido otológico, disúria e anúria, hiporexia e não ingeriu água; ele permanecia com o pênis exposto, e houve aumento na frequência dos miados. Chegando ao consultório o animal se apresentou estressado, respiração ofegante e de boca aberta, o pênis ainda estava exposto, o rabo para cima, executando posição para urinar constantemente e mesmo por estar estressado, devido à condição que se encontrava, permitiu que fosse feita a consulta com tranquilidade.

Assim, foi realizada anamnese, exame físico e percebeu-se a taquicardia, mucosas normocoradas, prurido auricular com secreção escura, TPC > 2, apresentando uma desidratação de em média 8 a 10%, dor abdominal dificultando a palpação.

Foi realizada citologia otológica por meio de material coletado com Swab e analisado pelo método de microscopia óptica, (ACRESCENTAR VÍRGULA) dando positivo (++) para de presença de *Malassezia sp.* Também foi feito teste rápido para detecção de Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) e Vírus de Leucemia Felina (FeLV) e V, com resultado negativo.

Em seguida, foi feita avaliação ultrassonográfica, na qual foi observada a bexiga de menor diâmetro do que o esperado para a espécie, e repleta de urina, uretra dilatada com espessamento de parede e presença de sedimentos. Assim optou-se pela realização da cistocentese guiada por ultrassonografia.

Na avaliação de hemograma completo, bioquímica renal e hepática, e urinálise observou-se os resultados apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3.

De acordo com os resultados obtidos nos exames em conjunto com achados clínicos, fechou-se o diagnóstico de DTUIF. O animal foi encaminhado para a internação, onde foi implementado fluidoterapia com Ringer Lactato, sondagem uretral para coleta de urina e lavagem da bexiga (duas vezes ao dia), e as medicações citadas na Tabela 4.

**Tabela 1:** Resultado do hemograma completo realizado na primeira internação.

<b>HEMOGRAMA COMPLETO</b>		
<b>Parâmetros</b>	<b>Resultados</b>	<b>Valores de referência (Acima de 7 meses)</b>
Hematócrito	36%	24-45%
Eritrócito totais	9.44	5.0-10.0x10 <sup>12</sup> /L
Hemoglobina	117	93-153g/L
VCM	40.2	39-55 fL
HCM	12.4	12.5-17.pg
CHCM	308	300-380g/L
Leucócitos totais ( mil/ mm <sup>3</sup> )	11.000	5.500-19.500
Segmentados (mil/ mm <sup>3</sup> )	8.470	1.925-14.625
Bastonetes (mil/ mm <sup>3</sup> )	110	0-585
Linfócitos(mil/ mm <sup>3</sup> )	1.540	1.100-10.725
Monócitos(mil/ mm <sup>3</sup> )	770	55-780
Eosinófilos (mil/ mm <sup>3</sup> )	0	110-2.340
Basófilos (mil/ mm <sup>3</sup> )		0-195
Plaquetas	88	300-800x10/L

Proteína plasmática total

7.7

6-8g/dL

Avaliação microscópica: Plaquetas reativas e agregação plaquetária em esfregaço sanguíneo.

Fonte: Laboratório do Hospital Veterinário Univértix (junho, 2021).

**Tabela 2:** Resultado do exame bioquímico renal e hepático realizado na primeira internação.

<b>BIOQUÍMICA RENAL E HEPÁTICA</b>		
<b>Parâmetro</b>	<b>Resultado</b>	<b>Valores de referência</b>
Método: Enzimático Ureia	90.2	21.4-59.92 mg/dL
Método: Colorimétrico Creatinina	0,72	0,5-1,5 mg/dl
Método: Cinético ALT	68	4,8-24 U/L
Método: Cinético AST	31	23-66 U/L

Fonte: Laboratório do Hospital Veterinário Univértix (junho, 2021).

**Tabela 3:** Resultado da urinálise realizada na primeira internação.

<b>URINÁLISE</b>		
<b>Caracteres Físicos</b>	<b>Pesquisas Bioquímicas</b>	<b>Sedimentoscopia</b>
Volume: 6ml	Proteínas ++	Piócitos: 20 c. p/C
Cheiro: Sui Generis	Glicose +	Hemácias: 100 c. p/C
Aspecto: Turvo	Corpos Cetônicos -	Células Pelve R. : 1 c. p/C
Cor: alaranjada	Sangue +++	Células Tubulares: 1 c. p/C
Densidade: 1.010	Bilirrubina -	Células Transicionais: 1 c. p/C
	pH 8	Células uroteliais profundas: 2 c p/C
	Leucócitos ++	Cilindro granuloso- Raros

Presença abundante de cristais de Fosfato Triplo e presença de raros cristais de Oxalato de Cálcio Di-hidratado.

Fonte: Laboratório do Hospital Veterinário Univértix (junho, 2021).

**Tabela 4:** Tabela com os fármacos, dosagem e vias de administração utilizados na primeira internação.

<b>Fármaco</b>	<b>Dose</b>	<b>Via de administração</b>	<b>Frequência</b>
Dipirona	25 mg/kg	SC	BID
Meloxicam	0,1 mg/kg	IV	SID
Ondansetrona	0,1 mg/kg	SC	BID
Ampicilina	25 mg/kg	IV	BID
Butorfanol	0,2 mg/kg	SC	BID

Fonte: Elaborado pelos autores;

Durante a noite, observou-se redução do volume urinário coletado por sonda e o tubo foi obstruído pelos sedimentos que estavam presentes na vesícula urinária. Pela manhã do dia seguinte foi realizada a lavagem da bexiga o que eliminou bastante sedimento; o animal permaneceu sondado. Na parte da tarde, os profissionais realizaram outro ultrassom e foi observada a presença de um coágulo medindo 2,0 cm x 1,5 cm (IMAGEM 1) em relação ao tamanho da vesícula do animal, e foi diagnosticada fissura na parede do órgão com extravasamento de líquido para a cavidade abdominal, e diante do situação o animal foi encaminhado para o bloco cirúrgico do Hospital para realização de um procedimento cirúrgico de urgência.

A cirurgia de escolha foi a cistotomia, na qual após a abertura da região abdominal confirmou-se a presença de urina e coágulos na bexiga e cavidade abdominal. No procedimento foi feita a lavagem da bexiga e da cavidade abdominal e a correção da parede fissurada do órgão.



**Imagem 1:** Imagem com os coágulos retirados na cirurgia realizada no dia 10/06/2021 do animal relatado .

Fonte: Imagem cedida pela tutora (junho, 2021).

Nos dois primeiros dias pós-cirúrgico, o animal permaneceu internado para observação e estabilização do caso e logo após teve alta, pois sua recuperação mostrava-se progressiva e favorável.

Na alta do animal foram receitada três medicações de administração por via oral, sendo elas: Omeprazol de 10mg em forma de comprimidos, indicações de administrar 1/2 (meio) comprimido por via oral com o animal em jejum, a cada 24 horas, durante 14 dias; Amoxicilina + Clavulanato de potássio na apresentação de suspensão, e concentração de 250mg/5ml, administrando 1ml por via oral após alimentação a cada 12 horas, durante 14 dias.

O uso do Cist Control Spray Real H<sup>®</sup>, foi sugerido na medida de uma borrifada na mucosa oral, ou no alimento adicionado imediatamente antes de se fornecer a ração para o animal, de 8 em 8 horas. O spray ainda pode ser adicionado, na dose total do dia ( 3 borrifadas), através da água oferecida ao animal, desde que essa água fosse trocada no mínimo a cada 24 horas e sempre que a água fosse trocada adicionar mais medicação.

Devido à presença de *Malassezia* sp., foi indicado o tratamento com soluções otológicas da seguinte forma: aplicação de 3 gotas de Aurivet Clean<sup>®</sup> em cada ouvido e massagear a base da orelha por aproximadamente 1 minuto, em seguida, limpar com auxílio de um algodão ou tecido macio e aplicar 4 gotas de Aurivet<sup>®</sup>

bisnaga. Repetir esse processo a cada 12 horas, durante 7 dias e após este período, utilizar o produto Aurivet Clean® na limpeza do conduto auditivo a cada 10 dias.

Foi indicado trocar a alimentação do animal para o uso de ração terapêutica, por utilizando-se a Premier® Nutrição Clínica Gatos – Urinário Estruvita. A troca de ração foi realizada de acordo com a Tabela 5.

**Tabela 5:** Tabela De como realizar a troca de ração.

Dias	Ração Atual	Ração Nova
1° e 2°	75%	25%
3° e 4°	50%	50%
5° e 6°	25%	75%
7° em diante		100%

Fonte: Elaborado pelos autores

O animal teve alta e ficou na casa da tutora, na cidade de Matipó, até se recuperar da cirurgia para voltar para casa da mãe da tutora, em São João do Manhuaçu.

O ambiente foi enriquecido com várias vasilhas de água em vários pontos da casa e introduzida uma caixa de areia para o animal fazer suas necessidades. Como nunca havia usado caixa de areia antes, ele passou por uma fase de adaptação. Sendo assim, houve relato de urina e fezes em lugares inapropriados, nos quais observou-se hematúria durante dois dias após a cirurgia.

O felino teve uma boa recuperação e foram retirados os pontos 9 dias após o procedimento e realizada a ultrassonografia de controle, sem mais alterações.

O tratamento de otite foi realizado como prescrito na receita, já o tratamento da cistite não foi bem sucedido, pois no final do mês de junho a tutora viu que não fez o armazenamento correto da Amoxicilina + Clavulanato de potássio. Assim, a

medicação pode ter perdido sua estabilidade e eficácia terapêutica. Desta forma, foi necessário recomençar o tratamento.

Logo após a recuperação e retirada dos pontos, o animal foi levado para sua residência em São João do Manhuaçu, onde as únicas mudanças do ambiente foram a introdução de uma caixa de areia, maior distribuição de vasilhas com água em lugares de fácil acesso, aumento da frequência de brincadeiras.

Durante a segunda quinzena do mês de julho, a dona observou que o felino estava gotejando urina por vários locais da casa, rapidamente entrou em contato com o Hospital Veterinário da Faculdade Univértix, e foi recomendado o retorno do o animal para exame detalhado. Ao chegar ao local e passada a triagem, foi diagnosticado a recidiva da doença e uma nova obstrução. Foi coletada urina para urinálise (TABELA 6), sondagem e o animal foi encaminhado para internação, onde permaneceu durante 3 dias. Nesse período ele foi submetido a lavagem vesical, duas vezes ao dia, e ao tratamento farmacológico descrito na Tabela 7. Após esse período de internação, o animal apresentava melhora na micção, alimentação espontânea e assim recebeu alta.

**Tabela 6:** Resultado da urinálise realizada na segunda internação.

<b>URINÁLISE</b>		
<b>Caracteres Físicos</b>	<b>Pesquisas Bioquímicas</b>	<b>Sedimentoscopia</b>
Volume: 3,5ml	Proteínas: ++	Piócitos: 50 c. p/C
Cheiro: Sui Generis	Glicose: -	Hemácias: Incontáveis
Aspecto: Turvo	Corpos Cetônicos: -	Células Pelve R.: 1 c. p/C
Cor: amarelo palha	Sangue:+++	Células Tubulares: 1 c. p/C
Densidade: 1.005	Bilirrubina: +	Células Transicionais: 1 c. p/C
	pH: 9,0	Células uroteliais profundas: 1 c p/C
	Leucócitos: +++	Cilindro granuloso: Ausentes

Presença abundante de fosfato triplo

Fonte: Laboratório do Hospital Veterinário Univértix (julho, 2021).

**Tabela 7:** Tabela com os fármacos, dosagem e vias de administração utilizados na segunda internação.

<b>Fármaco</b>	<b>Dose</b>	<b>Via de administração</b>	<b>Frequência</b>
Dipirona	25 mg/kg	IV	BID
Meloxicam	0,2 mg/kg	VO	SID
Cefalexina	20 mg/kg	VO	BID

Fonte: Elaborado pelos autores

Felino foi encaminhado para casa com as seguintes receitas: Cefalexina 300 mg, meio comprimido administrado por via oral a cada 12 horas, durante 15 dias. meloxicam 0,2mg, recomendado 1 comprimido por via oral a cada 24 horas, durante 4 dias. Também foi prescrito cranberry 40 mg, para administrar 1 cápsula via oral, uma vez ao dia, durante 30 dias. Foi indicado retornar com o animal para nova avaliação e coleta de urina para urinálise e antibiograma após 14 dias.

A tutora relatou que o tratamento foi bem sucedido e o animal se recuperou muito bem. Em relação à coleta da urinálise, ela própria coletou em casa, no mês de agosto, e levou até um laboratório e teve como resultado 3 hemácias por campo. Quanto ao antibiograma, o animal foi levado ao Hospital Veterinário, coletaram a amostra de urina através da cistocentese e a amostra foi encaminhada para o laboratório de microbiologia, onde a cultura deu negativa. Até o atual momento o animal se encontra estável e sadio e não houve mais sinais e recidivas em relação a DTUIF.

## **DISCUSSÃO**

O paciente relatado no atual trabalho desenvolveu a doença do trato urinário inferior dos felinos (DTUIF) na forma obstrutiva e ao analisar os dados estatísticos



citados no estudo feito por Sampaio et al., (2020), observou-se que a forma obstrutiva é mais recorrente na rotina clínica dos veterinários, alcançando cerca de 17 a 58% dos pacientes felinos com este distúrbio. Assim como o felino em discussão, Sampaio e colaboradores afirmaram que a maioria dos felinos, que desenvolvem essa afecção, são machos, por terem a uretra mais estreita e longa em relação a das fêmeas. Como o animal é castrado, os autores ainda relataram que isso se torna um fator predisponente, pelo fato do animal ficar com menor estímulo hormonal, diminuindo a frequência entre as micções e os passeios, e se restringirem a um ambiente menor. Devido a diminuição dos movimentos, as chances de sedentarismo e obesidade aumentam, e os sedimentos presentes na urina tendem a sofrer decantação e ampliam as chances de obstrução. O estresse causado por esses e outros fatores, que muitas vezes não são descobertos, gera um aumento no índice de cistite idiopática, aparecimento de urólitos e afeta o interesse do animal pela ingestão de água e alimento.

Como foi observado, mudança comportamental, urina em local inadequado, posição constante de micção, dor abdominal ao palpar, bexiga distendida e espessada, dentro outras observações foram feitas durante a consulta, de acordo com Carvalho *et al.*, (2020) o diagnóstico da DTUIF é baseado na história clínica, anamnese, exame físico, palpação abdominal, exames de imagem e culturas de urina, assim como foi feito no caso relatado.

Quanto ao tratamento, a literatura diz que não há um tratamento específico, sendo assim, a escolha de medicamento para o tratamento do caso foi feita de acordo com a demanda do paciente. Mas deve-se observar a resposta, estado que o animal se encontra, história clínica de já ter desenvolvido a doença antes, e no caso de obstrução, o tratamento deve ser considerado de emergência e voltado para desobstrução, estabilização do paciente e prevenção de recidivas (FONSECA, 2019).

Através da análise do caso, juntamente com o estudo feito por Lenzi (2015), uma obstrução prolongada pode levar o animal a desenvolver azotemia pós-renal. Como foi constatado através do exame bioquímico, realizado no caso em questão, constatou-se que havia lesão hepática, pois o valor da enzima ALT foi 68 U/L sendo que os valores de referência utilizados foram de 4.8-24 U/L. Nesse caso, não foram mensurados os níveis de potássio, mas através dos estudos realizados, provavelmente a azotemia gerou um quadro de hipercalemia, devido a excreção do

potássio estar prejudicada. A hipercalemia na fase aguda pode ser corrigida, inicialmente com fluidoterapia, que juntamente com as manobras feitas para voltar o fluxo urinário, irão auxiliar na homeostase do organismo do paciente podendo corrigir também a azotemia e a acidose metabólica.

Lenzi (2015) discutiu sobre a escolha do fluido para a fluidoterapia, que mesmo acrescentado ou já tenha potássio em sua composição, como no caso do ringer com lactato, que é o fluido de escolha nesses casos, esse acréscimo de potássio não será relevante na estabilização do quadro. A autora aconselhou que juntamente a mensuração do potássio, analisar também as concentrações de ureia e creatinina, sendo que no paciente do trabalho em discussão mensuraram ureia e creatinina e foi obtido os seguintes valores: ureia 90.2 mg/dL (valores de referências: 21.4-59.92 mg/dL) e creatinina 0.72 mg/dL (valores de referências: 0.5-1.5 mg/dL).

Tanto Fonseca (2019), quanto Carvalho *et al.*, (2020) alertaram que ao realizar manobras para desobstrução do paciente, como compressão vesical, cistocentese e retrohidropunção, deve-se observar se a bexiga não está muito distendida e sob muita pressão, pois isso pode resultar em ruptura da vesícula urinária e/ou da uretra. Assim, é indicado realizar manobras menos invasivas, como massagem peniana, sistema fechado para coleta de urina através da introdução de uma cateter que irá fazer um canal da uretra até a bexiga, e caso não resolver optar por manobras mais invasivas como a cistocentese, colocação de sonda uretral para realizar a retrohidropunção, ou até mesmo optar por tratamentos cirúrgicos como cistotomia e/ou uretostomia. No caso relatado observou-se que os tratamentos para desobstrução foram feitos corretamente, mas como o tecido estava friável, devido à inflamação da vesícula urinária, ocorreu o aparecimento de fissura e de coágulos, e conseqüentemente, extravasamento de urina para a cavidade abdominal.

Como ocorreu fissuração da bexiga e extravasamento de urina para cavidade abdominal, o procedimento cirúrgico de escolha foi a cistotomia para fazer o reparo da vesícula urinária e lavagem da vesícula na cavidade abdominal. Mas de acordo com Feltrin (2021) e Lenzi (2015), a uretostomia perineal é mais utilizada em pacientes obstruídos, com histórico de recidivas e estenose da uretra, mas de acordo com Lenzi (2015), a própria uretostomia perineal pode gerar estenose uretral, devido a vários fatores, como a abertura da cicatriz ou dos pontos ou até mesmo pelo uso de técnicas incorretas.

No tratamento foi indicado o uso de antibioticoterapia, mas nem sempre o uso desses fármacos é necessário. No entanto podem ser utilizados como forma preventiva nos casos que se realiza a cistocentese, cateterização e sondagem, como foi feito no felino do presente estudo (YEPES; FREITAS; GOMES, 2019). Como a tutora não seguiu a armazenagem recomendada pela empresa do antibiótico prescrito, por isso se tornou uma forma inapropriada de utilização da medicação, podendo contribuir o que pode ter contribuído para o desenvolvimento da recidiva e piora do estado de saúde do paciente (SOZINHO, 2019).

Analisando as receitas que foram encaminhadas para a guardiã na alta, após a recidiva da doença, observou-se a indicação do uso de uma cápsula por dia do Cranberry de 40 mg durante 30 dias e de acordo com Varisco (2020), ainda há poucos estudos, relatando sua eficácia, na medicina veterinária, mas citou que um estudo feito nessa área obteve bons resultados onde o uso do Cranberry impediu a fixação da *Escherichia coli* no trato urinário de cães e gatos. A autora ainda comentou que essa medicação pode ser utilizada como medida profilática contra a DTUIF e expõe que a utilização deste fármaco, na medicina humana, tem resultados positivos contra várias colônias de microorganismo do trato urinário.

Assim como foi aconselhado, à tutora e foi abordado anteriormente, a prevenção, o controle e o tratamento da DTUIF se baseia em um bom manejo alimentar e de onde o felino reside, principalmente se houver mais de um gato. Com isto Feltrin (2021), reforçou essa afirmativa ao recomendar essas práticas, uma vez que elas iriam reduzir o estresse do animal e melhorar sua qualidade de vida.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Após o estudo feito para analisar este caso, foi concluído que a DTUIF é uma doença que pode ser evitada a partir da compreensão e retirada dos fatores estressantes no cotidiano do felino. E com a junção dos trabalhos realizados pelo médico veterinário, pela conscientização e a boa dedicação do tutor para criar um ambiente favorável onde o gato terá uma boa qualidade de vida, a incidência da DTUIF na rotina do clínico pode diminuir, principalmente as causadas por fatores estressantes.

## REFERÊNCIAS

CARVALHO, I.S. *et al.* Uretrostomia perineal em felino - relato de caso. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.17, n.32, p.491- 499, jun.2020.

DE ASSIS, M. F.; TAFFAREL, M. O. Doença do trato urinário inferior dos felinos: abordagem sobre cistite idiopática e urolitíase em gatos. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.15, n.27, p.390-404 jun.2018.

DE SOUSA, D. L. C. *et al.* Estudo retrospectivo da doença do trato urinário inferior de felinos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande no período de 2010 a 2016. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.7, n.3, p.27610- 27627, mar.2021.

DE SOUSA, G. A. S. *et al.* Doenças do trato urinário inferior dos felinos. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, n° 82, Belo Horizonte- MG: FEPMVZ Editora, dez.2016.

FELTRIN, P.L. **Uretrostomia perineal em gato com caso de doença do trato urinário inferior dos felinos (DTUIF) recorrente: relato de caso.** Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Malcon Andrei Martinez Pereira, 2021. 39f. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos- SC, 2021.

FONSECA, A. P. B. **Doença do trato urinário inferior dos felinos: estudo clínico e laboratorial.** Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Ana Maria Quessada; Co-orientador: Prof. O Dr. Marcelo Campos Rodrigues, 2019. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina-Pi, 2019.

GARBINI, A.P.M. **Procedimento operacional padrão- Doença do trato urinário inferior de felinos (DTUIF).** Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Anne Santos do Amaral; Co-orientador: Saulo Tadeu Pinto Lemos Filho.2020. 22f. Monografia apresentada ao Programa de Residência em Área Profissional da Saúde- Medicina Veterinária, ênfase em Clínica Médica de Pequenos Animais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria- RS, 2020.

LACERDA, L. *et al.* Doença do trato urinário inferior dos felinos - Relato de caso. **Revista Eletrônica Biociências, Biotecnologia e Saúde**, Curitiba, n.18, p.94-95 maio-ago. 2017.

LANDIM, C.P. **Estágio supervisionado obrigatório Doença do trato urinário inferior em gatos domésticos: Estudo de casos.** Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nilza

Dutra Alves: Co-orientador: Prof. Dr. Francisco Marlon Carneiro Feijó,2019. 76f.Universidade federal rural do semi- árido, Mossoró- RN, 2019.

LENZI, N.Z. **Doença do trato urinário inferior de felinos**.Orientadora: Dra. Mariane Feser,2015. 23f. Monografia apresentada como para conclusão do Curso de Pós-Graduação, Especialização em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais. Centro de Estudos Superiores de Maceió, da Fundação Educacional Jayme de Altavila, Porto Alegre- RS, 2015.

LOPES, L.C. **Estágio supervisionado obrigatório relato de caso: Doença do trato urinário inferior de felinos**. Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nilza Dutra Alves, 2018. 68f. Universidade federal rural do semi- árido, Mossoró- RN,2018.

MORAES, M. *et al.* Importância do diagnóstico precoce na doença do trato urinário inferior de felinos: relato de caso. **Seminário interinstitucional de ensino, pesquisa e extensão. Ciência e diversidade**,Cruz Alta, XXIII, 4f. out. 2018.

OLIVEIRA,G.S.R. **Abordagem clínica e emergencial da obstrução uretral em um felino- relato de caso**. Orientadora: Prof<sup>a</sup> Débora Passos Hinojosa Schäffer, 2019. 35f. Trabalho de conclusão do estágio supervisionado obrigatório, Universidade Federal de Sergipe, Nossa Senhora da Glória- SE, 2020.

PORTELA,M.E.P. **Doença do trato urinário inferior dos felinos: revisão de literatura**. Orientador: Prof. José Antônio Viana, 2016. 29f. Trabalho de conclusão de curso, UNIFOR, Formiga- MG, 2016.

PORTUGAL, A.F; GUILHERME, C. **Relação entre doenças do trato urinário e fatores de stresse ambiental em gatos**. Orientador: Prof. Dr. Gonçalo da Graça Pereira, 2015. 65f. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado, Universidade Lusófona de Humanidade e Tecnologias, Lisboa- Portugal, 2015.

ROSA, L.S.S. **Doença do trato urinário inferior felino**. Orientador: Prof<sup>a</sup>: Veronica Jorge Babo Terra, 2010.64f. Trabalho de Conclusão de Curso,Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande- MS,2010.

SAMPAIO, K.O.; ALEIXO, G. A. S.; -SOUSA FILHO, R. P.; SILVA, E. C. B..OBSTRUÇÃO URETRAL EM GATOS. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 27, p. 1–12, 2020.

SIQUEIRA,T.S. **Doença do trato urinário inferior dos felinos e suas implicações sistêmicas: revisão de literatura**. Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Erika Toledo da Fonseca; Co-orientador: M.V. MSc. Wilmer Alejandro Zamora Restan, 2020. 61f. Trabalho de Conclusão de curso, Universidade Federal da Paraíba, Areia- PB, 2020.

SOZINHO, A.C.C.F. **Frequência da infecção bacteriana do trato urinário inferior como causa de obstrução uretral felina- Estudo retrospectivo de 60 casos clínicos**.Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Inês Joana Torres Vouga Ribeiro; Co- orientadora: doutora Solange Judite Roque Coelho Alves Gil, 2019. 57f. Dissertação de mestrado integrado em Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa- Portugal, 2019.

VARISCO,C.V. **Relatório de estágio curricular obrigatório: Área de clínica médica e cirúrgica de cães e gatos.** Orientadora: Prof. Me. Fabiana Uez Tomazzoni, 2020. 64f. Trabalho de Conclusão de curso, Universidade de Caxias do Sul,Caxias do Sul- RS, 2020.

XAVIER JÚNIOR, F. A. F. **Utilização de biomarcadores na doença renal aguda em gatos.** Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Janaina Serra Azul Monteiro Evangelista; Coorientador: Dr. Daniel de Araújo Viana, 2019. 109f. Programa de pós- graduação em ciências veterinárias, mestrado acadêmico em ciências veterinárias, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza- CE, 2019.

YEPES, G.E; FREITAS, N.L.N; GOMES, D.E. OBSTRUÇÃO URETRAL EM FELINOS. **Revista Científica**, São José do Rio Preto, v. 1, n. 1, 2019.

## **USO DE IMUNOESTIMULANTES NO TRATAMENTO DA PAPILOMATOSE BOVINA-RELATO DE CASO**

**ACADÊMICOS:** Lucas Vieira Pereira e Sebastião Cecilio Pereira

**ORIENTADOR:** Paulo César Amorim e Amorim

### **RESUMO**

A papilomatose bovina, é uma enfermidade infectocontagiosa, caracterizada por apresentar tumores que se localizam na pele e mucosas. De origem viral, não apresenta predileção por sexo ou raça, porém é mais observada em animais com idade inferior a dois anos e preferencialmente imunossuprimidos. É responsável por prejuízos econômicos devido às lesões ao couro, depreciação do valor do animal, descarte de animais de alto valor zootécnico e queda na produção leiteira e carne. A morfologia dos papilomas permite fácil diagnóstico clínico da enfermidade, o que contribui para identificar e separar os animais acometidos. Embora a erradicação da doença no rebanho seja difícil, pode-se fazer o controle aumentando a imunidade dos animais resultando na regressão da sintomatologia clínica pois, os animais que apresentam papilomas ao se coçarem em troncos, cochos e instalações acabam provocando feridas que contaminam essas instalações e posteriormente outros animais. O objetivo deste trabalho foi descrever um relato de caso de uma novilha que apresentava papilomatose e recebeu os seguintes tratamentos: auto-hemoterapia, babesicidas, clorobutanol, levamizole e autovacina. Ao final do período de tratamento, observou-se remissão completas dos papilomas.

**PALAVRAS CHAVE:** Papilomatose; imunoestimulantes; bovinos.

**LINHA DE PESQUISA:** Clínica e Cirurgia Animal.

### **INTRODUÇÃO**

Diante do cenário atual, o Brasil, ocupa lugar de destaque quanto à produção de bovinos. O rebanho, a produção de carne, o consumo interno e as exportações vem aumentando a cada ano. Da mesma forma, a busca constante por melhores índices produtivos e lucratividade exigem um controle rigoroso de enfermidades que podem ser responsáveis por elevadas perdas econômicas. Por se tratar de uma enfermidade infectocontagiosa de origem viral, crônica, de caráter tumoral benigno, de distribuição mundial, a papilomatose bovina é importante. Os danos causados pelas lesões proliferativas na pele e mucosa são incômodos para os animais, provocando estresse e, conseqüentemente, queda na produção de leite e carne. Além disso, a papilomatose predispõe a ocorrência de infecções bacterianas secundárias e miíase, danificando o couro bem como a desvalorização dos animais a serem comercializados e impedindo-os de participarem em feiras e exposições. Os animais também podem desenvolver extensos papilomas no trato gastrointestinal e,

consequentemente, apresentarem dificuldade para se alimentar e respirar, podendo ficar debilitados e virem a óbito (MONTEIRO, 2008).

O vírus infecta o epitélio escamoso da epiderme e as células da mucosa, sua replicação induz a proliferação anormal e a formação de lesões neoplásicas, denominadas de papilomas. Esses apresentam coloração variando do cinza ao preto, e rosa nas glândulas mamárias. Variam de tamanho apresentando oscilações com média de 0,5 a 2 cm, e em quantidade ocorrendo entre cinco até trezentos papilomas por animal. Estima-se que a baixa prevalência se deve ao fato dos animais infectados nem sempre apresentarem a sintomatologia clínica. Porém, esses, quando submetidos a situações de imunossupressão ou mesmo sofrer lesões em epitélios, podem desencadear o aparecimento dos papilomas, que podem persistirem pôr em média de 8 até 18 meses antes da regressão espontânea. O vírus latente da papilomatose pode ser encontrado em células epiteliais e linfócitos. Apesar do papiloma ser considerado um tumor benigno, pode haver evolução para carcinoma (MARINS, 2004; TOKARNIA *et al.*, 1969).

Na tentativa de curar um animal infectado, diversos tratamentos têm sido utilizados apresentando variáveis eficácias. Dentre os medicamentos usados podemos destacar os imunoestimulantes como levamizole, babesicidas como o diaceturato de diaminazeno, clorobutanol, auto-hemoterapia e autovacinas.

Dessa forma, a papilomatose bovina, tem sido intensamente estudada em função da sua ocorrência nos últimos anos. Pode-se concluir que mais estudos devem ser realizados para analisar o efeito benéfico do uso de imunoestimulantes como tratamento da papilomatose, pois, a sintomatologia clínica está diretamente relacionada a situações de queda do sistema imune. Há uma subestimativa quanto a morbidade do *Papillomavirus* pois, nas propriedades somente os animais clinicamente infectados são computados enquanto a maioria do rebanho apresenta-se em condições subclínicas. Enquanto isso, as medidas preventivas se tornam a melhor forma de manter a sanidade do rebanho, uma vez que a probabilidade de erradicação dessa enfermidade no plantel seja baixa (PHILIP, 1999). O objetivo deste trabalho foi descrever um relato de caso de uma novilha que apresentava papilomatose e recebeu os seguintes tratamentos: auto-hemoterapia, babesicidas, clorobutanol, levamizole e autovacina ao longo de quatro meses.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**



A papilomatose bovina é uma enfermidade infectocontagiosa caracterizada por apresentar tumores que se localizam na pele e mucosa. De origem viral, causada por um DNA vírus que não apresenta preferência por sexo ou raça, mas tem sido observado com mais frequência em animais com idade inferior a dois anos e preferencialmente imunossuprimidos (RADOSTITS *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2004).

Em 1961, ocorreu a identificação sorológica viral do *Papillomavirus*, e em 1963 sua estrutura foi observada em microscopia eletrônica. O nome “papiloma” deriva do latim e significa tumores benignos. Foram identificados 6 tipos diferentes de papilomavírus. Esses foram agrupados de acordo com a afinidade tecidual e tipos de lesões apresentadas, quanto ao aspecto morfológico, podem se apresentar como escamosos, mucosos, planos e pediculares (MARINS, 2004; WITTMANN, 1999).

Em estudo realizado por Veiga (1999), observou-se que, quanto maior o número, menor o seu tamanho. A disseminação pode ser alta visto que os animais infectados podem apresentar lesões sanguinolentas que contaminam as cercas, troncos, infectando os animais sadios que podem não desenvolver a sintomatologia clínica e se tornarem hospedeiros, de forma que uma futura situação de queda na imunidade possa desencadear a replicação viral. Esses animais assintomáticos podem desenvolver uma resposta imunológica se tornando resistentes ao tipo viral específico (SANTIN e BRITO, 2004).

Os prejuízos econômicos causados pela papilomatose bovina incluem a cegueira, o retardo no desenvolvimento, desvalorização do couro, além das lesões servirem como porta de entrada para outras infecções secundárias e miíase. Ocorre a diminuição da produtividade principalmente quando há surgimento de papilomas no úbere dificultando a ordenha e desencadeando a mastite. É ainda responsável pela depreciação do valor do animal em função da dificuldade na comercialização, problemas relacionados com a fertilidade principalmente quando a localização do papiloma é observada na genitália (ROSENBERGER, 1989; RAI *et al.*, 1991; RADOSTITS *et al.*, 2000).

Quando as lesões se localizam nos tetos, além da possível obstrução que pode provocar, causando dor durante a ordenha, há redução dos mecanismos naturais de defesa do úbere, predispondo o aumento dos patógenos bacterianos resultando em mastite. Assim, a perda no setor leiteiro pode ser relativamente acentuada visto que quando o diagnóstico se torna possível, o tratamento nem

sempre é eficaz, sendo por fim o descarte desse animal que muitas vezes tem um alto valor zootécnico (ROSENBERGER, 1989; FREITAS *et al.*, 2003).

### **Transmissão do Papilomavírus**

A disseminação do vírus ocorre por contato direto sendo a porta de entrada o epitélio sensível a lesões ou irritações, através do contato sexual, ou ainda de forma indireta, por meio de instalações e equipamentos contaminados. O animal acometido produz anticorpos específicos contra o tipo de papilomavírus qual foi exposto, não apresentando resposta cruzada para os outros diferentes tipos (CAMPO, 1997).

O período de incubação do vírus da papilomatose bovina é de aproximadamente 3 a 4 meses. Trata-se de uma doença de curso longo que pode durar até 9 meses, podendo chegar aos 18 meses em animais imunossuprimidos. Entretanto, cerca de 85% dos casos são autolimitantes e apresentam regressão espontânea (CORRÊA & CORRÊA, 1992).

O vírus pode despertar em animais saudáveis a imunidade humoral e citomediada promovendo, portanto, a cura espontânea da doença. Entretanto, a resposta ao tratamento pode variar de animal para animal e a regressão da sintomatologia clínica pode levar um longo período. Assim, para evitar a propagação viral, os animais vindos de outras propriedades devem passar por uma quarentena para posteriormente serem inseridos no rebanho. Bem como os animais acometidos clinicamente devem ser separados e tratados isolados, sem compartilhar instalações e equipamentos (CORRÊA & CORRÊA, 1992; BEZERRA *et al.*, 1994; MURPH *et al.*, 1999; NASCIMENTO, 2002; FOZ E FILHO, 2003).

Sabe-se que a doença está amplamente difundida nos rebanhos bovinos brasileiros e que o número de casos descritos na literatura é muito menor do que a realidade, visto que, na maioria das propriedades somente os animais clinicamente infectados são computados enquanto a maioria do rebanho apresenta-se em condições subclínicas. Enquanto isso, as medidas preventivas se tornam a melhor forma de manter a sanidade do rebanho, uma vez que a probabilidade de erradicação dessa enfermidade no plantel seja baixa (PHILIP, 1999).

Embora existam vários tratamentos citados em literatura, a busca de novos protocolos se faz necessário devido à baixa taxa de cura quando testada a campo, gerando prejuízos para o produtor pelo descarte de animais de alto valor zootécnico. Existem evidências comprovando a infecção latente pelo vírus da papilomatose

bovina na forma epissomal que pode ser ativada por trauma físico ou imunossupressão (ABDOUSLOM *et al.*, 1997; CAMPO, 1997).

O vírus conserva-se ativo em temperaturas de 4°C por até 90 dias e 180 dias a -70°C, além de sobreviver em glicerina 50% ou quando liofilizado. É resistente a solventes lipídicos, éter e pH de 3 a 7,5. Porém, pode ser inativado a temperatura de 60°C por 30 minutos bem como em formalina 10% (MAYR e GUERREIRO, 1988; MURPH *et al.*, 1999).

### **Taxonomia**

O vírus pertence à família Papillomaviridae, gênero Papillomavírus. Apresentam cerca de 44nm de diâmetro, com nucleocapsídeo icosaédrico com 72 capsômeros arranjados em T e ausência de envelope viral (OLIVEIRA, 1994).

O genoma da papilomatose bovina é geneticamente ativo e integra-se ao genoma da célula infectada, favorecendo-se da maquinaria da célula hospedeira para replicação do DNA viral. As etapas da replicação viral como penetração, transporte para o núcleo, desnudamento e transcrição viral ainda são pouco esclarecidas (SANTOS, 2014; LINDSEY, 2009).

Há 6 tipos de vírus da papilomatose bovina. Esses são o BPV-1, BPV-2, BPV3, BPV-4, BPV-5 E BPV-6.

### **BPV-1**

O BPV-1 apresenta peso molecular de 7,9kps. É responsável pela formação de fibropapiloma cutâneo de forma plana. Apresenta predileção por tetas, focinho e glândula peniana. É mais comum em animais de 2 anos de idade e apresenta regressão espontânea (BLOCH *et al.*, 1997; FREITAS *et al.*, 2003; CARVALHO *et al.*, 2003).

### **BPV-2**

O BPV-2 apresenta peso molecular de 7,9kps. É responsável pela formação de fibropapiloma cutâneo (BLOCH *et al.*, 1997). É o tipo mais comum de papiloma, apresenta-se na forma pedunculada. Pode ser encontrado em lesões na região peitoral, pescoço e cabeça. É mais comum em animais de 2 anos de idade e

apresenta regressão espontânea. Quando associado a substâncias cancerígenas como a *Pteridium aquilinum* pode resultar em carcinomas de células escamosas na bexiga e ainda evolução para hematúria enzoótica bovina (DIAS *et al*, 2012).

### **BPV-3**

O BPV-3 apresenta peso molecular de 7,2kps. É responsável pela formação de lesões epiteliais e cutânea sem predileção fibroblástica. Esse tipo viral está relacionado com neoplasias cutâneas. Pode ser encontrada em qualquer parte do corpo com certa predileção por cabeça e pescoço. Não apresenta regressão espontânea. Pode ser responsável pelo carcinoma de células escamosa ocular de bovinos (SMITH, 1993).

### **BPV-4**

O BPV-4 apresenta peso molecular de 7,2kps. É responsável pela formação de lesões cutânea sem predileção fibroblástica. Pode ser isolado principalmente do canal alimentar. Esse tipo viral está relacionado com hiperplasia do epitélio escamoso não estratificado. Apresenta-se na forma pedunculada no trato gastrointestinal, podendo progredir para malignidade (MURPHY, 1999).

### **BPV-5**

O BPV-5 apresenta peso molecular de 7,9kps. É responsável pela formação de lesões epiteliais sem comprometimento fibroso (BLOCH *et al*, 1997). Esse tipo viral está relacionado com fibropapiloma cutâneo. Apresenta aspecto liso, branco e plano. Está presente em bicos de tetas e não apresenta regressão espontânea (SMITH, 1993).

### **BPV-6**

O BPV-6 apresenta peso molecular de 7,2kps. É responsável pela formação de lesões cutâneas sem predileção fibroblástica. Isolado principalmente em lesões na pele. Esse tipo viral está relacionado com neoplasias cutâneas. Pode ser isolado de tetos cujo papiloma se apresentava com aspecto redondo, plano e achatado

(ONIONS,1997).

### **Morfologia dos Papilomas**

Os 6 tipos diferentes de papilomavírus identificados, foram agrupados de acordo com a afinidade tecidual e tipos de lesões apresentadas. Dessa forma, o grupo I é composto por BPV-3 e BPV-6 que induzem neoplasia cutânea, o grupo II é composto pelo BPV-4 que induz hiperplasia do epitélio escamoso não estratificado e o grupo III com o BP-1, BPV-2 e BPV-5 que induzem um fibropapiloma cutâneo. Quanto ao aspecto morfológico podem se apresentar como escamosos, mucosos, planos e pediculares (MARINS, 2004).

### **Escamosos**

Os papilomas ditos escamosos apresentam predileções por tecido estratificado onde é capaz de proliferar-se. São mais comuns em bovinos jovens e nas regiões dos olhos, cabeça, pescoço e ombros (LINDSEY *et al*,2009).

### **Mucosos**

Os papilomas mucosos apresentam afinidade pelas mucosas e possuem aspecto de nódulos encapsulados circunscritos (LINDSEY *et al*, 2009).

### **Planos**

Os papilomas planos, promovem queratinização da camada superficial e espessamento da epiderme, apresentam-se como nodulações arredondadas e pouco salientes ou achatados, com base de inserção ampla, caracterizando-se por lesões circulares em longas áreas do corpo do bovino. A coloração destes variam entre o branco e o negro. Apresenta pelos e seu tamanho varia entre 0,5 a 6 centímetros de diâmetro, não se destacando da pele com facilidade, sendo necessária a intervenção cirúrgica. (SANTIN E BRITO, 2003).

### **Pediculares**

Os pediculares são neoformações epiteliais em forma de dígitos e estão

associadas aos casos de mastite por estarem presentes em tetas e promover dor durante a ordenha. Esses apresentam regressão no período seco e reincidem na lactação, apresentam uma base de inserção ampla, superfície irregular, cornificada, dura e sem a presença de pêlos. Apresenta coloração acinzentada a negra com tamanho entre 1 a 10 centímetros de diâmetro (SANTIN E BRITO, 2003; MONTEIRO *et al.*, 2008).

### **Imunoestimulantes Usados no Tratamento da Papilomatose Bovina Auto-hemoterapia**

A auto-hemoterapia é uma técnica que apresenta baixo custo. Consiste em retirar de 10 a 40 ml de sangue do animal acometido e injetá-lo novamente por via intramuscular ou subcutânea, estimulando uma resposta imunológica que pode resultar na regressão das demais lesões. Os resultados hematológicos com o uso da auto-hemoterapia, caracterizados por leucocitose com linfocitose, eosinofilia e monocitose são sugestivos de ativação do sistema imunológico. Após injetar o sangue, inicia-se a degradação dos eritrócitos. Ocorre aumento no nível de anticorpos, que se ligam aos produtos provenientes da degradação celular, neutralizando-os, resultando na elevação dos níveis de linfocitotóxicas na circulação sanguínea. A utilização da auto-hemoterapia no tratamento da papilomatose cutânea bovina, pode ser associado ao clorobutanol ou a babesicidas para obtenção de melhores resultados (GONÇALVES, 2019; SPADA *et al.*, 2013; GOMES *et al.*, 2014; OLIVEIRA, 2020).

### **Babesicidas**

O aceturato de diminazeno é um quimioterápico sintético, comercializado na forma de sal (diaceturato), comumente utilizado em medicina veterinária no tratamento de doenças parasitárias, como; babesiose e tripanossomíase. Recentemente, constatou-se que o fármaco é capaz de modular o sistema imune do hospedeiro, sugerindo que tenha também potentes propriedades anti-inflamatórias e por se tratar de um agente quimioterápico, atua sobre os papilomas (KURIAKOSE & UZONNA 2014; SILVA *et al.* 2008).

O uso de babesicidas também tem sido utilizado principalmente quando há infestação por carrapatos, entre eles o mais usado o diaceturato de diaminazeno. A

infecção por anaplasmosose ou babesiose afeta a resistência imunológica do hospedeiro podendo o vírus da papilomatose se reproduzir em tal circunstância. Mesmo com o tratamento, os animais podem se tornar portadores crônicos da doença e continuar suscetíveis a reinfecção. Os animais jovens apresentam melhores respostas imunológicas devido aos anticorpos colostrais, além de maior resposta celular e eritropoiese (CARVALHO, 1967).

O diaceturato de diaminazeno, apresenta ação antiprotozoária atuando como tripanocida e babesicida, além de possuir uma ação bactericida, principalmente *Brucella sp.* e *Streptococcus sp.* Para ruminantes as dosagens preconizadas são de 3,5 mg/ kg por via intramuscular profunda em dose única, ou a cada 15 dias com duração de 4 a 8 semanas (SPINOSA, 2002).

### **Clorobutanol**

O clorobutanol considerado um antisséptico e também anestésico local, segundo recomendações do fabricante UCBvet, pode causar regressão dos papilomas entre 15 e 60 dias sem aparecimento de recidiva. O mecanismo de ação ainda não foi totalmente elucidado, porém, acredita-se que o clorobutanol atua no metabolismo celular inibindo a replicação viral e possivelmente aumentando a resposta imune ou a síntese de interferon. Promove um estímulo para o sistema imunológico visando quebrar a condição de “tolerância” do organismo animal ao vírus da papilomatose, porém a capacidade de reatividade do sistema imunológico inerente a cada indivíduo é importante (ANDRADE, 2017).

A dose para bovinos consiste em 1ml para cada 10 kg de peso vivo, por via subcutânea de três em três dias no total de três aplicações. Em casos de papilomas de mama pode ser feito também uso tópico diário com a utilização de pincel por período de até 10 dias. Em casos refratários ao tratamento deve-se considerar a possibilidade do animal ser portador de deficiência de atividade do sistema imune podendo ser de origem genética (VERRUCLIM bula).

### **Levamisole**

O levamisole é um anti-helmíntico com propriedades imunomoduladoras. Atua estimulando células efectoras envolvidas no processo de imunidade de células imunomediadoras, bem como indiretamente pode aumentar a produção de

anticorpos. A atividade imunológica, acontece por ativação e estimulação da proliferação das células t, monócitos e macrófagos, aumentando a quimiotaxia e fagocitose bem como o aumento da motilidade de neutrófilos.

O levamisole é um medicamento comumente utilizado e muitas vezes associadas a auto-hemoterapia. Também foi relatado o aumento na atividade de leucócitos em seres humanos. Em humanos, a estimulação da atividade dos linfócitos no sangue periférico, o aumento dos níveis de imunoglobulinas e formação de anticorpos tem sido historiado. O efeito do levamisole sobre as células do sistema imune, principalmente linfócitos T, monócitos e neutrófilos, parece ser mais evidente quando em pacientes em condições de imunodepressão tratados com a droga. A dose recomendada para bovinos é de 1ml para cada 20 kg de peso vivo, por via subcutânea ou intramuscular (SPINOSA, 2002).

### **Autovacina**

A técnica consiste em colheita das lesões de papilomas do bovino, anteriormente submetido a assepsia com água e sabão e secagem. O material colhido é então lavado primeiramente com éter e posteriormente com solução salina fisiológica, após lavagem é pesado e triturado em liquidificador com 5ml de solução fisiológica para cada grama de tecido. Faz-se a refrigeração por 48 horas, filtra-se e adiciona-se 50% do volume total de glicerina estéril e 50% de solução fisiológica, e ainda formaldeído 0,5% para inativação viral. Em seguida, refrigera-se por mais 48 horas. Após, adiciona-se penicilina 2000 ui e 2mg de estreptomicina para cada ml de vacina e refrigera-se a 4°C por 96 horas (HARTMANN *et al.*, 2002).

A vacina então é aplicada por via subcutânea, utilizando-se na primeira a dose de 15 ml/animal e na segunda apenas 10 ml, na terceira 15 ml e na última aplicação utiliza-se 10 ml, finalizando todo o processo de aplicação da vacina. O intervalo entre as doses pode ser de 7 dias. A autovacina pode apresentar uma boa resposta ao sistema imunológico, porém, somente ao tipo viral homólogo ao da vacina (SILVA *et al.*, 2019; HAMA, 1988).

### **Comparação da Eficácia dos Diferentes Tratamentos da Papilomatose Bovina**

Na tentativa de curar um animal infectado diversos tratamentos têm sido utilizados apresentando variável eficácias. Alguns consistem em remoção cirúrgica,



sendo utilizados quando há um menor número de papilomas (VERÍSSIMO, 2002).

De qualquer forma, independentemente do tratamento de escolha, cabe ressaltar que as medidas profiláticas são sempre a melhor forma de manter o rebanho saudável. Assim, ao adquirir animais de outras propriedades deve se realizar a quarentena. Em casos de animais infectados separá-los dos demais e iniciar o tratamento o mais rápido possível tornando o prognóstico favorável, pois sabe-se que esses podem evoluir para carcinoma de células escamosas de caráter maligno. Deve-se promover a boa higienização dos materiais utilizados bem como das instalações (NASCIMENTO, 2002; FOZ e FILHO, 2003).

Em caso de lesões na teta, as vacas devem ser ordenhadas por último prosseguida de completa higienização da ordenhadeira. No caso de uso de vacinas preventivas deve-se vacinar animais com 4 semanas de idade, repetir após 3 semanas e aos 12 meses de idade. Já nos animais acometidos recomenda-se o uso de uma dose a cada 10 dias, totalizando 3 doses e reforços a cada 6 meses. Os animais que não respondem as terapias devem ser eliminados para evitar a propagação da enfermidade (PANGTY *et al.*, 2010; MONTEIRO *et al.*, 2008).

Em estudo realizado por Santin e Brito (2004), onde compararam a eficácia de diferentes tratamentos utilizados para a papilomatose bovina em rebanhos leiteiros, observaram que o tipo de papiloma influenciou na resposta dos animais tratados. Sendo que os animais acometidos por dois tipos de papilomas ao mesmo tempo não apresentaram resposta satisfatória com nenhum dos tratamentos utilizados. Enquanto animais que apresentaram papilomas pedunculados demonstraram uma resposta melhor quando comparado aos papilomas planos.

Observou-se ainda que, no experimento citado, independentemente do tratamento utilizado, houve uma resposta satisfatória a partir da terceira semana após início dos tratamentos. Concluíram que entre os tratamentos com auto-hemoterapia, clorobutanol, diaminazina, levamizole e autovacina, apenas o levamizole não se destacou, e a autovacina, foi mais eficiente em animais jovens com papilomas pedunculados enquanto o clorobutanol e a diaminazina se mostraram mais eficazes em adultos com papilomas planos (SANTIN e BRITO 2004).

Em estudo realizado por Valentin (2021), realizou-se o tratamento com aplicações de clorobutanol na dosagem de 0,2mg/kg/SC, realizada por três dias consecutivos, juntamente com a aplicação de sangue venoso, autohemoterapia, na

dose de 15 ml/IM, com intervalo entre as aplicações de 7 dias, totalizando 6 aplicações e a aplicação de suplemento minerais (Fosfosal®) a cada 5 dias na dose de 10ml/IM, totalizando 8 aplicações. Obtiveram resposta positiva com redução na apresentação clínica dos papilomas em aproximadamente 33% dos animais tratados. Acredita-se que a suplementação com Fosfosal® gera aumento dos níveis de citocinas, assim como IL- 1 e TNF estimulando a produção de IL-6 pelas células musculares lisas, aumentando a expressão de macrófagos e como consequência aumento da imunidade. Da mesma forma, como os níveis séricos de selênio, fósforo, potássio, magnésio e cobre associados na suplementação, se apresentam como moduladores da resposta imune, favorecendo o aumento da concentração de imunoglobulinas sérica.

Assim, com esses resultados obtidos a campo, pode-se concluir que a autohemoterapia pode trazer resultados satisfatórios na redução dos papilomas em bovinos, porém, fatores como a condição corporal e imunológica individual tem influência na expressão dos resultados.

Trevisani (2015), concluiu em estudo que a auto-hemoterapia foi capaz de estimular a resposta imunológica dos indivíduos por promover aumento do número de monócitos e também das imunoglobulinas. Sabendo que quando o organismo é agredido por agentes infecciosos ou parasitários, o sistema imunitário em seus vários compartimentos é acionado a fim de destruir ou neutralizar o agressor. Tanto a imunidade mediada por células, como a mediada por plasmócitos, produtores das imunoglobulinas são complementadas pelos macrófagos, para impedir a ação patogênica do agente invasor.

Fato confirmado por Silva *et al* (2019), que descreveram sobre a auto-hemoterapia promover um estímulo do sistema imunológico pela ativação do sistema mononuclear fagocitário, provocando uma maior produção de macrófagos, fortalecendo o sistema de defesa do organismo bem como aumento no número de anticorpos circulantes contra o papiloma, pois ao introduzir o sangue na musculatura, o organismo o reconhece como um corpo estranho, estimulando então a produção de mais macrófagos para a corrente sanguínea, o que leva a eliminação da enfermidade.

Gonçalves (2019), comparou 2 métodos de tratamento para a papilomatose bovina sendo a auto-hemoterapia e autovacina. Constatou que as vacinas, são bem sucedidas, porém, os fatores que afetam o resultado ainda não são conhecidos e

que a resposta imunitária desenvolvida seja tipo-específica, ou seja, protege apenas contra o vírus homólogo ao da vacina. Sendo assim, animais tratados com a autovacina, não alcançaram a cura completa dos papilomas e que 62,5% apresentaram resposta positiva ao tratamento.

Esse fato foi confirmado por Capellaro *et al.*, 1978, que afirmaram que a vacina ameniza o problema, mas não o resolve definitivamente. Para Gonçalves (2019), houve uma maior eficácia do tratamento com a autohemoterapia nos animais com papiloma do tipo pedunculado e com um grau de infecção de leve a moderado e com autovacina mostrando-se mais eficaz em papilomas planos (JARRET 1990; CAMPO 1997; SILVA *et al.*, 2001).

## **RELATO DE CASO**

O caso relatado ocorreu em 2021, na Fazenda Vista Alegre em Minas Gerais. O animal do relato é uma novilha da raça Gir, com 17 meses de idade, aproximadamente 200 kg, escore corporal de 3,5 e papilomas na região da barbeta e cervical. Os papilomas encontrados foram diagnosticados de forma clínica e o animal foi avaliado conforme a quantidade de papilomas presentes ao início e ao fim do protocolo. Os seguintes tratamentos foram realizados: auto-hemoterapia, clorobutanol, diaceturato de diaminazeno, levamisole, sulfato de cobre tópico a 3% e um suplemento mineral e vitamínico (Cobalzan). O tratamento iniciou-se no dia 25 de junho de 2021 e foi finalizado no dia 05 de setembro de 2021 conforme descrito no quadro abaixo.

**Quadro 1.** Protocolo com imunostimulantes para tratamento da papilomatose bovina.

DATA	MEDICAMENTO	DOSE	VIA DE APLICAÇÃO
25/06/21	AUTO-HEMOTERAPIA	15 mL	INTRAMUSCULAR
25/06/21	CLOROBUTANOL (VERRUCLIN)	10 mL	SUBCUTÂNEA
25/06/21	DIACETURATO DE DIAMINAZENO	10 mL	INTRAMUSCULAR
25/06/21	SULFATO DE COBRE	3%	TÓPICA
28/06/21	CLOROBUTANOL (VERRUCLIN)	10 mL	SUBCUTÂNEA
01/07/21	SULFATO DE COBRE	3%	TÓPICA
01/07/21	CLOROBUTANOL (VERRUCLIN)	10 mL	SUBCUTÂNEA
02/07/21	AUTO-HEMOTERAPIA	15 mL	INTRAMUSCULAR
02/07/21	COBALZAN (COBRE, B12, COBALTO, FERRO)	10 mL	INTRAMUSCULAR
05/07/21	LEVAMIZOLE	8 mL	SUBCUTÂNEA
06/07/21	SULFATO DE COBRE	3%	TÓPICA
09/07/21	AUTO-HEMOTERAPIA	15 mL	INTRAMUSCULAR
11/07/21	SULFATO DE COBRE	3%	TÓPICA
16/07/21	AUTO-HEMOTERAPIA	15 mL	INTRAMUSCULAR
16/07/21	DIACETURATO DE DIAMINAZENO	10 mL	INTRAMUSCULAR
16/07/21	COBALZAN (COBRE, B12, COBALTO, FERRO)	10 mL	INTRAMUSCULAR
16/07/21	SULFATO DE COBRE	3%	TÓPICA
21/07/21	SULFATO DE COBRE	3%	TÓPICA
23/07/21	AUTO-HEMOTERAPIA	15 mL	INTRAMUSCULAR
26/07/21	SULFATO DE COBRE	3%	TÓPICA
30/07/21	AUTO-HEMOTERAPIA	15 mL	INTRAMUSCULAR
30/07/21	COBALZAN (COBRE, B12, COBALTO, FERRO)	10 mL	INTRAMUSCULAR
05/08/21	LEVAMIZOLE	8 mL	SUBCUTÂNEA
06/08/21	DIACETURATO DE DIAMINAZENO	10 mL	INTRAMUSCULAR
05/09/21	LEVAMIZOLE	8 mL	SUBCUTÂNEA

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O diagnóstico da papilomatose foi realizado clinicamente através da observação dos papilomas presentes nos animais, concordando com Monteiro, (et al, 2008). Dados os prejuízos econômicos causados pela papilomatose bovina, bem como a dificuldade de erradicação, por se tratar de uma doença viral contagiosa, manifestada em animais imunossuprimidos, os tratamentos usados visam desencadear uma reação imunológica através do uso de imunoestimulantes com intuito de reverter a sintomatologia clínica da doença, visto que a transmissão da mesma se dá principalmente através de lesões nos papilomas dos animais

contaminados, que contaminam objetos, cercas, troncos e posteriormente infectam os demais animais.

Observou-se uma resposta satisfatória a partir da terceira semana após o início do tratamento, concordando Santin e Brito (2004). Pode-se verificar que o resultado foi visivelmente positivo. Houve reversão da sintomatologia clínica após o uso dos imunostimulantes. Dessa forma mais estudos devem ser realizados com objetivo de analisar o efeito benéfico do uso de imunostimulantes como tratamento da papilomatose bovina, pois, a sintomatologia clínica está diretamente relacionada a situações de queda do sistema imune e que há uma subestimativa quanto a morbidade do Papillomavírus, concordando com PHILIP (1999).



**Figura. 1. Animal 3 dias após início do tratamento.**  
Fonte: arquivo pessoal (28/06/21)



**Figura. 2. Animal 18 dias após início do tratamento.**  
Fonte: arquivo pessoal (13/07/21)



**Figura. 3. Animal 38 dias após início do tratamento.**  
Fonte: arquivo pessoal (2/08/21)



**Figura. 4. Animal 97 dias após início do tratamento.**  
Fonte: arquivo pessoal (30/09/21)



Figura. 5. Animal 4 meses após início do tratamento.  
Fonte: arquivo pessoal (23/10/21)



Figura. 6. Junho, julho, agosto setembro.  
Fonte: arquivo pessoal (23/10/21)

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Visto que, os tratamentos quando utilizados à campo apresentam variável eficácia, as medidas profiláticas de quarentena, tanto de animais recém chegados como animais que apresentam sintomatologia clínica, e higienização das instalações tornam-se indispensáveis para evitar a propagação da doença.

Os imunostimulantes como a auto-hemoterapia, o levamisole, diaceturato de diaminazeno contribuem para o controle da doença por aumentar a resposta imunológica do animal e consequentemente reverter a sintomatologia clinica evitando a propagação da doença.

## REFERÊNCIAS

ABDOUSLAM, O.E., LEVKUT, M., LEVKUTOVÁ, M., REVAJOVÁ, V., ONDREJKA, R., BENISEK, Z. Imunohistochemistr of the Progressive and Regressive Saes of Bovine Papilomatosis. **Acta Vet. Brno**, 66(4):245-248. Slovak Republic. 1997.

ANDRADE, SILVIA FRANCO. **Manual de Terapêutica Veterinária**. 1ª Edição. Rio de Janeiro – RJ. 2017. Pdf. disponível em:

[https://www.ufrb.edu.br/ccaab/images/AEPE/Divulga%C3%A7%C3%A3o/LIVROS/Manual\\_de\\_Terap%C3%AAutica\\_Veterin%C3%A1ria\\_-\\_1%C2%AA\\_Edi%C3%A7%C3%A3o\\_-\\_Silvia\\_Franco\\_Andrade\\_-\\_2017.pdf](https://www.ufrb.edu.br/ccaab/images/AEPE/Divulga%C3%A7%C3%A3o/LIVROS/Manual_de_Terap%C3%AAutica_Veterin%C3%A1ria_-_1%C2%AA_Edi%C3%A7%C3%A3o_-_Silvia_Franco_Andrade_-_2017.pdf)

BLOCH, N., SUTTON, R.H., BREEN, M., SPRADBROW, P.B Identification of papillomaviruses in scrapings from bovine warts by use of the polymerase chain reaction. **Veterinary Research Communications**, 21 (1): 63-68. 1997.

BEZERRA, M. J. G., SOARES, P.C., BEZERRA, R. Avaliação da Imunização Contra Papilomatose Bovina com as Vacinas Atenuadas e Inativadas. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Uruguaiana. 16(3): 98-1001. 1994.

CAMPO, M.S., Vaccination against papillomavirus in cattle. Clin. **Dermatol.** 15, 275-283. New York, NY. 1997.

CAPPELARO, C.E.M.P.M.; RIBEIRO, L.O.C.; MUELLER, S.B.K.; PIEGAS, N.S. Estudo da morfologia e histopatologia de diferentes tipos de papilomas bovinos. **Biológico**. v.44, p.307-316, 1978.

CARVALHO, C., FREITAS, A.C., BRUNNER, O., YAGUIU, A., BEÇAK, W., STOCO DOS SANTOS, R.C Detection of bovine papillomavirus DNA sequences in bovine gametes and reproductive tract. In: XIV Encontro Nacional de Virologia. Florianópolis. **Journal of the Brazilian Society for Virology**, 8 (1): 166. 2003.

CARVALHO, F. V. et al. Tratamento da Papilomatose Bovina pelo Diaceturato. **Rev. Fac. Med. Vet.** São Paulo, V.7, n.3, 14f.1967.

CORRÊA, W.M., CORRÊA, C.C.M. **Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Medsi, 843p. 1992.

DIAS, J.D.C. et al. Detecção do papilomavírus bovino tipo 2 em bexigas de bovinos com Hematúria Enzoótica pela técnica de reação em cadeia de polimerase no sul do Espírito Santo, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, p. 146-151, 2012.

FREITAS, A.C., BRUNNER, O., BEÇAK, W., STOCO DOS SANTOS, R.C Analysis of BPV DNA sequences in peripheral blood of bovines affected by cutaneous papillomatosis: evidences of virus localization inside blood cells. In: XIV Encontro Nacional de Virologia. Florianópolis. **Journal of the Brazilian Society for Virology**, 8 (1): 167. 2003.

FOZ FILHO, R.P.P., LUCAS, R., MAIORKA, P.C., YOSHINO, M. L. Retirada Cirúrgica de Fibropapiloma Equino por Meio de Cirurgia. In; V Congresso Brasileiro de Medicina e Anestesiologia Veterinária. Rio de Janeiro: **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, 9(1):282-283. 2002.

GOMES, V.C.L.; MOREIRA, F.M.; REZENDE, J.V. et al. Auto-hemoterapia como tratamento auxiliar para melanocitoma em equino: **relato de caso**. In: **CONFERÊNCIA ANUAL DA ABRAVEQ**, 15. Anais, Campos do Jordão, trab. 235, 2014.

GONÇALVES et al., Uso da Hemoterapia e da Autovacina como Protocolos de Tratamentos Contra Papilomatose Bovina. **Multi-Science Journal**, v.2, n. 1. P.89-92. Chapecó – SC. 2019. Disponível

em:

<https://periodicos.ifgoiano.edu.br/index.php/multiscience/article/view/973/789>

HAMA, C., MATSUMOT, T., FRANCESCHINI, P.H. Papilomatose bovina: avaliação clínica de diferentes produtos usados no controle e tratamento. **Ciência Veterinária**, 2 (2):14-15. Goiás. 1988.

HARTMANN, WELINGTON *et al.* Vacina autógena para o tratamento da papilomatose bovina . **Ciência e Cultura**, n. 31, FACIAG 02, p. 107-112, Curitiba, jun. 2002.

JARRET, W.F.H., O'NEIL, B.N., GAUKROGER, J.M., SMITH, K.T., LAIRD, H.M.,CAMPO, M.S Studies on vaccination against papillomaviruses the immunity after infection and vaccination with bovine papillomaviruses of differenttypes. **Veterinary Records**, 126 (18): 473-475. 1990.

KURIAKOSE S. & UZONNA J.E. Diminazene aceturate (Berenil), a new use for an old compound? **International Immunopharmacology** 21:342- 345, 2014.

LINDSEY, C.J. *et al.* Bovine papillomavirus DNA in milk, blood, urine, semen, and spermatozoa of bovine papillomavirus-infected animals. **Genetics and Molecular Research**, v. 8, n. 1, p. 310-318. São Paulo – SP. 2009.

MARINS, R. S. Q. S. Epidemiologia da Papilomatose Cutânea Bovina e Avaliação da Eficácia de Diferentes Tratamentos em Microrregiões dos Estados do Rio de Janeiro e Espírito santo. Carlos Travassos, 2004.127 f. **Tese**, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytaguases, 2004.

MAYR, A., GUERREIRO, M.G. **Virologia Veterinária**. 3.ed. Porto Alegre: Editora Sulina, 476p. 1988.

MONTEIRO, V. C. *et al.* Descrição Clínica e Histopatológica da Papilomatose Cutânea Bovina. **Ciência Animal Brasileira**. v.9, n.4, p.1079-1088, out./dez. Pernambuco. 2008.

MURPH, F. A., IBSS, P. J., HORZINEK, M. C., STUDDERT, M. J. **Veterinary Virology**, 3. Ed., Academic Press, p.629.1999.

NASCIMENTO, E. F. Papilomatose bovina: causas, características e tratamento, <http://www.ipeve.com.br>, em 15/04/2002.

OLIVEIRA, L.H.S Vírus oncogênicos. In: Oliveira, L.H.S (ed.) **Virologia Humana**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, p. 302-314. 1994.

OLIVEIRA, A. E. S. e CARMO, J. P. Auto-Hemoterapia Como Tratamento da Papilomatose Bovina. **Scientia Generalis** 2675-2999. V.1, N.3, P. 114-120. Patos de Minas – MG. 2020.

ONIONS, D. Papillomaviruses: progress for human and veterinary medicine.



**Veterinary Journal**, 154(3): 171-172. Campo – MS. 1997.

PANGTY et al., Preliminary binary ethylenimine (BEI) inactivated bovine papillomavirus (BPV) vaccine trial against cutaneous warts in bull calves: a pathological assessment. **Braz J Vet Pathol**, 2010, 3(2), 105-110.

PHILIP K. N; STANLEY M. A. **The immunology of animal papillomaviruses**. Department of Pathology, University of Cambridge, Tennis Court Road, Cambridge, CB2 1QP, UK Received 13 July 1999; received in revised form 27 October 1999; accepted 1 November 1999.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. Clínica veterinária.

**Um tratado de doenças dos bovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, 1735p.

RAI, R. B., SAHA, P., SRIVASAVA, N., NARAJAN, V. Bovine Papillomatosis in Andaman and Nicobar. **Indian Veterinary Journal**, 15:71-72. 1991.

ROSENBERGER, G. **Exame clínico dos bovinos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1989. 419p.

SANTIN, Ana Paula Iglesias e BRITO, Luiz Augusto Batista. Caracterização anatomopatológica da papilomatose cutânea em bovinos leiteiros. In: **XI Encontro Nacional de patologia veterinária**, São Paulo, p.220. 2003.

SANTIN, Estudo Da Papilomatose Cutânea Em Bovino Leiteiro: Comparação De Diferentes Tratamentos. **Ciência Animal Brasileira**. V.5, n.1 p39-45, jan/mar. 2004.

SANTOS, E.U.D, et al. Detection of Different Bovine Papillomavirus Types and Co-infection in Bloodstream of Cattle. **Transboundary and emerging diseases**, 2014.

SILVA, L.A.F.; SANTIN, A.P.I.; FIORAVANTI, M.C.S.; DIAS FILHO, F.C.; EURIDES, D. Papilomatose bovina: comparação e avaliação de diferentes tratamentos. **A Hora Veterinária**. Porto Alegre, v.21, n.121, p.55-60, 2001.

SILVA, L.A. F.; VERÍSSIMO, A. C. C.; FERREIRA, M. R.; MATOS, E. S.; VIANA FILHO, P. R. L.; FIORAVANTI, M.C.S.; BRAGA, C.A.S.B.; CASTRO, G.R. Papilomatose cutânea bovina: revisão de literatura. **A Hora Veterinária**, v. 22, n. 127, p. 27-31, 2002

SILVA, L.A.F. Eficiência Da Repetição De Diferentes Protocolos De Tratamentos Para Papilomatose Bovina Efficiency Of Repeating Different Treatments Protocols For Bovine Papillomatosis. Revista **da FZVA**. Uruguaiana, v.11, n.1, p. 153-165. 2004.

SILVA A.S., TOCHETTO C., ZANETTE R.A., PIEREZAN F., RISSI D.R., SANTURIO J.M. & MONTEIRO S.G. Aceturato de Diminazeno e Dipropionato de Imidocarb no Controle de Infecção por Trypanossoma Evansi em Rattus Norvegicus Infectados Experimentalmente. **Ciência Rural** 38: 1357-1362, 2008.

SILVA, P. T. F., FERREIRA, E. S., FERREIRA, P. P. de O., VIEIRA, A. M. de A., SANTANA, A. C. C., SILVA FILHO, A. P., AGUIAR, G. M. N. Avaliação da Eficácia da

Auto-Vacina no Tratamento da Papilomatose Cutânea em um Bovino de Corte.

**Anais da VI Semana de Medicina Veterinária SEMVET – UFAL**, v. 2, 2019.

SMITH, B.P. Moléstias virais. Smith, B.P (ed.) In: **Tratado de medicina interna de grandes animais**, v.2, São Paulo: Manole, p: 1260-1262. 1993.

SPADA et al. Auto-Hemoterapia Na Papilomatose Bovina – Relato de Caso Self Hemotherapy In Papillomatosis Bovine. **Ciê. Agr. Saúde**. FEA, Andradina, v.9, p.78

–81. 2013 <http://www.geocities.ws/autohemoterapiabr/AUTO-HEMOTERAPIA%20NA%20PAPILOMATOSE%20BOVINA-Andradina.pdf>

SPINOSA, HELENICE DE SOUZA. **Farmacologia Aplicada a Medicina Veterinária**. 3° ed. Editora Guanabara Koogan, 2002. P. 441-444.

TOKARNIA C.H., DÖBEREINER J. & CANELLA C.F.C. 1969. Ocorrência de hematúria enzoótica e de carcinomas epidermóides no trato digestivo superior em bovinos no Brasil. II. Estudos complementares. **Pesq. Agropec. Bras.** 4:209-224

TREVISANIL, A. C.; HERMES-ULIANA, C.; OBIKAWA, C. Y.; NISHITANI, E. T.; BOLONHEZ, A. L.; ARISTIDES, S. M. A. Análise dos níveis de imunoglobulinas séricas e monócitos de pacientes em tratamento com auto-hemoterapia. **Arq. Cienc. Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 19, n. 2, p, 101-107, maio/ago. 2015.

VALENTINI, MARCIEL. Auto-hemoterapia associada a terapia medicamentosa como tratamento de papilomatose bovina. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.7, n.4, p. 41569-41576 apr 2021.

<https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/28725/22688>

VEIGA, V. M., JAAKUMAR, C. Autólogos Vaccine for Bovine Cutaneous Papilloma. **Indian Veterinar Journal**, 76: 757-758. 1999.

VERÍSSIMO, A.C.C., SILVA, L.A.F., FILHO, P.R.L.V., MATOS, E.S., CASTRO, G.R.,

SILVA, M.A.M., FIORAVANTI, M.C.S., ANDRIOLO, G. Avaliação da eficácia da cirurgia associada a diferentes protocolos medicamentosos no tratamento da Papilomatose peniana bovina. In: V Congresso Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia veterinária, Rio de Janeiro: **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, 9(1): 266-268. 2002.

VERRUCLIN **bula**. Disponível em: <https://www.agroline.com.br/produto/verruclin-15gr-clorobutanol-97312>

WITTMANN, W. **Infecções Por Papovavírus**. In: Beer, J. Doenças Infeciosas em Animais Domésticos. São Paulo: Roca, p. 256-261. 1999.

# **USO DE PLASMA RICO EM PLAQUETAS NO TRATAMENTO DE ÉGUAS COM ENDOMETRITE PERSISTENTE PÓS COBERTURA**

**Acadêmico:** Pedro Henrique Pedrosa Bretas

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

## **RESUMO**

A endometrite persistente pós-cobertura (EPPC) é uma das principais causas de redução da fertilidade. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a taxa de recuperação embrionária de éguas com EPPC tratadas com plasma rico em plaquetas (PRP) verificando se foi eficiente em debelar a inflamação que se instala imediatamente e persiste em determinadas éguas após a cobertura/inseminação artificial. Foram utilizadas três éguas da raça Mangalarga Marchador, com idade entre 8 e 16 anos com histórico de presença de acúmulo de fluido 48 horas após a inseminação artificial (IA) e ausência de recuperação embrionária. Coletou-se sangue de cada uma para a separação da fração rica em plaquetas a qual foi utilizada para a infusão de 20 mL no corpo do útero com o auxílio de uma pipeta no dia anterior a inseminação artificial. A estatística foi descritiva. Na avaliação pós-inseminação foi observado que a infusão com o PRP foi benéfica, uma vez que houve redução no volume de fluido uterino verificado no exame ultrassonográfico, assim como o lavado recuperado foi límpido em todas as éguas. Contudo, não houve recuperação embrionária mesmo após o tratamento.

**PALAVRAS-CHAVE:** Endometrite, égua, inflamação uterina, inseminação artificial.

**LINHA DE PESQUISA:** Produção e reprodução animal - Biotécnicas da Reprodução Animal.

## **INTRODUÇÃO**

A tecnologia vem se mostrando em grande evolução no programa de transferência de embriões nos equinos, em que éguas são selecionadas devido a sua genética e progênie comprovadas. Visando aumentar o número de descendentes por estação de monta, estas doadoras estão em constante manipulação pelos veterinários e em excesso predispõe a fêmea a sérios problemas reprodutivos, como, por exemplo, a endometrite persistente pós-cobertura (EPPC) (REGHINI, 2013).

A inflamação uterina pós cobertura é um processo fisiológico, que visa promover uma limpeza uterina drenando os debrís celulares e contaminantes. Entretanto, devido à alguns fatores essa inflamação pode vir a evoluir para um processo patológico, conhecido como endometrite (REGHINI, 2013).

A fertilidade da égua está diretamente relacionada com a inflamação uterina, visto que, o índice de prenhez de éguas com endometrite são menores comparados a éguas saudáveis (MALSCHITZKY, 2007). Essa inflamação, ocorre de forma fisiológica na presença de células espermáticas durante a cobertura, mas quando exacerbada, apresenta uma intensa migração de células polimorfonucleares para o interior do útero resultando em perda embrionária (REGHINI, 2013).

A predisposição desta patologia está diretamente ligada a idade, sendo mais afetadas éguas multíparas com mais de 14 anos (LEBLANC, 2003). Estes animais, normalmente, possuem sua anatomia alterada, devido ao relaxamento de ligamentos, excesso de manipulação o que impede a eficácia da limpeza uterina natural, ocasionando em um acúmulo de líquido no interior uterino, tornando a égua mais susceptível a infecções e prejudicando o desenvolvimento embrionário (SEGABINAZZI, 2016).

Os tratamentos utilizados para EPPC auxiliam na limpeza e manutenção de um ambiente uterino adequado, não atuando diretamente na causa da inflamação (SEGABINAZZI, 2016). Agentes imunomoduladores são usados na tentativa de reduzir a inflamação exacerbada.

O plasma rico em plaquetas (PRP), apresenta ação anti-inflamatória e trata-se de um concentrado de plaquetas com diversos fatores de crescimento, importante para reparação tecidual, pela sua ação mitogênica, quimiotática e neovascular (GONSHOR, 2002)

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a taxa de recuperação embrionária de éguas com EPPC tratadas com PRP verificando se foi eficiente em debelar a inflamação que se instala imediatamente e persiste em determinadas éguas após a cobertura/inseminação artificial.

## **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **SISTEMA REPRODUTOR DA ÉGUA**

O sistema reprodutor da égua se divide em segmentos que são responsáveis por produzir, transportar e armazenar os gametas. Dessas partes se destacam os ovários, ovidutos, cornos uterinos, corpo do útero, cérvix, vagina e vulva (GETTY, 2008).

A disposição do tecido ovariano é diferente de outras espécies domésticas, já que zona medular (zona vascular) região rica em vasos sanguíneos situa-se periféricamente a zona parenquimatosa do ovário (córTEX). Desta forma, a ovulação só ocorre em um local chamado fossa ovariana ou fossa de ovulação (KONIG & LIEBICH, 2004).

O ovário tem função de produzir ovócitos, além disso tem importante função endócrina. A ligação dos ovários ao útero é feita pelas tubas uterinas ou ovidutos, estrutura que pode ser dividida em três partes distintas: infundíbulo, ampola e istmo. O infundíbulo está ligado ao ovário e por isso a parede da fossa ovulatória que tem uma abertura para o mesmo é revestida de filamentos pequenos, com a função de conduzir os ovócitos para a ampola, extensão mais larga de todo oviduto e onde ocorre a fecundação. A terceira parte se conecta com o corno uterino onde na égua há uma papila que representa uma barreira contra as infecções ascendentes (KONIG & LIEBICH, 2004).

O útero é composto por dois cornos uterinos, um corpo e uma cérvix, partes que são unidas a parede pélvica e abdominal pelo ligamento largo. É um órgão muscular e seu tamanho depende da idade e do número de partos da égua, ou seja, éguas com mais partos tendem a ter um útero maior. Na égua o útero apresenta uma forma em "Y", cujo corpo do útero possui grande capacidade e a parede uterina é histologicamente dividida em perimétrio, miométrio e endométrio (SILVA, 2020).

Na porção caudal do útero está localizado a cérvix, estrutura que funciona como um músculo protetor do sistema reprodutor abrindo ou fechando a ligação entre o útero e a vagina. O tamanho da abertura da cérvix é determinado pelo estado hormonal da égua em que durante o estro a cérvix dilata-se mais facilmente do que no diestro (KONIG & LIEBICH, 2004).

A vagina faz a conexão com o vestíbulo da vagina e este com a vulva. O interior da vagina é revestido por uma mucosa desprovida de glândulas e o tecido conjuntivo subjacente confere-lhe elasticidade sendo composto por colágeno, vasos sanguíneos e tecido adiposo (SILVA, 2020).

A vulva é composta por dois lábios verticais que tem como função a proteção da entrada da vagina (MEIJER & VAN VLISSINGEN, 1993).

## **CICLO ESTRAL**

Para que se possa implementar um programa de inseminação bem-sucedido é de extrema importância que se conheça bem o ciclo estral da égua, a duração de todas as suas fases, bem como o momento da ovulação para realizar a inseminação (FRAZÃO *et al.*, 2018).

As éguas são poliéstricas sazonais, o que quer dizer que existe um período do ano em que as fêmeas não apresentam atividade reprodutiva (anestro fisiológico). A atividade estral tem maior amplitude na primavera e verão, em razão da duração entre luz/dia. Isso ocorre, uma vez que a melatonina produzida pelos pinealócitos na glândula pineal, interfere negativamente nesta espécie, inibindo a liberação da GnRH e desta forma, a liberação das gonadotrofinas, as quais atuam nos ovários (KLOKNER *et al.*, 2018).

O ciclo estral é caracterizado como o período no qual ocorrem modificações no sistema reprodutor da fêmea, sendo caracterizado pelo aparecimento do cio em intervalos de, aproximadamente, 21 dias durante as estações da primavera e verão (SHARP *et al.*, 1980). O ciclo apresenta duas fases: a folicular (estro) e a luteal (diestro). O sistema neuroendócrino controla esses eventos, incluindo os hormônios hipotalâmicos, as gonadotrofinas e os esteroides sexuais (FRAZÃO,2018).

Quando a égua está na fase de estro, o hormônio predominante na circulação é o estrógeno. Nessa fase a égua apresenta receptividade sexual, atraindo o garanhão. O estrógeno atua no sistema nervoso da fêmea mudando gradativamente seu comportamento sexual. Na adenohipófise é liberado o hormônio folículo estimulante (FSH), que estimula o crescimento dos folículos primários. Atuando no estágio de desenvolvimento e maturação folicular, juntamente com o FSH está o hormônio luteinizante (LH) estimulando a ovulação dos folículos maduros. A fase de estro é caracterizada pela presença de um folículo com mais de 25 mm de diâmetro em um dos ovários, o qual produz níveis elevados de estrógeno a partir das células da granulosa, no qual resulta na ovulação, e em seguida na formação do corpo lúteo, a partir da elevação dos níveis de LH (JACOB, 2007).

O estro permanece, em média, sete dias com o mínimo de dois e o máximo de 14 dias. Sabendo-se que esta fase termina quando o animal ovula e cessam as manifestações comportamentais de cio, alguns animais mesmo após a ovulação (12 a 48h após) ainda podem apresentar receptividade sexual. Após esse período, a égua volta a ficar agressiva quando um garanhão se aproxima. Os elevados níveis

de estrógeno são responsáveis também por causar o edema uterino, porém a intensidade do edema é reduzida até dois dias antes da ovulação (BURATINI, 1997).

Após o estro inicia-se a fase de diestro (luteal) sendo caracterizada pela presença de um corpo lúteo formado a partir da ovulação, com duração média de 14 dias. Nesta fase acontece a produção de progesterona (P4). Independente da presença de folículos em crescimento secretando estrógeno, a P4 é o hormônio predominante no diestro, preparando o corpo para o estabelecimento de uma possível gestação (SAMPER, 2008).

A fase de diestro é finalizada quando há luteólise do corpo lúteo (CL) que acontece quando o endométrio libera prostaglandina 2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ), que por meio da circulação sistêmica é conduzida até o ovário. Na ausência de um embrião no útero a PGF2 $\alpha$  induz a luteólise, no entanto quando há gestação haverá bloqueio da luteólise por meio da migração do embrião no útero para evitar a liberação da PGF2 $\alpha$  (ALLEN, 2005).

## **INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL**

O uso da inseminação artificial (IA) acelera o melhoramento genético, reduz o risco de doenças sexualmente transmissíveis e promove um grande impacto na produção equina viabilizando a obtenção de produtos de reprodutores alojados em outros países ou até mesmo que já morreram (CANISSO *et al.*, 2008). Essa técnica é utilizada para depositar espermatozoides normais e vivos no útero no momento adequado resultando em altas taxas de gestação (OLIVEIRA, 2015).

Para tal a égua deve estar devidamente contida e deve ser preparada para a inseminação de acordo com as técnicas de contaminação mínima descritas por Kenney *et al.* (1975).

A cauda deve ser levantada de modo a evitar o contato com a vulva e o períneo. A vulva deve ser bem lavada com sabão líquido e depois limpa com água abundante. Este procedimento deve ser repetido pelo menos três vezes até a área estar visualmente livre de qualquer detrito. A vulva e a zona perineal devem então ser secas com papel (METCALF, 2000).

O médico veterinário deve colocar uma luva estéril aplicar gel lubrificante não espermicida na luva e sobre a mão que envolve a ponta da pipeta. O sémen, já preparado, deve estar contido numa seringa e protegido na mão das condições ambientais adversas (OLIVEIRA, 2015).

A mão deve ser então introduzida, sempre protegendo a ponta da pipeta, pelos lábios da vulva passando pela vagina e depois inserindo um ou dois dedos na cérvix. Os dedos servem de guia para se poder avançar a pipeta de inseminação pela cérvix e cerca de 1 cm no corpo do útero empurrando lentamente o êmbolo da seringa para depositar o sêmen neste local (METCALF, 2000).

Nos equinos existem três métodos de inseminação artificial:

1 - Sêmen fresco: quando o sêmen é colhido e usado imediatamente no seu estado puro ou diluído com um diluidor apropriado, geralmente em menos de três horas pós colheita.

2 – Sêmen refrigerado: após a colheita o sêmen é diluído com um diluidor apropriado e arrefecido lentamente a 5-8°C e transportado para ser utilizado num prazo de 12-48 h após a colheita.

3 – Sêmen congelado: o sêmen é colhido e processado de forma apropriada e depois é armazenado em nitrogênio líquido conservando por prazo indeterminado.

Para o sêmen refrigerado pode-se esperar taxas de gestação na ordem de 55-70% enquanto para o sêmen congelado é de 35-50%. A taxa de gestação no final da estação de monta varia entre 50-90% com uma média de 75% e a taxa de potros vivos é de 65% (OLIVEIRA, 2015).

## **RESPOSTA UTERINA AO SÊMEN**

A inflamação ocorre devido aos importantes mecanismos de limpeza uterina que acontecem de forma rápida visando eliminar os agentes contaminantes (FERRER, 2005). Os espermatozoides são depositados no útero após a monta ou inseminação artificial, e aproximadamente, trinta minutos após a chegada destes ao útero são liberadas células inflamatórias (CELEGHINI, 2017). Posteriormente, vão para a tuba uterina, os quais passam pelo processo de capacitação espermática (TROEDSSON *et al.*, 2001).

A endometrite acontece devido a presença de microrganismos presentes no sêmen e também pelos próprios espermatozoides que são células haploides (TROEDSSON, 1995). Os espermatozoides ativam uma cascata do sistema complemento nas secreções uterinas sendo responsáveis pela opsonização seletiva e pelo reconhecimento das populações de espermatozoides as proteínas presentes na membrana espermática (TROEDSSON *et al.*, 2006; KATILA, 2012).



Segundo Troedsson *et al.* (2005) o plasma seminal é de suma importância na modulação da inflamação pós cobertura, pois contém substâncias que modulam a eliminação de espermatozoides reduzindo o processo inflamatório e promovendo a limpeza uterina. O plasma seminal também aumenta a secreção de PGF2 $\alpha$ , aumentando a contração uterina e reduzindo fluidos inflamatórios (CELEGHINI, 2017).

## **ENDOMETRITE**

A endometrite é uma reação inflamatória fisiológica que acontece de forma temporária induzida pelo sêmen no útero. Quando a mesma persiste por tempo superior a 96 horas, pode ser prejudicial ao desenvolvimento do embrião (TROEDSSON 2006; WATSON, 2000; LEBLANC *et al.*, 1994). Em éguas saudáveis essa resposta inflamatória é transitória e recorrente da ativação do sistema humoral, que faz o recrutamento de células polimorfonucleares para fagocitose e liberação de prostaglandinas com conseqüente contração uterina (BRINSKO *et al.*, 2011).

Todavia, a maioria dos problemas de infertilidade e subfertilidade na reprodução são caracterizados por éguas susceptíveis à reação inflamatória uterina crônica (TROEDSSON *et al.*, 1993), pois a presença de bactérias, fluido e produtos inflamatórios podem comprometer a fertilização (WAITES e BELL, 1982).

É importante ressaltar que a resistência a inflamação uterina persistente na égua está ligada aos mecanismos de defesa físicos, celulares e hormonais (TROEDSSON e LIU, 1991). O sistema linfático se torna responsável pela drenagem de subprodutos do processo inflamatório, pois após a ovulação a cérvis está fechada (LEBLANC *et al.*, 1995). Conseqüentemente, observa-se que éguas susceptíveis tem dificuldade de eliminação dos fluidos inflamatórios 96 horas após a infecção. Isso ocorre devido à baixa contratilidade do miométrio, desta forma esse acúmulo de fluidos no interior do útero é prejudicial a fagocitose o que implica em infecção uterina persistente e subfertilidade (TROEDSSON *et al.*, 1993).

## **FATORES QUE INFLUENCIAM NA SUSCEPTIBILIDADE A ENDOMETRITE**

### **Anatomia**

A anatomia da égua é uma barreira importante para evitar a contaminação por bactérias patogênicas e fungos no útero. A conformação destas barreiras

mecânicas é de suma importância, por isso deve-se avaliar a vulva, o vestíbulo e a cérvix (DASCANIO, 2011).

### **Vulva**

A primeira barreira de proteção do útero é a vulva, que deve ter uma posição vertical relevante. As alterações são classificadas em dois tipos: congênitas ou adquiridas. Temos como exemplo de alterações congênitas a deslocação cranial do reto e, concomitante declive horizontal da vulva observadas com frequência em éguas Puro Sangue Inglês (DESCANIO, 2011).

Já as alterações adquiridas estão relacionadas com número de partos sucessivos, presença de melanomas, idade avançada e/ou condição corporal. Podemos observar em éguas mais velhas menor tônus muscular e relaxamento dos ligamentos levando o ânus a uma posição mais cranial, com conseqüente inclinação da vulva. Observamos também em éguas de baixo escore de condição corporal, já que há menor teor de gordura intrapélvica (DASCANIO, 2011).

### **Complexo vestibulo-vaginal:**

Na fase do cio, a vulva e a cérvix se encontram com a musculatura relaxada devido aos efeitos do estrógeno. Com isso, o complexo vestibulo-vaginal se torna a barreira mais importante separando o útero do meio externo (NOAKES, 2001).

A conformação vestibulo-vaginal deve ser o mais perpendicular possível, com a abertura do vestíbulo ventral a base da pélvis. A entrada de contaminantes e a formação de pneumovagina é facilitada quando o posicionamento se torna horizontal (FIGURA 1). Observa-se com a separação dos lábios vulvares a facilidade em ver a vagina quando a conformação está alterada (DASCANIO, 2011b).

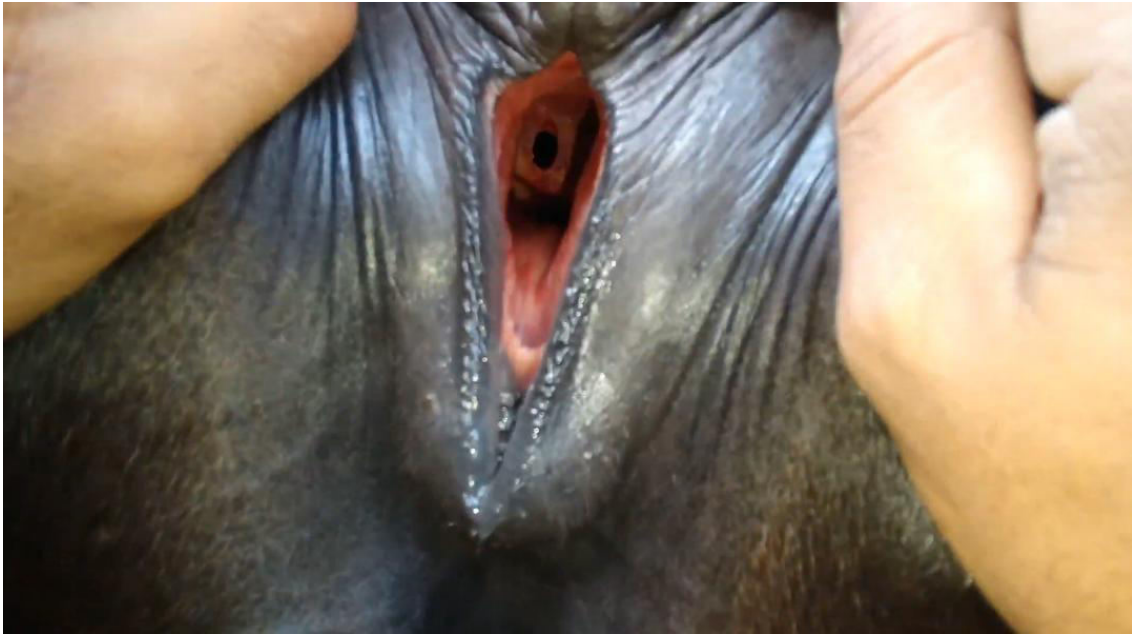


Figura 1 - Posicionamento horizontal da prega vestibulo-vaginal com visualização da cérvix.  
Fonte: arquivo pessoal.

### **Cérvix**

Durante a fase de cio, onde há predominância do estrógeno, a cérvix se encontra de forma relaxada. Já na fase do diestro visualiza-se a contração devido aos efeitos da progesterona (DAVIES MOREL, 2008).

Ademais, observa-se susceptibilidade a endometrite em éguas cuja consistência e abertura do canal vaginal são prejudicadas. Animais de idades mais avançadas, com problemas no relaxamento da cérvix durante o estro, tem dificuldade na eliminação de sêmen, bactérias e produtos inflamatórios (BRINSKO *et al.*, 2011).

A funcionalidade da cérvix está diretamente ligada aos partos, que podem comprometer sua funcionalidade. Nos partos distócicos há uma maior possibilidade de problemas, observando maior ocorrência de lacerações e subsequente formação de aderências (HURTGEN, 2006).

### **Resposta inflamatória e mecanismos de defesa**

Vários agentes podem desencadear uma resposta inflamatória no útero, dentre eles bactérias, sêmen, detritos, fungos ou vírus que podem entrar no útero por meio de monta natural ou inseminação artificial, conformação anatômica genital da égua ou através do parto (BRINSKO *et al.*, 2011).

A resposta imune inata é o método mais relevante de defesa do útero, mediada por diversos mecanismos celulares e químicos de resposta rápida (TIZARD, 2008), iniciada a partir do reconhecimento de antígenos. O contato dos espermatozoides com o endométrio é o principal fator predisponente para o início da reação inflamatória (TROEDSSON *et al.*, 1993; TROEDSSON *et al.*, 2001).

Em éguas sadias o principal responsável pela remoção inicial de bactérias invasoras é a infiltração de neutrófilos para o endométrio e lúmen uterino. Ocorre também um influxo de proteínas séricas e um posterior desenvolvimento de resposta imune típica, com produção e secreção seletiva de imunoglobulinas A e G (WIDDERS *et al.*, 1985).

A migração dos leucócitos, em especial neutrófilos polimorfonucleares, acontece do vaso sanguíneo para o tecido adjacente e posteriormente para o sítio da inflamação. Neutrófilos polimorfonucleares nas secreções uterinas de éguas susceptíveis tem menor capacidade de migrar e fagocitar bactérias, quando comparado a éguas resistentes, de acordo com estudos feitos em câmaras quimiotáticas (LIU *et al.*, 1985; WATSON *et al.*, 1987). Troedson *et al.* (1993) sugeriram que a influência negativa das secreções uterinas de éguas susceptíveis, seriam mais pobres em opsoninas que em éguas resistentes a endometrite resultando em fagocitose deficiente pelos neutrófilos.

## **TRATAMENTO PARA ENDOMETRITE PÓS-COBERTURA**

### **Medicamentos Equibólicos**

São utilizados como medicamentos equibólicos a ocitocina e a PGF<sub>2</sub>α visando promover contrações uterinas (LEBLANC, 1994). Para drenagem do líquido intrauterino comumente se usa a ocitocina, que pode ser utilizado até 48 horas após a ovulação, já que a cérvix ainda se encontra aberta e a drenagem se torna eficiente (TROEDSSON, 1997).

A prostaglandina também é bastante utilizada para promover a limpeza uterina, oferecendo uma contratilidade miometrial prolongada quando comparado à ocitocina. O uso deste medicamento deve ser cauteloso, após a ovulação devido ao seu efeito luteolítico (LEBLANC, 2003).

### **Lavagem Uterina**

Um dos métodos mais comumente utilizado é a lavagem uterina. Este procedimento pode ser feito antes da cobertura ou IA visando proporcionar um

ambiente uterino adequado para receber o sêmen, na tentativa de drenar restos celulares e debrís inflamatórios presentes no útero (LEBLANC, 2003).

### **Plasma rico em plaquetas**

A ação benéfica do Plasma Rico em Plaquetas (PRP) em éguas susceptíveis a endometrite vem sendo comprovada de acordo com seus efeitos relacionados a diminuição de líquido intrauterino e do influxo de células polimorfonucleares (PMNs) (REGHINI *et al.*, 2016), da mesma forma, a expressão de citocinas e de enzimas pró-inflamatórias é reduzida (METCALF *et al.*, 2012).

As plaquetas são originadas a partir da medula óssea. Os megacariócitos, células precursoras das plaquetas possuem prolongamentos citoplasmáticos que estão localizados próximos aos capilares e liberam fragmentos desses prolongamentos, chamadas plaquetas (REGHINI, 2013).

O diâmetro das plaquetas é de, aproximadamente, 2 a 4  $\mu\text{m}$ . São anucleadas, de formato discoide enquanto inativas e quando ativas apresentam pseudópodes (BOUDREAUX, 2010). A função das plaquetas está ligada a reparação tecidual e também a coagulação sanguínea. Para isso, elas contam com fatores bioativos, citocinas e proteínas em seu citoplasma (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

O citoplasma é constituído, principalmente, por mitocôndria, lisossomo, peroxissomos, glicogênio, grânulos densos e  $\alpha$ -grânulos (HARRISON & CRAMER, 1993). Os  $\alpha$ -grânulos possuem fatores de coagulação e de crescimento importantes na modulação da inflamação, formação de coágulos e síntese de matriz extracelular (SCHNABEL *et al.*, 2006) que são liberados a partir da ativação plaquetária (TEXTOR, 2011), como o fator de crescimento  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), fator de crescimento semelhante a insulina 1 (IGF-1), fibrinogênio, fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), fator de crescimento fibroblástico (FGF), fator de crescimento epidermal (EGF), fator de crescimento epidermal derivado das plaquetas (PDEGF), fator de crescimento hepatocitário (HGF), tromboplastina plaquetária entre outros (HARRISON; CRAMER, 1993; BENDINELLI *et al.*, 2010; KON *et al.*, 2011). Esses fatores de crescimento, promovem a reparação tecidual, angiogênese e a inflamação devido a regulação do metabolismo celular (ANITUA *et al.*, 2004; BOSCH *et al.*, 2011).

Na membrana plasmática das plaquetas diversos receptores e sua ativação se dão por meio da ligação de agentes com esses receptores. Dessa maneira, os  $\alpha$ -grânulos serão estimulados e liberaram 36 moléculas por exocitose no local da

lesão, o que provoca o recrutamento de outras plaquetas, assim como, leucócitos e proteínas plasmáticas (HARRISON e CRAMER, 1993).

O PRP é derivado do sangue total que possui uma concentração de plaquetas acima dos níveis séricos normais (MARX, 2001) contendo fatores de crescimento relevantes para a reparação tecidual (EL-SHARKAWY *et al.*, 2007; MAIA *et al.*, 2009), conforme sua ação mitogênica, neovascular, quimiotática e anti-inflamatória (GONSHOR, 2002; KEVY; JACOBSON, 2004; KIM *et al.*, 2013, MAZZOCCA *et al.*, 2013).

O processamento do PRP pode ser realizado por meio da coleta de sangue em tubos contendo citrato de sódio como anticoagulante (PRADES *et al.*, 2006). O processo de centrifugação é o mais utilizado na Medicina Veterinária, por ser um método fácil, de baixo custo e que tem como resultado a concentração elevada de plaquetas. Esse procedimento pode ser executado utilizando uma ou duas centrifugações obtendo resultados semelhantes (CARMONA *et al.*, 2007; BARBOSA *et al.*, 2008; MAIA, 2008). Após a centrifugação observa-se três camadas distintas formada por eritrócitos, leucócitos e plasma.

Segundo Pietrzak e Eppley (2005) deve-se evitar a fragmentação e ativação plaquetária durante o processamento para impedir uma precoce liberação de fatores de crescimento, conseqüentemente, comprometendo a atividade biológica do plasma. Carmona *et al.* (2007) e Vendruscolo *et al.* (2012) ressaltaram que um dos motivos das baixas concentrações estão ligados à centrifugação com elevada força *g*.

O processo de recrutamento de outras plaquetas, leucócitos e proteínas plasmáticas responsáveis por atuar na reparação tecidual ocorre após a liberação de fatores de crescimento no local da lesão, com conseqüente estimulação dos  $\alpha$ -grânulos e dissociação das moléculas (HARRISON & CRAMER, 1993). Os  $\alpha$ -grânulos são responsáveis por liberar 70% dos fatores de crescimento durante 10 minutos após a ativação plaquetária e 95% durante a primeira hora (KEVY & JACOBSON, 2001). Dessa forma as plaquetas sintetizam essas moléculas por, aproximadamente, 10 dias mesmo após a ativação dos fatores de crescimento aumentando seus efeitos biológicos (SEGABINAZZI *et al.*, 2016).

## **METODOLOGIA**

Foram utilizadas três éguas da raça Mangalarga Marchador, com idade entre 8 e 16 anos e peso médio de 470 quilos, estabuladas, alimentadas com ração e feno, além de sal mineral e água *ad libitum*. Os animais pertencem a um Haras localizado na região de Itabirito, Minas Gerais.

As três éguas apresentavam histórico de presença de acúmulo de fluido 48 horas após a IA e ausência de recuperação embrionária.

Coletou-se sangue de cada uma por meio de punção da veia jugular externa em tubos de 100 mL contendo citrato de sódio a 3,2% como anticoagulante. Posteriormente, as amostras foram homogeneizadas e imediatamente centrifugadas a 300 g durante 20 minutos. Após a centrifugação, o plasma sobrenadante (pobre em plaquetas) foi desprezado e a fração subjacente (rica em plaquetas) foi utilizada para a infusão de 20 mL no corpo do útero com o auxílio de uma pipeta de inseminação no dia anterior a inseminação artificial. Os dados foram avaliados utilizando análise descritiva.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Na avaliação pós-inseminação foi observado que a infusão com o PRP foi benéfica, uma vez que houve redução no volume de fluido uterino verificado no exame ultrassonográfico, assim como o lavado recuperado foi límpido. Contudo, não houve recuperação embrionária mesmo pós tratamento nas três éguas.

No trabalho desenvolvido por Reghini *et al.* (2013) observou-se que as éguas tratadas com PRP tiveram diminuição do acúmulo de líquido intrauterino, semelhante a este estudo, resultando em diminuição do exsudado inflamatório quando comparadas as éguas não tratadas.

Em contrapartida, Segabinazzi *et al.* (2016) teve como resultado um aumento considerável nas taxas de fertilização de éguas susceptíveis tratadas com PRP intrauterino tanto antes como pós a IA. Foi observado um aumento similar no trabalho de Metcalf (2014) em que éguas estéreis após o tratamento de PRP tiveram boas taxas de fertilidade, administrado antes da IA.

É sabido que éguas susceptíveis desenvolvem uma reação inflamatória exacerbada que quando ultrapassa 24 horas após a cobertura ou IA prejudica sua fertilidade (TROEDSSON *et al.*, 1998). O PRP é uma ferramenta que auxilia na regulação do processo inflamatório (SEGABINAZZI *et al.*, 2016).

Segabinazzi relata em seu estudo que o tratamento com PRP foi capaz de reduzir o número de polimorfonucleares (PMNs) no útero 24 horas após a IA. Explica-se pelo efeito de imunomodulação do PRP a diminuição de PMNs (BENDINELLI *et al.*, 2010; VAN BUUL *et al.*, 2011), resultando em inibição na migração de células inflamatórias para o tecido uterino (SEGABINAZZI *et al.*, 2016). Em estudos onde foram utilizados o PRP após a IA também se observou a redução de PMNs no interior do útero (REGHINI *et al.*, 2016).

Outros estudos com utilização de imunomoduladores tiveram resultados similares, mas sem diminuição no fluido intrauterino podendo estar ligado a contratilidade miometrial (LEBLANC *et al.*, 1998; TROEDSSONN *et al.*, 1993).

A patologia é conhecida por causar grandes prejuízos econômicos relacionados a taxa de fertilidade de éguas susceptíveis. Esta afecção tem grande relação com a idade dos animais pois a seleção das doadoras está ligada a comprovação de sua progênie.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O PRP foi eficiente em reduzir o volume de fluido uterino frente a inflamação pós- cobertura, no entanto foi ineficaz na recuperação embrionária.

## REFERÊNCIAS

ALLEN, W.R. The development and application of the modern reproductive technologies to horse breeding. **Reproduction of Domestic Animals**, [s.l.], v. 40, p.310-329, julho, 2005.

ANITUA, E.; ANDIA, I.; ARDANZA, B.; NURDEN, P.; NURDEN, A. T. Autologous platelet source of proteins for healing and tissue regeneration. **Thromb. Haemost.** [s.l.], v. 91, p. 4-15, 2004.

BENDINELLI, P. *et al.*, Molecular basis of anti-inflammatory action of platelet-rich plasma on human chondrocytes: Mechanisms of NF- $\kappa$ B inhibition via HGF. **Journal of cellular physiology**. [s.l.], v. 225, n. 3, p. 757-766, dezembro, 2010.

BRINSKO, S. P.; RIGBY, S. L.; VARNER, D. D.; BLANCHARD, T. L. **A Practical Method for Recognizing Mares Susceptible to Post-Breeding Endometritis**. In: AAEP PROCEEDINGS, Texas A&M University. v. 49, p. 363-365, 2003.



BURATINI JR. J. **Avaliação da Dinâmica Folicular em Éguas da Raça Mangalarga**

**Marchador Utilizando a Ultrasonografia e as Concentrações Plasmáticas de Progesterona e Hormônio Luteinizante.** Orientador: Frederico Ozanam Papa. 1997, 66 f. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista UNESP-Botucatu, p. 27-39, 1997.

CAMOZZATO, G. C. **Endometrite na Égua.** Orientador: Dr. Rodrigo Costa Mattos. 2010, 35 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, janeiro, 2010.

CARMONA, J. M. P. **Resposta Inflamatória Uterina em Éguas Submetidas a Inseminação Artificial.** Orientador: José Carlos Miguéis Nunes Bernardes Duarte. 2011. 96 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) – Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, julho, 2011.

CELEGHINI, E. *et al.* Relação entre a qualidade do sêmen com a endometrite pós cobertura em equinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 41, n. 1, p. 169-174, mar 2017.

DESCANIO, J. J. External reproduction anatomy. In: MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VRNER, D. D. **Equine Reproduction**. 2. ed. Ames, p. 1577-1581, fevereiro, 2011.

FERRER M.S. **Post-Breeding Endometritis After Low-Dose Insemination in the Mare.** Orientador: Bruce Eilts. 2005. 86 f. Masters thesis. Louisiana State University, School of Veterinary Medicine, Veterinary Clinical Sciences, University of Buenos Aires. Maio, 2005.

FRAZÃO R. C. R. A. **Ciclo Estral e Hormonioterapia Aplicada á Reprodução de Equinos: Revisão de Literatura.** Orientador: Telma da Mata Martins. 2018. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) – Centro Universitário de Formiga – UNIFOR, Formiga. Agosto, 2018.

GETTY, R. **Anatomia dos Animais Domésticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, vol. 2, p.2048, 2008.

GONSHOR, A. Technique for Producing Platelet-Rich Plasma and Platelet Concentrate: Background and Process. **International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry**, Canada, n. 6, v.22, p.547-557, 2002.

HARRISON, P.; CRAMER E. M. Platelet alpha-granules. **Blood Rev.** Paris, France, v. 7, p. 52- 62, março 1993.

JACOB, J. C. F. **Dinâmica Ovariana e Endócrina de Éguas em Diferentes Idades.** Orientador: Giovanni Ribeiro de Carvalho. 2007. 62 f. Tese de Doutorado em Zootecnia. Universidade Federal de Viçosa, 13-jul 2007.

JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10 ed. Rio de Janeiro: Ed Guanabara Koogan, 2004.

KEVY, S. V.; JACOBSON, M. S. Comparison of methods for point of care preparation of autologous platelet gel. **The Journal of The American Society of Extra-Corporeal Technology**. Baltimore, v. 36, p. 28-35. maio/junho 2004.

KENNEY, R.M.; BERGMAN, R.V.; COOPER, W.L. **Minimal Contamination Techniques for Breeding Mares: Technique and Preliminary Findings**. In Proceedings of the 22nd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP): Lexington, p. 327-336, 1975.

KONIG, H. E.; LIEBICH, H. G. Anatomia dos Animais Domésticos. **Texto e Atlas Colorido**. 1.ed. Porto Alegre: ARTMED, 2004.

LEBLANC, M.M.; CAUSEY, R.C. Clinical and Subclinical Endometritis in the Mare: Both Threats to Fertility. **Reproduction of Domestic Animals**, Lexington, v.44, p.10-22. julho, 2009.

LIU, I.K.M.; TROEDSSON, M.H.T. The diagnosis and treatment of endometritis in the mare: Yesterday and today. **Theriogenology**, Florida, v.70, p. 415–420. agosto, 2008.

LOPES J. L. P. S.; ROCHA A. L. M. M R. Endometrite na Égua. **Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**, Porto, v.1, n.1, p.1-41 – 2013.

MALSCHITZKY E.; JOBIM M. I. M.; GREGORY R. M.; MATTOS R. C.; ENDOMETRITE NA ÉGUA, NOVOS CONCEITOS. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.31, n.1, p.17-26, jan./mar. 2007.

METCALF, E. S. The effect of platelet-rich plasma (PRP) on intraluminal fluid and pregnancy rates in mares susceptible to persistent mating-induced endometritis (PMIE). **Journal of Equine Veterinary Science**, n. 1, v. 34, p. 128, [s.l.], janeiro, 2014.

OLIVEIRA, J. N. d; PEREIRA, A.T. **Biotecnologia: Técnica de Inseminação Artificial em Equinos**. In: Seminário Interinstitucional de Ensino Pesquisa e Extensão, Cruz Alta, RS: UNICRUZ, p. 1-8, 2015.

PIETRZAK, W. S.; EPPLEY, Barry L. Platelet rich plasma: biology and new technology. **Journal of Craniofacial Surgery**, Universidade Indiana, Escola de Medicina, Indianapolis. novembro, v. 16, n. 6, p. 1043-1054, 2005.

REGHINI M. F. S.; **Efeito do Tratamento com Plasma Rico em Plaquetas em Éguas Resistentes e Susceptíveis à Endometrite Persistente Após Inseminação Artificial**. Orientador: Marco Antônio Alvarenga. 2013. 104 f. Dissertação: Obtenção Do Título De Mestre Em Biotecnologia Animal, Área De Reprodução Animal. São Paulo, Botucatu, 2013.

SAMPER J.C.; **Ultrasonographic Appearance and the Pattern of Uterine Edema to Time Ovulation in Mares**. In: Proceedings of the 43rd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; Phoenix, Arizona. v. 43. p.189-191, 1997.

SEGABINAZZI L. G. T. M. **Efeito do Plasma Rico em Plaquetas pré ou Pós-Inseminação Artificial Sobre a Resposta Inflamatória e Índice de Fertilidade em Éguas Susceptíveis a Endometrite Persistente Pós-Cobertura**. Orientador: Marco Antônio Alvarenga. 2016. 67 f. Dissertação: Apresentada Junto ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária para Obtenção do Título de Mestre em Reprodução Animal. São Paulo, Botucatu, 2016.

SILVA C.; ORTIZ J.; SANTOS R.; MINAS M. **Manual Técnico – Acompanhamento Reprodutivo em Éguas e Transferência de Embriões**. Edição: Instituto Politécnico de Portalegre, Coleção C3i nº13. Data de edição: 2020. Disponível em: [http://gii.ipportalegre.pt/wp-content/uploads/2020/11/MANUAL\\_ALT\\_BIOTECH.pdf](http://gii.ipportalegre.pt/wp-content/uploads/2020/11/MANUAL_ALT_BIOTECH.pdf). Acesso em: 28 de junho de 2021.

TEXTOR, J. A.; NORRIS, J. W.; TABLIN, F. Effects of preparation method, shear force, and exposure to collagen on release of growth factors from equine plateletrich plasma. **Am. J. Vet. Res.**, ed. 2. [s.l.], v. 72, p. 271-278, fevereiro, 2011.

TROEDSSON, M.H.T. BREEDING-INDUCED Endometritis in Mares. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, Universidade da Florida. v.22, p. 705-712, dezembro, 2006.

TROEDSSON, M.H.T.; DESVOUSGES, A.; MACPHERSON, M.L., POZOR, M.P. Persistent Breeding-Induced Endometritis. **Pferdeheilkunde**, Universidade da Florida v.24. p.56- 60, janeiro/fevereiro, 2008.

TROEDSSON, M.H. T; LIU, I.K.M. CRABO, B.G. Sperm Transport and Survival in the Mare. **A Review. Theriogenology**, Universidade da California v.50. p. 807-818. Abril, 1998.

TIZARDI, I.R. **Resistência Às Bactérias. Imunologia Veterinária**. 5 ed. São Paulo: Editora Roca, p. 294-309, 1998.

TIZARD, I. R. **Os neutrófilos e seus produtos. Imunologia veterinária**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda (Novo) Inativo, cap. 23, p. 29-41, 2008.

